

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI



FASULYE'DE DGK (Diacylglycerol Kinaz) GENLERİNİN
GENOM DÜZEYİNDE TANIMLANMASI VE GEN İFADE
DÜZEYLERİNİN ABİYOTİK STRES FAKTÖRLERİ İLE
İLİŞKİSİ

DOKTORA TEZİ

MEHMET ZAHİT YEKEN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Vahdettin ÇİFTÇİ
İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Göksel ÖZER

BOLU, KASIM - 2021

KABUL VE ONAY SAYFASI

Mehmet Zahit YEKEN tarafından hazırlanan “**Fasulye’de DGK (Diacylglycerol Kinaz) Genlerinin Genom Düzeyinde Tanımlanması ve Gen İfade Düzeylerinin Abiyotik Stres Faktörleri ile İlişkisi**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 22/11/2021

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Vahdettin ÇİFTÇİ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. İbrahim Hakkı YILMAZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Nusret ZENCİRCİ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Faik KANTAR
Akdeniz Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Kamil HALILOĞLU
Atatürk Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 01/12/2021 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 5 olarak tespit edilmiştir.

.....
MEHMET ZAHİT YEKEN

ÖZET

FASULYE'DE DGK (Diacylglycerol Kinaz) GENLERİNİN GENOM DÜZEYİNDE TANIMLANMASI VE GEN İFADE DÜZEYLERİNİN ABİYOTİK STRES FAKTÖRLERİ İLE İLİŞKİSİ

DOKTORA TEZİ

MEHMET ZAHİT YEKEN

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. VAHDETTİN ÇİFTÇİ)

(İKİNCİ DANIŞMAN: DOÇ. DR. GÖKSEL ÖZER)

BOLU, KASIM - 2021

IV + 196

Diaçilgliserol kinazlar (DGKs), diaçilgliserolü fosfatidik aside dönüştürerek bitkilerde abiyotik ve biyotik stres tepkilerinde önemli rol oynayan bir enzimdir. Fasulye genom dizisi tanımlanmış olmasına rağmen, *DGK* genlerinin karakterizasyonu ve abiyotik stres faktörlerindeki ifade düzeyleri ile ilgili bir çalışmanın literatürde bulunmadığı belirlenmiştir. Bu çalışmada, fasulye genomundaki *DGK* gen ailesinin genom çapında analizi, tuz stresi altındaki ifade profilleri, yerel fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesi ve fenotipleme sonucu belirlenen genotiplerde *DGK* genlerinin soğuk stresindeki ifade düzeylerinin tespiti gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, protein uzunlukları ve moleküler ağırlıkları sırasıyla 423 ile 727 amino asit (aa) ve 47,31 ile 81,09 kDa arasında değişen korunmuş katalitik alanlar içeren 6 *DGK* geni (*PvDGK1;2;3;5a;5b;6*) tanımlanmıştır. Filogenetik analiz sonucunda küme I'de 2, küme II'de 1 ve küme III'de de 3 *PvDGK* geni gruplanmıştır. qRT-PCR analizi, normal koşullarda kök, gövde, yaprak, çiçek ve bakla dokusunda, tuz stresi altında (150 mM) kök ve yaprak dokusunda (0, 6, 12 ve 24. saat), soğuk stresinde (4 °C) de yaprak dokusunda (0, 6, 12 ve 24. saat) gerçekleştirilmiştir. Yerel fasulye genotiplerinin soğuk stresine (0 °C ve 5 °C) karşı fenotiplenmesinde, F_v/F_m , PI_{abs} , $SPAD$, NES , L , a , b , $chroma$, Hue ve görsel değerlendirme kriterleri kullanılmıştır. Genotipler arasında soğuk stresi bakımından önemli varyasyonların olduğu belirlenmiş, en hassas ve en toleranslı 3 fasulye genotipi gen ekspresyon çalışmasına dahil edilmiştir. Çalışma ile fasulyedeki *DGK* gen ailesinin ilk kez karakterizasyonunu gerçekleştirilmiş ve abiyotik stres tepkisindeki önemi ortaya konulmuştur. Elde edilen bulguların, soğuk stresi ile ilgili yürütülecek ıslah çalışmalarına, *DGK* gen ailesinin anlaşılması ve fonksiyonel karakterizasyonu üzerine gelecekte yürütülecek araştırmalara yardımcı olacağı düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELE: Abiyotik stres, Fenotipleme, Fosfatidik asit, *Phaseolus vulgaris* L.

ABSTRACT

GENOME-WIDE IDENTIFICATION OF DGK (Diacylglycerol Kinase) GENES IN COMMON BEAN AND ASSOCIATION OF GENE EXPRESSION LEVELS WITH ABIOTIC STRESS FACTORS

PHD THESIS

MEHMET ZAHİT YEKEN

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF FIELD CROPS

(SUPERVISOR: PROF. DR. VAHDETTİN ÇİFTÇİ)

(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. GÖKSEL ÖZER)

BOLU, NOVEMBER 2021

IV + 196

Diacylglycerol kinases (DGKs) are enzymes that play an important role in abiotic and biotic stress responses in plants by converting diacylglycerol to phosphatidic acid. Although the genome sequence was determined in common bean, it was determined that there is no study in the literature about the characterization of *DGK* genes and their expression levels in abiotic stress factors. In this study, genome-wide analysis of *DGK* gene family in common bean genome, expression profiles under salt stress, phenotyping of local common bean genotypes against cold stress, and expression levels of *DGK* genes under cold stress in genotypes determined by phenotyping were performed. The 6 *DGK* genes (*PvDGK1;2;3;5a;5b;6*) containing conserved catalytic domains with protein lengths and molecular weights ranging from 423 to 727 amino acids (aa) and 47,31 to 81,09 kDa were identified, respectively. Phylogenetic analyses grouped *PvDGK* genes into three clusters; cluster I, cluster II, and cluster III which had two, one, and three genes, respectively. qRT-PCR analysis was performed in root, stem, leaf, flower and pod tissues under non-stress conditions, in root and leaf tissue (0, 6, 12 and 24 hours) under salt stress condition (150 mM), and in leaf tissue (0, 6, 12 and 24 hours) under cold stress condition (4 °C). F_v/F_m , PI_{abs} , $SPAD$, NES , L , a , b , $chroma$, Hue and visual evaluation criteria were used for phenotyping local common bean genotypes against cold stresses (0 °C and 5 °C). It was determined that there were significant variations in cold stress among the genotypes, and the 3 most sensitive and most tolerant common bean genotypes were included in the gene expression study. The characterization of the *DGK* gene family in common bean was performed for the first time and its importance in the abiotic stress response was revealed. The obtained findings herein will guide future studies on the understanding and functional characterization of the *DGK* gene family and the breeding studies to be carried out on cold stress near future.

KEYWORDS: Abiotic stress, Phenotyping, Phosphatidic acid, *Phaseolus vulgaris* L.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	1
ABSTRACT	2
İÇİNDEKİLER	3
ŞEKİL LİSTESİ.....	5
TABLO LİSTESİ	7
FOTOĞRAF LİSTESİ	9
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	10
TEŞEKKÜR	13
1. GİRİŞ.....	14
2. GENEL BİLGİLER	19
2.1 Bitki <i>DGK</i> Genlerinin Yapısı ve İzofomları	22
2.2 <i>DGK</i> Genlerinin Hücre Altı Lokalizasyonu ve Doku Dağılımı	24
2.3 Bitki Büyüme ve Gelişimde <i>DGK</i>	25
2.4 Bitki Stres Adaptasyonunda <i>DGK</i>	26
2.4.1 Abiyotik Stres Faktörlerinde <i>DGK</i>	27
2.5 Fasulye’de Yürütülmüş Bazı Fonksiyonel Genomik Çalışmalar	31
2.6 Fasulye’de Soğuk Stresi ile İlgili Çeşitli Çalışmalar	34
3. MATERYAL VE YÖNTEM	38
3.1 Materyal	38
3.2 Yöntem	39
3.2.1 <i>DGK</i> gen ailesinin fasulye genomu içerisinde tanımlanması.....	39
3.2.2 <i>PvDGK</i> gen ailesinin normal koşullarda ve tuz stresinde farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi	44
3.2.3 Yerel kuru fasulye genotiplerinin soğuk stresine tolerans durumlarının fenotipik düzeyde belirlenmesi	52
3.2.4 <i>PvDGK</i> genlerinin soğuk stresine karşı bitki dokusundaki ifade düzeylerinin belirlenmesi.....	56
3.2.5 Verilerin Değerlendirilmesi	58
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	60
4.1 <i>DGK</i> gen ailesinin fasulye genomu içerisinde tanımlanması	60
4.1.1 Fasulye’de <i>DGK</i> genlerinin belirlenmesi	60
4.1.2 Fasulye <i>DGK</i> genlerinin çoklu sıra hizalamaları, kromozomlardaki lokalizasyonu ve filogenetik analizi	62
4.1.3 Fasulye <i>DGK</i> proteinlerindeki ekzon-intron yapıları ve protein motiflerin tanımlanması.....	65
4.1.4 Fasulye <i>DGK</i> gen ailesinin hücre altı lokalizasyonları	69
4.1.5 Gen ontoloji analizi	71
4.2 <i>PvDGK</i> gen ailesinin normal koşullarda ve tuz stresinde farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi	72

4.2.1 <i>PvDGK</i> gen ailesinin normal koşullarda farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi.....	72
4.2.1 <i>PvDGK</i> genlerinin tuz stresine karşı farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi.....	77
4.3 Yerel kuru fasulye genotiplerinin soğuk stresine tolerans durumlarının fenotipik düzeyde belirlenmesi	88
4.4 <i>PvDGK</i> genlerinin soğuk stresine karşı bitki dokusundaki ifade düzeylerinin belirlenmesi	121
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	132
6. KAYNAKLAR.....	133
7. EKLER.....	151
EK 1 <i>Arabidopsis thaliana</i> (At), <i>Glycine max</i> (Gm), <i>Malus domestica</i> (Md), <i>Oryza sativa</i> (Os) ve <i>Phaseolus vulgaris</i> (Pv)'de tanımlanan <i>DGK</i> genlerinin peptid sekansları.....	151
EK 2 <i>Arabidopsis thaliana</i> (At) ve <i>Phaseolus vulgaris</i> (Pv)'de tanımlanan <i>DGK</i> genlerinin CDS sekansları.....	167
EK 3 <i>Phaseolus vulgaris</i> 'te tanımlanan <i>DGK</i> genlerinin 5' promotör bölgesi, sekansları (2000bp).....	181
EK 4 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde <i>L</i> değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri.....	189
EK 5 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde <i>b</i> değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri.....	190
EK 6 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde <i>chroma</i> değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri	191
EK 7 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde <i>Hue</i> değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri.....	192
EK 8 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde <i>SPAD</i> değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri.....	193
EK 9 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde F_v/F_m değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri.....	194
EK 10 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde PI_{abs} değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri.....	195
EK 11 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde <i>NES</i> değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri.....	196

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. Yüksek yapılı bitkilerde fosfatidik asidin metabolik yolları	21
Şekil 2. <i>DGK3</i> primerinin dilüsyon serileri sonucunda elde edilen standart eğri, amplifikasyon ve erime eğrisi.	43
Şekil 3. <i>PvDGK</i> genlerinin fasulye kromozomları üzerindeki lokalizasyonları.	63
Şekil 4. Fasulye (<i>Pv</i>), soya fasulyesi (<i>Gm</i>), <i>Arabidopsis</i> (<i>At</i>), çeltik (<i>Os</i>) ve elmadaki <i>DGK</i> genlerinin filogenetik analizi.....	64
Şekil 5. <i>Arabidopsis</i> ve fasulye <i>DGK</i> genlerinin filogenetik intron/ekzon analizi	66
Şekil 6. <i>Phaseolus vulgaris</i> ve <i>Arabidopsis thaliana</i> ’ da <i>DGK</i> katalitik (<i>DGKc</i>) alanının çoklu hizalamaları (A), diacylglycerol /forbol ester (DAG/PE)-bağlama alanı C1 (b) DAG/PE-bağlama alanı 2 (C).....	67
Şekil 7. <i>PvDGK</i> proteinlerinin fonksiyonel alan analizi.....	68
Şekil 8. Fasulye <i>DGK</i> proteinlerindeki korunmuş motifleri.....	69
Şekil 9. Fasulye <i>DGK</i> proteinlerinin gen ontoloji analizi sonuçları.....	72
Şekil 10. <i>PvDGKs</i> genlerinin kök, gövde ve yaprak dokusundaki ifade düzeyleri.	73
Şekil 11. <i>PvDGKs</i> genlerinin çiçek ve bakla dokusundaki ifade düzeyleri.....	74
Şekil 12. Normal koşullar altında <i>PvDGK3</i> geninin kök, gövde, yaprak, çiçek ve bakla dokulardaki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	74
Şekil 13. Normal koşullar altında <i>PvDGK3</i> geninin kök, gövde, yaprak, çiçek ve bakla dokulardaki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	75
Şekil 14. <i>PvDGK</i> genlerinin tuz stresi altında Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin kök dokusundaki ifade düzeyleri.....	79
Şekil 15. Tuz stresi altında Zülbiye çeşidinin kök dokusunda <i>PvDGK3</i> geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	80
Şekil 16. Tuz stresi altında Yakutiye çeşidinin kök dokusunda <i>PvDGK3</i> geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	81
Şekil 17. <i>PvDGK</i> genlerinin tuz stresi altında Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin yaprak dokusundaki ifade düzeyleri.....	82
Şekil 18. Tuz stresi altında Zülbiye çeşidinin yaprak dokusunda <i>PvDGK1</i> geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	84
Şekil 19. Tuz stresi altında Yakutiye çeşidinin yaprak dokusunda <i>PvDGK1</i> geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	85
Şekil 20. Tuz stresi altında Zülbiye çeşidinin yaprak dokusunda <i>PvDGK3</i> geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	85

Şekil 21. Tuz stresi altında Yakutiye çeşidinin yaprak dokusunda <i>PvDGK3</i> geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	86
Şekil 22. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki <i>L</i> değerlerinin box plot analizi	89
Şekil 23. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki <i>a</i> değerlerinin box plot analizi	92
Şekil 24. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki <i>b</i> değerlerinin box plot analizi	94
Şekil 25. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki <i>c</i> (chroma) değerlerinin box plot analizi	97
Şekil 26. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki <i>Hue</i> değerlerinin box plot analizi	100
Şekil 27. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki <i>SPAD</i> değerlerinin box plot analizi	102
Şekil 28. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki F_v/F_m değerlerinin box plot analizi	105
Şekil 29. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki PI_{abs} değerlerinin box plot analizi	108
Şekil 30. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki <i>NES</i> değerlerinin box plot analizi	111
Şekil 31. Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde kullanılan özelliklerin korelasyon analizi	114
Şekil 32. Fasulye genotiplerinin fenotiplenmesinde kullanılan özelliklerin biplot analizi	116
Şekil 33. Soğuk stresi altında hassas ve toleranslı genotiplerin yaprak dokusunda <i>PvDGK1</i> geninin 12. saatteki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	123
Şekil 34. Soğuk stresi altında toleranslı genotiplerin yaprak dokusunda <i>PvDGK2</i> geninin 12. saatteki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	124
Şekil 35. Soğuk stresi altında toleranslı ve hassas genotiplerin yaprak dokusunda <i>PvDGK5b</i> geninin 12. saatteki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	126
Şekil 36. Soğuk stresi altında hassas DZC-9, BRS-14, BRS-5 genotipleri ile toleranslı BRS-27, BRS-3, BLKSR-3 genotiplerinin yaprak dokularında <i>PvDGK6</i> geninin 0. ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	127
Şekil 37. Soğuk stresi altında hassas DZC-9, BRS-14, BRS-5 genotipleri ile toleranslı BRS-27, BRS-3, BLKSR-3 genotiplerinin yaprak dokularında <i>PvDGK6</i> geninin 12. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri	128
Şekil 38. Soğuk stresi altında DZC-9, BRS-14 ve BRS-5 fasulye genotiplerinin yaprak dokularında (0, 6, 12 ve 24. saat) <i>PvDGK</i> genlerindeki ifade değişimlerini gösteren ısı haritası	128
Şekil 39. Soğuk stresi altında BRS-27, BRS-3 ve BLKSR-3 fasulye genotiplerinin yaprak dokularında (0, 6, 12 ve 24. saat) <i>PvDGK</i> genlerindeki ifade değişimlerini gösteren ısı haritası	129

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Çalışmada kullanılan fasulye genetik kaynaklarının pasaport bilgileri.	38
Tablo 2. qRT-PCR çalışmalarında kullanılan genlerin primerler dizileri ve Phytozome numaraları.....	42
Tablo 3. Tasarlanan <i>DGK</i> primerlerinin standart eğri, R ² ve reaksiyon verimliliği değerleri.....	42
Tablo 4. Bitkilerin farklı gelişim dönemlerinde örneklerin alınması için kurulan denemenin şematik görünümü	44
Tablo 5. DNase uygulamasında uygulanan protokole ait bilgiler	47
Tablo 6. cDNA eldesi için kullanılan protokol	48
Tablo 7. qRT-PCR için reaksiyon koşulları	49
Tablo 8. Hoagland çözeltilisinde yetişen bitkilere tuz stresinin (150 mM NaCl) uygulanmasına ait deneme planı	50
Tablo 9. Soğuk stresi uygulamasında yapılan gözlemlerin şematik görünümü	56
Tablo 10. Soğuk stresinin uygulanması için kurulan denemenin şematik görünümü	57
Tablo 11. <i>PvDGK</i> genlerinin özellikleri ile ilgili bazı tanımlayıcı bilgiler	60
Tablo 12. <i>PvDGK</i> genlerinin izoelektrik noktaları, stabilite özellikleri ve instabilite indeksleri	61
Tablo 13. <i>Phaseolus vulgaris</i> (Pv), <i>Glycine max</i> (Gm), <i>Arabidopsis thaliana</i> (At), <i>Oryza sativa</i> (Os) ve <i>Malus domestica</i> (Md)'daki <i>DGK</i> genlerinin gen lokusları, erişim kodları, protein uzunlukları ve molekür ağırlıkları.....	61
Tablo 14. <i>PvDGK</i> genlerinin hücre altı yerleşimleri ve TargetP oranları.....	71
Tablo 15. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>L</i> değerlerinin genotip x çevre interaksyonu	90
Tablo 16. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>L</i> değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması	90
Tablo 17. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>a</i> değerlerinin ortalama, minimum ve maksimum değerleri.....	92
Tablo 18. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>b</i> değerlerinin genotip x çevre interaksyonu	94
Tablo 19. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>b</i> değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması	95
Tablo 20. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>c</i> (chroma) değerlerinin genotip x çevre interaksyonu	97
Tablo 21. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>c</i> değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması	98
Tablo 22. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>Hue</i> değerlerinin genotip x çevre interaksyonu	100

Tablo 23. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>Hue</i> değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması	100
Tablo 24. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>SPAD</i> değerlerinin genotip x çevre interaksyonu	103
Tablo 25. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>SPAD</i> değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması	103
Tablo 26. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen F_v/F_m değerlerinin genotip x çevre interaksyonu	106
Tablo 27. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen F_v/F_m değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması	106
Tablo 28. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen PI_{abs} değerlerinin genotip x çevre interaksyonu	108
Tablo 29. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen PI_{abs} değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması	109
Tablo 30. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>NES</i> değerlerinin genotip x çevre interaksyonu	111
Tablo 31. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen <i>NES</i> değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması	112
Tablo 32. Fasulye genotiplerinin fenotiplenmesinde kullanılan özelliklerin temel bileşen analizi	115
Tablo 33. Fenotipleme sonucu seçilen en toleranslı 10 ümitvar fasulye genotipinin 0 °C, 5 °C ve 20 °C derecedeki F_v/F_m ve <i>NES</i> değerleri	116
Tablo 34. Fenotipleme sonucu seçilen en toleranslı 10 ümitvar fasulye genotipinin 0 °C, 5 °C ve 20 °C derecedeki PI_{abs} ve <i>SPAD</i> değerleri.....	117
Tablo 35. Fenotipleme sonucu seçilen en hassas 10 fasulye genotipinin 0 °C, 5 °C ve 20 °C derecedeki F_v/F_m ve <i>NES</i> değerleri.....	117
Tablo 36. Fenotipleme sonucu seçilen en hassas 10 fasulye genotipinin 0 °C, 5 °C ve 20 °C derecedeki PI_{abs} ve <i>SPAD</i> değerleri	117
Tablo 37. Fenotipleme sonucu fasulye genotiplerinin 5 °C'deki zararlanma indeksine göre görsel değerlendirme sonuçları.....	118
Tablo 38. Fenotipleme sonucu fasulye genotiplerinin 0 °C'deki zararlanma indeksine göre görsel değerlendirme sonuçları.....	118

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 1. Zülbiye çeşidinin çimlenmesi ve çıkışı	45
Fotoğraf 2. Bitkilerin hoagland solüsyonunda yetiştirilmesi ve örneklerin alınması	45
Fotoğraf 3. RNA izolasyon aşamasına ait görseller.....	47
Fotoğraf 4. RNA izolasyonu sonrası çeşitli örneklerin jel görüntüsü.....	48
Fotoğraf 5. Hoagland solüsyonunda bitki materyallerinin yetiştirilmesi ve tuz stresinin uygulanması	51
Fotoğraf 6. Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin kontrol ve tuz stresini uygulandıktan 24. saatteki görünümü.	51
Fotoğraf 7. Fasulye genotip ve çeşitlerinin ekimine ait görseller	52
Fotoğraf 8. Farklı gruplarda yer alan bitki materyallerine ait görseller (Grup 1: Kontrol, Grup 2: 5 °C uygulaması, Grup 3: 0 °C uygulaması)..	53
Fotoğraf 9. Nisbi elektrolit sızıntı testinin uygulanmasına ait görseller	54
Fotoğraf 10. Ölçümlerde kullanılan cihazlar ve farklı gruplardaki bitkilerin görünümü.	56
Fotoğraf 11. Soğuk stresini uygulamasına ait görseller	58

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

ABA	: Absisik asit
ABRE	: Absciscic acid responsive element
ANK	: Ankirin
AP2-ERF	: Apetala2-ethylene-responsive element binding factor
ATP	: Adenozin trifosfat
bHLH	: Basic helix-loop-helix
bp	: Baz çifti
°C	: Santigrat derece
CAMTA	: The calmodulin-binding transcriptional activator
CDS	: Kodlayan sekanslar
Chlo	: Kloroplast
CIPK	: Calcineurin B-Like protein-interacting protein kinase
cm	: Santimetre
COR	: Cold-responsive
Cysk	: Hücre iskeleti
Cyto	: Sitoplazma
DAG	: Diaçilgliserol
ddH₂O	: Çift distile saf su
DGK	: Diaçilgliserol kinaz
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DOF	: DNA-binding with one finger
DREB	: Dehydration responsive element binding proteins
E. R.	: Endoplazmik retikulum
EST	: Expressed sequence tag
ETI	: Efektör tetiklemeli bağışıklık
ETOH	: Etil alkol
Extr	: Hücre dışı
FAO	: Food and Agriculture Organization
FG	: Fonksiyonel genomik
F_v/F_m	: Fotosistem II'nin maksimum kuantum verimi
GA₃	: Giberellik Asit

GAPC	: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, cytosolic
GAPDH	: Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz
GSDS	: Gene structure display server
HSP	: Isı şoku proteini
IP3	: İnositol trifosfat
JA	: Jasmonat
kDa	: Kilo dalton
KO	: Kareler ortalaması
LEA	: Late embryogenesis-abundant
LR	: Yanal kök
LSD	: Asgari önemli farklılık
MAPK	: Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MARCKS	: Miristoillenmiş alanin bakımından zengin C kinaz substratları
MBS	: MYB binding site
Mito	: Mitokondri
mRNA	: Mesajcı RNA
MYB	: Miyelobla stomatoz
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
NES	: Nisbi elektrolit sızıntısı
NPC	: Spesifik olmayan fosfolipaz C
Nucl	: Çekirdek
P5CS	: Pyrroline-5-carboxylate synthase
PA	: Fosfatidik asit
PC	: Fosfatidilkolin
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PE	: Fosfatidiletanolaminin
Pero	: Peroksizom
PI	: Fosfatidilinositol
pI	: Teorik izoelektrik noktası
PI_{abs}	: Absorpsiyon bazında fotosentetik performans indeksi
PI-PLC	: Fosfatidilinositole özgü PLC'ler
Plas	: Plasmid
PLC	: Fosfolipaz C
PLD	: Fosfolipaz D

PPI	: Fosfoinositidler
qRT-PCR	: Kantitatif PCR
RFLP	: Restriction fragment length polymorphism
RNA	: Ribonükleik asit
rpm	: Round per minute
SA	: Salisilik asit
SBP	: SQUAMOSA promoter binding protein family
SD	: Serbestlik derecesi
sn	: Saniye
SNP	: Single nükleotid polimorfizm
SNRK	: Serine/threonine kinases
SR	: Seminal kök
SRS	: SHI-Related Sequence
TB	: Temel bileşen
TBA	: Temel bileşen analizi
TF	: Transkripsiyon faktör
U	: Ünite
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromol
%	: Yüzde

TEŞEKKÜR

Akademik bilgi ve tecrübeleri ile pek çok alanda donanımlı olan, asistanı olmaktan onur duyduğum ve saygın duruşunu örnek aldığım kıymetli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Vahdettin ÇİFTÇİ'ye,

Anlayışı, hoşgörüsü, öğrenme ve öğretme şevkiyle maddi manevi desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen ikinci tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Göksel ÖZER'e,

Tez izleme komitemde yer alan ve değerli görüşlerini paylaşan Prof. Dr. İ. Hakkı YILMAZ ve Prof. Dr. Nusret ZENCİRCİ başta olmak üzere, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Faik KANTAR, Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU ve Doç. Dr. Faheem Shehzad BALOCH'a,

Çalışmanın farklı aşamalarında bilgi ve deneyimleri ile tezime önemli katkılarda bulunan ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım, Dr. Öğr. Üy. Abdurrahim YILMAZ, Dr. Öğr. Üy. Ali ÇELİK, Dr. Öğr. Üy. M. Azhar NADEEM, Dr. Emrah Güler, Dr. Mehmet TEKİN, Arş. Gör. Orkun EMİRALİOĞLU, Arş. Gör. A. Sami KOCA ve Zir. Yük. Müh. Mehtap ALKAN'a,

Asistanlık günlerimi keyifli kılan bütün mesai arkadaşlarıma ve laboratuvar ekibimize,

Bu tez çalışmasını 2021.10.07.1518 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Eğitim hayatım süresince beni her zaman azimlendiren, her konuda fedakarca destekleyen ve bugünlere ulaşabilmemi sağlayan sevgili aileme, kıymetli eşime ve oğluma,

Teşekkür ederim...

Mehmet Zahit

1. GİRİŞ

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) baklagiller familyasında yer alan Güney Amerika orijinli bir türdür. Kültüre alınmış birçok fasulye türü (*P. vulgaris* L.; *P. coccineus* L.; *P. dumosus* Macfady (sinonim: *Phaseolus polyanthus* Greenm.); *P. acutifolius* A. Gray ve *P. lunatus* L.) bulunmakta olup farklı merkezlerde çeşitli yabani formları bulunmaktadır (Nadeem vd., 2018). Dünya çapında 117,000 fasulye çeşidi mevcut olup bu çeşitlerin % 86 'sının *P. vulgaris* türü içerisinde yer aldığı bildirilmiştir (Nadeem, 2019). Fasulye tarımı Türkiye’de yaklaşık 250 yıl önce başlamış ve özellikle Karadeniz bölgesinde yaygınlık göstermekte olup tarıma söz konusu olan fasulye genotiplerinin geniş bir fenotipik ve genotipik varyasyon gösterdiği belirtilmiştir (Sözen vd., 2012). Mineral maddeler, vitaminler ve protein bakımından oldukça zengin olan (% 18-31.6) fasulye, insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir (Broughton vd., 2003; Vaz Patto vd., 2015; Bitocchi vd., 2017). Fasulyenin kuru tohumları yanında taze olum döneminde taze tohumları veya baklaları sebze olarak kullanılmakta ve yine taze tohumları ve baklaları konserve yapımında veya dondurulmuş olarak gıda sanayisinde değerlendirilmektedir (Çiftçi vd., 2012). Yeşil ve kuru iken tohumları alınan bitki artıkları hayvan beslenmesinde protein oranı yüksek kaliteli kaba yem sağlamaktadır (Özdemir, 2002). 2020 yılı FAO verilerine göre, dünya genelinde 34,495,662 ha alanda kuru fasulye yetiştiriciliği yapılmış ve 30,434,280 ton üretim gerçekleşmiştir. Türkiye’de aynı yıl 84,786 ha alanda kuru fasulye yetiştirilerek yaklaşık 259 kg/da verimle 220,000 ton üretim sağlanmıştır.

Fasulye $2n = 22$ kromozoma sahip diploit bir tür olup genom boyutu 588-637 Mbp’dir (Arumuganathan ve Earle, 1991; Bennett ve Leitch, 2005). Fasulye genetik haritası, 1990'dan beri Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) (Nodari vd., 1993) ve Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) (Adam-Blondon vd., 1994) gibi farklı tip moleküler markörler kullanılarak elde edilmiştir. Fasulye genomunun tüm dizi eldesi, Schmutz vd. (2014) tarafından G19833 fasulye genotipinde shotgun sekanslama tekniğinin uygulanmasıyla başarılı bir şekilde elde edilmiştir. Elde edilen sekanslar 11 kromozom üzerinde toplanmış olup 587 Mbp fasulye genomunun yaklaşık % 80 'ini ifade etmiştir. Birleştirilmiş genom dizileri, transkriptom verileriyle doğrulanarak 27,197 gen modeli ile 4,441 dönüşümlü olarak kaymış transkript tarafından toplam 31,632 protein kodlama dizisi

tanımlanmıştır. Ayrıca, genomun oldukça büyük kısmını teşkil eden transpozon elementlerin genomun % 45 'ini oluşturduğu ve bunun % 40 'ının retrotranspozonlardan oluştuğu bildirilmiştir. Vlasova vd. (2016) tarafından BAT93 fasulye hattının genomu PhasIbeAm konsorsiyum desteği ile sekanslanmış, yapılan analizlerde genetik içeriğe bağlı olarak, fasulye genomunun transpozon eklemenin yüksek seviyesi ile 27,000 geni kodladığı anlaşılmıştır. Fasulye genlerinin % 91 'inin soya fasulyesi ile aynı gen sırasında olan bloklar içerisinde bulunduğu tespit edilmiştir (Schmutz vd., 2014). Son zamanlarda, fasulyenin genom haritalaması ve markör geliştirilmesine çok yararlı olan kromozom ölçeği “<http://www.phytozome.net/commonbean>” “The Joint Genome Institute, Department of Energy” tarafından geliştirilmiştir.

Son yıllarda birçok üründe olduğu gibi kuru fasulyede de ıslah çalışmaları ve yeni geliştirilen çeşit sayıları artmaya başlamıştır. Ülkemizde 2020 yılı itibariyle 3'ü üretim izinli olmak üzere 40 adet çeşit tescil edilmiş olmasına rağmen tarla bitkileri içinde fasulye çeşit sayısı az olan sınıfta yer almaktadır (Anonim, 2020). Ancak tüketici çeşitliliğine bağlı olarak artan farklı talepler, daha dengeli ve sağlıklı beslenme istekleri, ülkenin ekolojik farklılıklarının bolluğu gibi nedenler mevcutlarla yetinmeyip sürekli yeni çeşitlerin geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Doğada uzun yıllardır kendi halinde yetişen bitki popülasyonları, seleksiyon için büyük önem taşımaktadır. Tescilli çeşitlerin yetiştirilmediği bölgelerde, kendine döllenmiş yerel popülasyonların tarımı yapılmaktadır (Sözen vd., 2012). Bu gibi yerel popülasyonlar, büyük bir genetik çeşitliliğe sahiptir. Köy popülasyonları yıllar boyunca aynı bölgede yetiştirildiklerinden dolayı bölgeye çok iyi adapte olmuşlardır. Şehirli ve Özgen (2013) popülasyon içerisindeki genotiplerin yıllar boyunca iklim değişikliklerine ve çeşitli şartlara kolayca uyum sağlayabilecek yetenekte olduğunu bildirmiştir. Ülkemizin çeşitli bölgelerinde tanınan ve damak tadına alıştığımız popülasyon halindeki kuru fasulye genotiplerini değerlendirip yeni stabil çeşitler geliştirmenin ülkemiz tarımına katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Yerel fasulye gen kaynaklarının toplanması, fenolojik, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu, ıslah çalışmalarına materyal temini noktasında oldukça kritik çalışmalar olup bu konu ile ilgili ülkemizde çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Çiftçi vd., 2009; Dursun vd., 2010; Madakbaş ve Ergin, 2011; Kulaz ve Çiftçi, 2012; Çiftçi vd., 2012; Ulukapı ve Onus, 2012; Khaidizar

vd., 2012; Nadeem vd., 2018; Aydın ve Baloch, 2018; Özer vd., 2018; Yeken vd., 2018; Çancı vd., 2019; Aydoğan vd., 2020; Nadeem vd., 2020; Öztürk vd., 2020).

Soğuk stresi bitkilerin yetişmesini etkileyen en önemli abiyotik stres faktörleri arasında kabul edilmekte ve birçok önemli bitki türünün verimini ve coğrafi dağılımını sınırladılmaktadır. Her yıl sonbaharda meydana gelen donlardan, kışın olağandışı donma sıcaklıklarından ve geç ilkbahar donlarından dolayı bitkilerde önemli kayıplar meydana gelebilmektedir. Nitekim Kintake (1998), soğuk zararından etkilenen bitkilerde zayıf çimlenme, zayıf fide gelişmesi, bitki gelişmesinde gerilikler, solgunluk, kloroz, nekroz, zayıf bakla ve tohum tutmama gibi belirtiler ortaya çıkabildiğini bildirmiştir. Jones (1992), soğuk zararı oluşmuş bitkilerde membran lipidlerinin sıvı-kristal yapıdan katı-jel yapıya dönüştüğünü ve sonuç olarak hücre öz suyunun membran dışına sızıntısının arttığını belirlemiştir. Yoshida vd. (1999) bitkilerde soğuk zararının hücre membranlarının lipid yapısının bozulmasına, hücre özsuyu sızıntısına ve membranlarda taşınmanın azalmasına, mitokondrilerde respirasyonun bozulmasına ve fotosentezin inhibe edilmesi suretiyle bitki gelişmesini etkilediğini vurgulamıştır. Lopez vd. (2008) soğuk stresinin fasulye üretimini sınırlayan en önemli faktör olduğunu ve bitki gelişimi için 0-10 °C arasındaki sıcaklıkların kritik bir öneme sahip olduğunu bildirmişlerdir. Soğuk zararının bitkilerde; yaprak renginde değişme, solgunluk ve doku nekrozu, hücre çeperinden özsuyu sızıntısı, besin elementi eksikliği, respirasyon bozukluğu, toksin birikmesi, proteinlerin parçalanması, su stresi, oksijen eksikliği, polen canlılığında ve polen çimlenmesinde azalma gibi şekillerde ortaya çıkabildiği çeşitli araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Thakur vd., 2010; Kantar vd., 2018). Soğuk stresine maruz kalmış bitkilerden alınan yaprak dokuları üzerinde yapılan nisbi elektrolit sızıntı testi, soğuk zararının tespiti ve soğuk toleranslı genotiplerin seleksiyonu amacıyla birçok çalışmada kullanılmıştır (Balasubramanian, 2002; DaJun vd., 2009; Gao vd., 2009; Zhang vd., 2011; Certel, 2016; Kantar vd., 2018). Kamps vd. (1987) yaprak rengi ölçümlerini soğuk zararı seviyesi ile ilişkilendirmiştir. Diğer taraftan, Massacci vd. (2008) klorofil floresan ölçümlerinin, fotosentetik işleyişin incelenmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntem haline geldiğini ve bitkinin çevresel strese tepkisini incelemek için güçlü bir araç olduğunu bildirmiştir. Bu kapsamda, absorpsiyon bazında fotosentetik performans indeksi (PI_{abs}) değerinin farklı abiyotik ve biyotik streslerde bitkinin genel fotosentetik performansını araştırmak için çok etkili ve güçlü bir parametre

olduğu *Lepedus* vd. (2012) ve Azhar vd. (2014) tarafından bildirilmiştir. Zhou vd. (2018), fotosistem II (*PSII*)'nin (F_v/F_m) maksimum kuantum veriminin en önemli klorofil floresan parametrelerinden biri olduğunu belirtmiştir. Urban vd. (2017), stresli ve/veya hasarlı bitkiler için F_v/F_m önemli ölçüde azaldığını, stressiz koşullarda bu değerin 0,83-0,84 arasında değiştiğini vurgulamıştır. F_v/F_m oranı; soya fasulyesi, bakla, asma, domates ve mısır bitkilerinin soğuk stresine duyarlılıklarının belirlenmesinde kullanılmıştır (Guy vd., 1997; Skrudlik vd., 2000; Cao vd., 2015; Su vd., 2015; Zhou vd., 2018). Bu tez kapsamında, yerel kuru fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesi sonucu elde edilen bulgular, ilerleyen süreçte ülkemizde fasulyede soğuk stresi ile ilgili yürütülecek klasik ve modern ıslah çalışmalarına yardımcı olacağı ve sürecin kısalmasına katkıda bulunacağı öngörülmektedir.

Bitki fizyolojisinde, gen ve ürünleri olan proteinlerin rollerinin araştırılmasının, bitkilerin stres faktörlerine verdiği tepkinin anlaşılmasında temel rol oynadığı bildirilmiştir (Nakashima vd., 2014). Son yıllarda, genom çapında yapılan çalışmaların ilerlemesi ve biyoinformatik veri tabanlarının ciddi oranda yaygınlaşması ile çeşitli stres faktörlerine dayanıklı bitki çeşitlerinin ve bitki ıslah stratejilerinin geliştirilmesi sağlanmıştır. Perez-Torres vd. (2009) bitkilerin agronomik, abiyotik ve biyotik stres faktörlerine tolerans gibi karakterlerin gen fonksiyonları ile ilişkilendirilmesinin günümüzde önemli bir ilgi alanı olduğunu bildirmiştir. Hwang vd. (2005) abiyotik stres koşulları ile ilişkili olduğu tespit edilen genlerin, hücrelerin ve dokuların korunmasında önemli rol oynayan protein ve metabolitleri oluşturduğunu, ayrıca bu genlerin sinyal moleküllerinin iletilmesi ile ilgili olduğunu bildirmiştir.

Bitkilerde abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı reaksiyonların incelenmesi sonucunda, farklı stres koşullarında (soğuk, kurak, tuzlu ve alkali) aktive olan fosfatidilinozitol (PI) lipitler, fosfatidik asit (PA), diaçilgliserol (DAG) ve bazı lisofosfolipidlerin üretilmesi gibi fizyolojik olaylarda önemli sinyal moleküllerinin rol aldığı anlaşılmıştır (Munnik ve Vermeer, 2010; Hou vd., 2016; Carther vd., 2019). Diaçilgliserol ve fosfatidik asit ökaryotik hücrelerde bazı hücresel işlemlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Fosfatidik asit sinyal molekülleri arasında en hızlı ve en geçici molekül olup bitkilerde strese karşı tepkilerin oluşmasında önemli rol oynamaktadır. Fosfatidik asit, DGK enzimleri tarafından katalize edilen DAG fosforilasyonunu takiben üretilmektedir (Yang vd.,

2003). Bu da DGK'lerin stres yanıtını etkilediğini göstermektedir (Shulga vd., 2011). DGK'nin önemli bir sinyal molekülü olan diacylglicerolü fosfatidik asite dönüştürebilme kabiliyetinden dolayı, farklı hücrelerdeki DGK aktivitesi normal fizyolojik koşullarda kararlı bir şekilde devam etmektedir (Arizs vd., 2009). Birçok bitkide; *Solanum lycopersicum*; *SLDGK* (Snedden ve Blumwald, 2000), *Arabidopsis*; *AtDGK* (Gomez-Merino vd., 2004; 2005), *Zea mays*; *ZmDGK* (Sui vd., 2008), *Triticum aestivum*; *TaDGK* (Zhang vd., 2008), *Oryza sativa*; *OsDGK* (Ge vd., 2012), *Malus prunifolia*; *MpDGK* (Li vd., 2015) ve *Glycine max*; *GmDGK* (Carther vd., 2019) DGK enzimlerinin farklı izoformlarının aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca, Escobar-Sepúlveda vd. (2017), gümüş (Ag), arsenik (As), kadmiyum (Cd), krom (Cr), cıva (Hg), alüminyum (Al) ve sodyum (Na) gibi diğer metal iyonları gibi bilinen faydalı elementlere yanıt olarak DGK genlerinin farklı bitki dokularındaki detaylı ekspresyon profilinin analizini açıklamışlardır. Bugüne kadar yürütülen araştırmalar DGK enzimlerinin büyüme, gelişme, çevresel uyaranlara ve streslere tepkiler gibi hayati süreçlerde önemli roller üstlendiğini işaret etmektedir.

Fasulye bitkisinde genom düzeyinde stres altında ifade değişimi gösteren, bitki savunma mekanizmasıyla ilgili çeşitli genler (*ArrB*, *Whirly*, *HSP70*, *CAMTA* ve *YABBY*) tanımlanmıştır (Büyük vd., 2016; İnal vd., 2017; Gökdemir, 2019; Büyük vd., 2019). Ancak, fasulyede DGK genleri ile ilgili bir çalışma daha önce yapılmamış olup, bu genlerin fasulyedeki stres koşullarına göstermiş olduğu tepkinin genetik mekanizması henüz açıklığa kavuşmamıştır. Önceki çalışmalardan elde edilen bulgular, DGK genlerinin fasulye çeşitlerinde de strese karşı olan savunmada rol oynayabileceğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasında, DGK gen ailesinin fasulye genomunda tanımlanması, fasulyenin farklı dokularında normal koşullarda ve tuz stresi altındaki DGK genlerinin ifade düzeylerinin tespiti, Türkiye'nin Batı Anadolu Bölgesi'nden toplanmış yerel fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı tolerans durumlarının belirlenmesi ve fasulye bitki dokusunda soğuk stresi altındaki DGK genlerinin ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi, amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Bitkiler sürekli olarak çeşitli çevresel streslere maruz kalmakta ve olumsuz koşullar altında hayatta kalabilmek için etkin mekanizmalar geliştirmektedir. Son on yılda, bitkilerin abiyotik/biyotik stres tepkileri ile ilgili çalışmalar önemli düzeyde artmış ve stres toleransında rol oynayan moleküler mekanizmalara odaklanılmıştır (AbuQamar vd., 2009; Ramegowda ve Senthil-Kumar, 2015; Kue Foka vd., 2020). Hem biyotik hem de abiyotik stresler üzerine yapılan çalışmalar birçok gen için önemli bulgular ortaya koymuş ve strese duyarlı bazı genlerin başarılı bir şekilde tanımlanmasını sağlamıştır (Luo vd., 2005; Narsai vd., 2013; Shaik ve Ramakrishna, 2013; Sharma vd., 2013). Bu strese duyarlı genler, bitkilerde PA sinyalleşmesi yoluyla bitki büyümesi, gelişmesi ve stres toleransında önemli rolleri ile öne çıkan DGK enzimini kodlayan lokusu içermektedir. PA üretimi ile birleşen DGK'nin enzimatik fonksiyonu, enzim aktivitesini değiştirerek stoma kapanmasını kontrol etmekte, hücre zarı geçirgenliğini düzenlemekte ve diğer hücresel süreçleri düzenleyerek birçok fitohormonun aktivasyonunu hafifletebilmektedir (Arisz vd., 2009). Lipidler, bitki gelişimi ve stres tepkilerinde temel metabolitlerdir (Barbaglia, 2016). PA, çeşitli kompleks lipidlerin biyosentezinde çok önemli bir rol oynayan gliserofosfolipid olmasının yanı sıra bitkilerde lipid sinyalleşmesinde anahtar bir molekül olarak da kabul edilmektedir (Ohlrogge ve Browse, 1995; Testerink ve Munnik, 2005). Endoplazmik retikulum, mitokondri ve plastidler, bitkilerde fosfolipidlerin ve glikolipidlerin ana öncüsü olarak hizmet eden PA üreten hücrelerin ana bölümleri olduğu belirtilmiştir (Testerink vd., 2011).

Bitkiler farklı sinyal iletim kademeleri sayesinde çevresel faktörlere önemli düzeyde yanıt verme kabiliyetlerine sahiptir (Arisz vd., 2009; Abd-El-Haliem vd., 2016). Bitkilerdeki en önemli sinyal moleküllerinden bazıları, fosfoinositidler (PPI), sfingolipidler, lizofosfolipidler, oksipinler, N-açiletanolaminler ve serbest yağ asitleridir (Wang ve Chapman, 2013). Bitki hücrelerindeki yaprak yapısal lipidlerin çoğu galaktolipidler (yaklaşık % 70) olmasına rağmen, PA dahil olmak üzere fosfolipidlerin, sinyal algılama ve iletiminde önemli roller oynadığı bildirilmiştir (Testerink ve Munnik, 2005). Yapılan araştırmalar, PA'nın bitkilerde önemli bir ikinci haberci olduğu ve sentezinin etilen (Munnik, 2001), absisik asit (Zhang vd., 2004), yaralanma (Munnik, 2001), ozmotik basınç (Munnik vd., 2000;

Testerink vd., 2004), soğuk (Ruelland vd., 2002), tuzluluk (Zhang vd., 2012), sıcaklık değişiklikleri (Arisz vd., 2013), patojen saldırısı (Zhang ve Xiao, 2015) ve kuraklık (Li vd., 2015) faktörlerine yanıt olarak indüklendiği bildirilmiştir. Bitkilerdeki plazma zarının yaklaşık %30'u, amfifilik özelliklerinden dolayı lipid çift katmanları oluşturabilen fosfolipidlerden oluşmaktadır. Bitki hücrelerinde, PA'nın plazma zarında iki farklı metabolik yoldan üretildiği; (1) yapısal fosfolipidlerin hidrolizinin bir ürünü olarak, (2) fosfolipaz C (PLC) ve DGK birleşik aktivitesi yoluyla, bildirilmiştir (Hong vd., 2014; Escobar-Sepúlveda vd., 2017. PLC/DGK yolundan üretilen PA'nın, moleküler, hücresel ve fizyolojik tepkiler sırasında en geniş kapsamlı aktiviteye sahip olması, çok sayıda protein hedefinin aktivasyonu ile bitkilerde çeşitli reaksiyonları uyarma kapasitesini açıklamaktadır (Testerink vd., 2011; Pleskot vd., 2012). PLC'lerin bitki hücreleride iki tipi bulunmaktadır; (1) PPI'yı substrat olarak alan PLC'ler (fosfatidilinositol), (2) spesifik olmayan PLC'ler (NPC'ler). Her iki durumda da PLC'lerin DAG ve inositol trisfosfat (IP3) verdiği bildirilmiştir. Fosfatidilinositol 4,5-bifosfat hidrolizinden sonra IP3, sitozole yayılmakta ve vakuol gibi hücre içi bölümlerde kalsiyum mobilizasyonunda rol oynayan ikinci bir haberci görevinde bulunmaktadır. Diğer taraftan DAG plazma zarında kalmakta ve sinyal süreçlerine katılmaktadır. Daha sonra DAG'ın DGK tarafından fosforile edilmesi ile PA üretilmekte ve fosfoinositidler metabolize olabilmektedir. DGK enzim aktivitesi yoluyla DAG fosforilasyonundan PA üretimi, bitkilerde lipid sinyallemesinin ana reaksiyonudur. DGK enzimleri, PA üreterek ve elektrostatik yükünü değiştirerek hücre zarı konfigürasyonlarında lokal değişiklikler oluşturabilmekte ve çeşitli proteinlerin sentezinde etkin rol oynamaktadır. Testerink ve Munnik (2011) ve Ge vd. (2012), bu lipidlerin ve enzimlerin çoğunun sinyal verme işlevlerine sahip olduğunu kanıtlamış ve farklı çevresel stres faktörlerine yanıt olarak sinyal veren lipidlerin sentezinin geçici olduğunu tespit etmişlerdir. Ökaryotik hücrelerde, PA seviyelerinin tipik olarak düşük olduğu, toplam fosfolipidlerin % 0,67 'sine karşılık geldiği bildirilmiştir (Arisz vd., 2000). PA'nın % 5-17 'sinin PLD tarafından üretilirken geri kalanının PLC/DGK tarafından üretildiği varsayılmıştır (Munnik vd., 1998). Nitekim, soğuk (0 °C) ile uyarılan *Arabidopsis* hücrelerinde, PA'nın % 80 'e kadar olan kısmının PLC/DGK yolu ile üretildiği belirtilmiştir (Ruelland vd., 2002). Bu durum DGK'lerin soğuk stresi altındaki tepkisinin çok yüksek olduğunu göstermektedir. Escobar-Sepúlveda

çiçekler dahil olmak üzere *Arabidopsis* bitkisinin çeşitli dokularında eksprese edildiği ve bu genin bitkilerin düşük sıcaklığa (4 °C) maruz bırakılarak indüklendiğini ve soğuk stresine tepki mekanizmasında katkısı olduğu belirlenmiştir (Gomez-Merino vd., 2004). Knock-out mutantlarının, *AtDGK1* ve *AtDGK2*'nin analizini kolaylaştırdığını ve *Arabidopsis*'in soğuk yanıt veren transkriptomuna katılımlarını ortaya koyduğunu bildirmiştir (Lee vd., 2005). Li vd. (2015) yürüttükleri araştırmada, tuz ve kuraklık stresine cevap olarak elma bitkisinde hem *MdDGK4* hem de *MdDGK8* genlerinin ifadelerinde değişim olduğu tespit etmişlerdir. Gu vd. (2018), mısır bitkisinde *DGK* gen ailesinin farklı stres koşullarında (soğuk, tuz ve kuraklık) ve farklı zaman aralıklarındaki (0, 6, 12 ve 24. saat) ifade düzeylerinin belirlemişlerdir. Çalışmada, soğuk stresinin 12. saatinde tüm *DGK* genlerinin ekspresyon seviyelerinin arttığı ve *ZmDGK5* geninin en fazla eksprese olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, *ZmDGK1* ve *ZmDGK5* genlerinin tuz stresi uygulamasının 12. ve 24. saatlerinde en yüksek ekspresyon derecesine sahip olduğunu belirlenmiştir. Çalışmada, *DGK* 'lerin iki nihai lipid (DAG ve PA) arasındaki stratejik konumları nedeniyle, soğuk, tuz, kuraklık stresi gibi abiyotik stres tepkilerinde birçok bitkide çok önemli rol oynayabileceğini bildirilmiştir.

2.1 Bitki *DGK* Genlerinin Yapısı ve İzoformları

Drosophila melanogaster'de sadece bir *DGK* geni tanımlanırken, memelilerde (10 izoform) birçok *DGK* geni tanımlanmış ve çeşitli organizmalarda *DGK* genlerinin ekspresyonu üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Masai vd., 1992). Memelilerde, *DGK*'ler korunmuş protein alanlarına göre beş alt tipte sınıflandırılmaktadır. Katalitik ve aksesuar alanları göz önüne alındığında, katalitik alan, alt tipler içinde farklı özelliklerle güçlü bir şekilde korunmaktadır (Merida vd., 2007; Gupta vd., 2017). Tip I izoformları (*DGK* α , β ve γ), iki tekrarlanan kalsiyum bağlayıcı EF-hand motifine sahiptir. Tip II izoformları (*DGK* δ , η ve κ), bir Pleckstrin homoloji domaini ile karakterize edilmektedir. Tip III izoformu (*DGK* ϵ) arachidonate-DAG için benzersiz bir substrat özgüllüğüne sahiptir. Tip IV *DGK* izoformları (*DGK* ζ ve ι), ortak miristoillenmiş alanın bakımından zengin C kinaz substratları (MARCKS), ankirin (ANK) tekrarına ve karboksil-terminal PDZ-bağlama domainine sahiptir. Tip V (*DGK* θ) izoformu ise 3 C1 domaini ile karakterize edilmektedir. Hayvanlarda, alglerde veya bitkilerde *DGK* tarafından korunan alanlar üzerindeki çoklu fonksiyonel analizler de spesifik motiflerin ve

bunların düzenlemelerinin potansiyel rolünü detaylı olarak açıklamıştır (Sakane vd., 2002; 2007).

Bitkilerde, *DGK*'ler çeşitli izoformlarda bulunmakta ve hemen hemen hepsi benzer korunmuş katalitik, aksesuar ve ATP-bağlanma alanlarını içermektedir. ATP bağlayıcı bölge genellikle, DAG ve PA seviyeleri arasındaki dengeyi koordineli olarak kontrol etmede kinaz aktivitesi için gerekli olan GXGXXG/A konsensüs ile çevrilidir. Ayrıca bu alan, uygun hücre tiplerindeki fizyolojik fonksiyonları yönlendirmektedir (Gómez-Merino vd., 2004). Ancak, *DGK*'ler üzerine araştırmaların henüz yeni olmasından dolayı çalışmaların çoğu çeşitli bitki modellerinde in-siliko analizlerle *DGK* genlerinin tanımlanmasına ve karakterizasyonuna odaklanmıştır. *DGK* gen ailesi, birçok bitkinin tüm genom dizilerinde kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve karakterize edilmiş olup gen ailesine ait üyeler üç grup içerisinde sınıflandırılmıştır (Wissing vd., 1992; Arisz vd., 2009). *DGK* gen ailesine ait *Arabidopsis thaliana*'da yedi (*AtDGK1-7*), *Oryza sativa*'da sekiz (*OsDGK1-8*), *Zea mays*'da yedi (*ZmDGK1-7*) ve *Malus domestica*'da sekiz (*MdDGK1-8*) üye tespit edilmiştir (Pavlopoulos vd., 2010; Law vd., 2012; Li vd., 2015; Gu vd., 2018).

Bitki *DGK* genlerinin yapısının hayvanların gen yapısından daha az karmaşık olduğu belirtilmiştir (Kue Foka vd., 2020). Bitkilerde protein korunan alanlarını takiben *DGK* genleri üç farklı filogenetik kümeye (I, II ve III) ayrılmaktadır. Küme I *DGK*'leri evrensel bir çerçeveye sahiptir: (YT-yukarı temel bölge-VP) - (3aa) - (DAG/PE-BD-1) - (12aa) - (DAG/PE-BD - 2/extCRD benzeri) - (~130aa) - (*DGKc/DGKa* alanı). Küme II ve III'e ait olan *DGK* genleri, yalnızca katalitik (*DGKc*) ve aksesuar (*DGKa*) alanlarına sahiptir. Bitkilerdeki *DGK* genlerinin ekzon/intron organizasyonunun bireysel kümelerde hemen hemen aynı olduğu bildirilmiştir. Örneğin, küme I *DGK*'lerinde yedi ekzon, küme II ve III *DGK*'lerinde ise 12 ekzon bulunmaktadır. Bu durum genlerin, aynı atalara ait olduğunu göstermektedir (McGrath vd., 2014; Lynch vd., 2001). *Arabidopsis thaliana* 'da küme I'de *AtDGK1*, *AtDGK2*, küme II'de *AtDGK3*, *AtDGK4* ve *AtDGK7*, küme III'de ise *AtDGK5* ve *AtDGK6* bulunmaktadır. Soya fasulyesi genom analizlerinde *Arabidopsis* ve çeltik bitkisindeki *DGK* genlerine dayalı filogenetik ağaçta küme I'de üç gen (*GmDGK2*, *GmDGK11* ve *GmDGK12*); küme II'de dört gen (*GmDGK5*, *GmDGK6*, *GmDGK7* ve *GmDGK10*) ve küme III'te beş

gen (*GmDGK1*, *GmDGK3*, *GmDGK4*, *GmDGK8* ve *GmDGK9*) bulunmuştur (Carther vd., 2019).

2.2 DGK Genlerinin Hücre Altı Lokalizasyonu ve Doku Dağılımı

Massart ve Zierath (2019) *DGK* genlerinin çeşitli hücre altı bölmelerde bulunduğunu ve aktivitelerinin hücre dışı uyaranlara, bağlanma durumu ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Hareketsiz hücrelerde *DGK* aktivitesi çok düşük kalmakta, ancak çeşit stres faktörlerinde hızla arttığı ve ökaryotik hücre metabolizması sırasında farklı *DGK* aktivite havuzlarının oluştuğunu bildirmiştir (Baldanzi vd., 2016). Bitkilerde, birçok *DGK* izoformunun hücre altı lokalizasyonunu karakterize etmek için füzyon rekombinant protein yöntemi kullanılmıştır (Snedden vd., 2000). Bununla birlikte, farklı hücre veya doku tipleri içindeki farklı bitki *DGK* izoformlarının karakterizasyonu ve hücre içi lokalizasyonu hakkında daha fazla araştırma yapılmasının gerekliliği çeşitli araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Kobayashi vd., 2007; Vermeer vd., 2017). Bitkilerde *DGK* hücre altı lokalizasyonu esas olarak 1989'dan 1992'ye kadar incelenmiş olup aktivitelerinin özellikle çekirdek (Hendrix vd., 1989; Xie vd., 2015), hücre iskeleti ve plazma zarı (Lundberg ve Sommarin, 1992) ve kloroplastlar (Tan vd., 2018) gibi bitki anahtar organellerinde olduğu tespit edilmiştir. Günümüzde biyoinformatik yöntemler aracılığıyla belirli proteinlerin hücre altı lokalizasyonunu tahmin etmek mümkündür (Savojardo vd., 2018; Sperschneider vd., 2017). Nitekim Carther vd. (2019), tüm *DGK* gen ailesinin hücre altı lokalizasyonu için tahminleri *Arabidopsis thaliana* ve *Glycine max*' de yapmışlar ve araştırma sonucunda bir bitki hücresinin hemen hemen her önemli organelinde (çekirdek, sitoplazma, peroksizom, hücre zarı, mitokondri, lizozom, golgi aparatı, endoplazmik retikulum, plastid) *DGK*'lerin lokalizasyonunu belirlemişlerdir.

DGK genlerinin farklı dokulardaki dağılımları ve ifade düzeylerinin tespiti ile ilgili çeşitli çalışmalar yürütülmüştür. Örneğin; Katagiri vd. (1996), *Arabidopsis*'te, *AtDGK1* ve *AtDGK2* protein kodlayan alan organizasyonlarının benzer olduğunu ve filogenetik ağaçta küme I'de yer aldığını belirtmiştir. Ayrıca, *AtDGK1*'in esas olarak köklerde, sürgünlerde ve yapraklarda eksprese olduğunu bildirmiştir. Gómez-Merino vd. (2005) *AtDGK2*'nin gövde dışında tüm bitkide eksprese olduğunu belirtmiştir. *AtDGK7*'nin çiçeklerde ve genç dokularda belirgin olduğu, *AtDGK2*, *AtDGK4* ve *AtDGK5b* genlerinin gövde hücrelerinde önemli seviyede bulunduğunu belirlemiştir. *AtDGK3*, *AtDGK4* ve *AtDGK5* genlerinin

petal, stamen ve pistillerde eksprese olduğu bildirilmiştir (Arana-Ceballos, 2006; Yunus vd., 2015). Diğer taraftan, elma bitkisinde gövde ve çiçeklerde altı *DGK* geninin (*DGK1*, *DGK2*, *DGK4*, *DGK5*, *DGK7* ve *DGK8*) yüksek ekspresyona sahip olduğu belirlenmiştir (Li vd., 2015). Gu vd. (2018) mısır bitkisinde *ZmDGK1*, *ZmDGK2*, *ZmDGK4*, *ZmDGK5*, *ZmDGK6* ve *ZmDGK7* genlerinin farklı dokulardaki ve gelişim aşamalarındaki varlığını ortaya çıkarmıştır. *ZmDGK* genlerinin çoğunun vejetatif ve generatif dönemde eksprese olduğunu ve test edilen birçok dokuda *ZmDGK7*'nin diğer *ZmDGK* genlerinden daha yüksek ekspresyon seviyesine sahip olduğunu bildirmiştir. Carther vd. (2019), soya fasulyesinde normal koşullarda 12 *GmDGK* geninin (*GmDGK5* ve *GmDGK6* hariç) kök ve yaprak dokusunda eksprese olduğunu belirtmiştir.

2.3 Bitki Büyüme ve Gelişimde DGK

DGK, PA'ları oluşturmak için DAG'nin ATP'ye bağlı fosforilasyonunu katalize eden integral membran enzimatik protein olduğu bilinmektedir (Möbius vd., 2019). PLC/DGK yolu, bitkilerde önemli bir PA üreticisidir. PA üretimi, biyosentez veya hem fosfatidilinositol 4-fosfat (PtdIns(4)P) hem de fosfatidilinositol 4,5-bifosfatın (PtdIns(4,5)P₂) bozulması sırasında azalmaktadır (Delage vd., 2012). PLC/DGK ağı, özellikle bitkinin stres yaşadığı dönemlerde, bitki metabolizmasının çeşitli formlarına dahil olmaktadır. Bu süreçte üç ana metabolitin (PA, PI-fosfolipaz C (PI-PLC) ve DAG) müdahalesi gerekmektedir. Bitkinin stres yanıtına tepkisi sırasında, PLC/DGK sinyal yolundan türetilen PA havuzları, uyarılara karşı hızla toplanmakta ve toplanan PA'nın sadece küçük bir kısmı, efektör tetiklemeli bağışıklık (ETI) yanıtında PLD'nin aktivitesine ait olmaktadır (De Jong vd., 2004; Andersson vd., 2006). PI-PLC, PI-fosfolipaz D'den (PI-PLD) farklı özel bir PA havuzu oluşturmak için DGK tarafından fosforile edilen DAG'ı üretmektedir (Haucke vd., 2007). Ayrıca, PIP₂ hidrolizi ile birleştirilmiş DGK enzimlerinin katalitik etkisi, ökaryotik hücrelerde sinyal transdüksiyon kaskadı sırasında PLC'den çoklu doymamış bir PA de üretebilmektedir (Hodgkin vd., 1998). Munnik ve Testerink (2008), her türlü strese yanıt olarak kök büyüme düzenlenmesinin çoklu doymamış PA tarafından uyarıldığını öne sürüp ve bunu gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz (GAPDH) bozunmasıyla ilişkilendirmiştir. Daha sonra bu hipotez, *Arabidopsis thaliana*'nın kök dokuları üzerinde yakın zamanda yapılan bir çalışma ile doğrulanmıştır. GAPDH/GAPC'nin tuz stresine tepki olarak PLC/DGK yolundan PA tarafından hedeflendiğini ve modüle edildiğini

doğru bir şekilde göstermiştir (McLoughlin vd., 2013). Bitkilerde DAG sinyali yolunun az önemsenmesi, DAG'nin küçük bolluğu ve DGK enzimleri tarafından PA'ya hızlı dönüşümü ile açıklanmaktadır. Ancak PA, açık bir şekilde bitki lipid sinyalleşmesinin ana düzenleyici unsuru olmaya devam etmektedir. Bu nedenle, bitki stres tepkilerinde DGK enzimlerinin doğrudan etkileri, bitki stres direncinde önemli bir konu olarak ortaya çıkmakta ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (Muthan vd., 2013). Nitekim Zimmermann vd. (2004), *DGK4*'ün ekspresyonunun çiçeklerde, genç yapraklarda ve kök apikal meristemlerinde önemli olduğunu ve en yüksek ekspresyonun polen dokularında olduğunu belirlemiştir. Bu bulgu olası durumlar hakkında daha fazla araştırma yapılmasını teşvik etmiştir. DGK, bitki hücre metabolizmasında merkezi bir sinyal molekülü olan PA üretmek için ikinci haberci DAG'ın dönüşümünü düzenleyerek bitki büyümesinde ve gelişmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. *Arabidopsis*'te bitki büyüme faktörleri araştırılırken, DGK inhibitörü R59022'nin kullanımı, *AtDGK2* ve *AtDGK7* aktivitelerini in vitro'da farklı şekilde etkilemiş ve bitki büyüme ve gelişimini değiştirmiştir. Bu durum, DGK genlerinin kök büyümesinde olası rolünü ortaya çıkarmıştır (Gómez-Merino vd., 2005). Yuan ve ark. (2019) DAG ile takviye edilmiş *OsDGK1*'i aşırı eksprese olan fidelerin, mutant çeltikte yanal kök (LR) yoğunluğunu ve seminal kök (SR) oluşumunu restore ettiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, *OsDGK1*'i aşırı eksprese eden fidelerdeki köklerin fenotiplerini eski haline getirmek için DGK inhibitörü R59022'ye yanıt olarak sırasıyla DAG ve PA konsantrasyonlarının arttığını ve azaldığını belirlemiştir. Bu sonuçlar DGK'nın çeltik kökü gelişimi ve LR ve SR oluşumunun desteklenmesi ile ilişkili bir lipid aracısı olarak kritik rolünü vurgulamaktadır.

2.4 Bitki Stres Adaptasyonunda DGK

Arabidopsis, soya fasulyesi, mısır, buğday, domates, elma ve çeltik gibi çeşitli bitki türlerinde çevresel streslere bitki adaptasyonunda DGK genlerinin rolleri üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Snedden ve Blumwald, 2000; Gomez-Merino vd., 2004, 2005; Sui vd., 2008; Zhang vd., 2008; Ge vd., 2012; Li vd., 2015; Carther vd., 2019). Bitki DGK genleri üzerinde yapılan çalışmalar, bunların sodyum (Na) ve alüminyum (Al) gibi bilinen bazı faydalı elementlerle diğer arsenik (As), gümüş (Ag), krom (Cr), kadmiyum (Cd) ve cıva (Hg) gibi (Pilon-Smits vd., 2009; Poschenrieder vd., 2013; Kue Foka vd., 2020) metal ve metaloid iyonları ile olan önemli etkileşimlerini göstermiştir. Bu faydalı elementler, farklı rollere sahip

farklı hücre bölmelerinde bulunmaktadır. *DGK* genlerinin, geçiş aktiviteleri sayesinde bitki hücresinde geniş çapta yayıldığını doğrulamaktadır. Bitkilerde *DGK* genlerinin fonksiyonel fazlalığının oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir (Arisz vd., 2013). Bitkilerde biyotik veya abiyotik streslere karşı en etkili yanıt, PLC/DGK yolu aracılığıyla hızlı ve kısa süreli PA üretimi olup bu süreç dehidrasyon (Hong vd., 2013), tuz (Yu vd., 2010) ve sıcaklık stresinin (Ruelland vd., 2002; Arisz vd., 2013) neden olduğu ozmotik stres tepkisinde rol oynamaktadır. Günümüzde, bitkilerin büyüme, gelişme ve çevresel stress faktörlerine tepkileri gibi bitki temel süreçlerinde DGK enzimlerinin rolü ile ilgili çalışmalar artarak devam etmektedir.

2.4.1 Abiyotik Stres Faktörlerinde DGK

Bitkiler tuzluluk, kuraklık ve soğuk gibi abiyotik streslere yanıt olarak adaptif mekanizmaları sırasında, bitki metabolizmasında işlevsel bir rolü olmayan birçok biyomolekül biriktirmektedir. Çevresel parametrelerdeki değişikliklere yanıt olarak biriken bu moleküller, prolin (Xiong vd., 2012), ısı şok proteinleri (*HSP*) (Vierling vd., 1991; Lipiec vd., 2013), dehidrinler, geç embriyogenez bol (*LEA*) proteinleri (Banerjee vd., 2016), betain ve glisin (Sakamoto vd., 2002; Chen vd., 2011) inositol, absisik asit etilen (Xiong vd., 2012; Finkelstein vd., 2013) ve jasmonat (Zhao vd., 2014) olabilir. Hücresel düzeyde bitki hücre bütünlüğü, hücrelerin protein bileşimini ve zar akışkanlığını koruyan kontrol mekanizması tarafından korunmaktadır (Bohnert vd., 1995). Ani çevresel değişiklikler bitkilerde farklı adaptasyon mekanizmalarını tetiklemektedir. Bu mekanizmaların tümü etkili olmasına rağmen metabolik yolları birbirinden farklıdır. Bitkilerde en sık görülen çevresel veya abiyotik stresler tuz, soğuk, kuraklık ve ağır metallerdir (Kue Foka vd., 2020). Tüm bu abiyotik stres faktörleri, yukarıda listelenen biyomoleküllerin spesifik bir birikimi ile karakterize edilen birkaç moleküler sinyal yolunun aktivasyonuna sahiptir (Juszczak vd., 2017). Bu yollar arasında, itici güç olarak PA'ya sahip olan lipid sinyal yolu, çevresel streslere karşı bitki direnci konusunda ümitvar olarak diğerlerinden ayrılmaktadır. Bitkilerde abiyotik strese karşı mücadelede PA molekülünün önemi günümüzde birçok çalışma ile desteklendiği, bununla birlikte katalizleyen DGK enzimleri ile yakın ilişkisi derinlemesine çalışılmadığı belirtilmiştir (Kue Foka vd., 2020). Ek olarak, DGK yolu ile PA üretiminin, bitkilerde abiyotik strese yanıt veren reaksiyon sırasında en hızlı ve en verimli jeneratör yolu olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, son çalışmalar *DGK*

genlerinin rolü ve bitki abiyotik stres tepkilerindeki mekanizmaları ile ilgilenmektedir.

2.4.1.1 Tuz Stresinde DGK

Toprak tuzluluğu bitkilerde farklı reaksiyonları tetikleyebilmekte ve ürün verimini önemli ölçüde azaltan ciddi bir çevresel stres kaynağı olarak nitelendirilmektedir (Kue Foka vd., 2020). Bitkilerin tuzlu su ve ozmotik streslere yanıt olarak kullandıkları geçici yöntemler arasında prolin birikimi önemli olarak görülmektedir. Tuz stresi altında klorofil seviyelerini, hücre turgorunu ve fotosentetik aktivitelerini korumak için yaprakların daha fazla prolin biriktirdiği öne sürülmüştür (Reddy vd., 2015). Tuz stresi tepkisi sırasında bitki yapraklarında prolin birikiminin en fazla olduğu, GA₃ ve ABA seviyelerini düşüğü ve endojen jasmonat (JA) ve salisilik asit (SA) birikiminin arttığı bildirilmiştir (Meringer vd., 2016). Tuzluluğa yanıt olarak, bitkiler ayrıca DGK enzimlerinin katalitik aktivitesi yoluyla PA üretimini tetikleyen PLD ve PLC aracılığıyla PA birikimlerini de artırabildiği belirtilmiştir (Kue Foka vd., 2020). Tuz stresi durumunda prolin birikiminde temel rol oynayabilecek olan PA, PLD ve DGK aktivitesinin birleşik eylemiyle üretilebilmektedir (Meringer vd., 2012). DGK-inhibitörleri ve 1-butanol kullanılarak hem DGK hem de PLD inhibisyonunun tuzlu su ve ozmotik stres faktörleri sırasında bitkilerdeki prolin seviyelerini ayarlayabileceğini öne sürmüştür (Kue Foka vd., 2020). Aynı zamanda, DGK inhibitörleri prolin birikimini durdurduğundan, DGK aktivitesi yoluyla oluşturulan PA havuzu, prolin sentezine ve birikimine atanabilmektedir (Meringer vd., 2012; Villasuso vd., 2013). Bu çalışmalar, bitkilerin tuz stresi tepkilerinde DGK aktivitesi ile prolin birikimi arasında var olan doğrudan etkileşimleri açıkça göstermektedir. Ayrıca, Darwish vd. (2009), en hızlı ve en geçici PA birikiminin çeltik yapraklarındaki tuz stresi uygulaması sırasında DGK aktivitesi yoluyla üretildiğini ve PLC/DGK yolunun daha önceki bitki stres tepkilerindeki ana rolünün altını çizdiğini göstermiştir. Diğer taraftan, DGK genlerinin bitki kök gelişimindeki rolü McLoughlin vd. (2012; 2013) farklı çalışmalar ile aydınlatılmış ve DGK'nin PA oluşumundaki katalitik rolü, serine/threonine kinazların (SNRK2) aktivasyonuna yol açtığı, ayrıca abiyotik streslere karşı bitki tepkilerinde ve absisik aside (ABA) bağımlı tepkide de rol oynadığı belirtilmiştir. SNRK2, tuzlu koşullar altında bitki kök mimarisinin korunmasında en kritik aktif elementlerden biri olmaya devam ettiği belirtilmiştir (Kue Foka vd., 2020).

Bitkilerde tuz stresi sırasında, tuz alımını, işlevli dokuları ve lipid sinyalleşmesini düzenleyen önemli mekanizmalar hakkında çeşitli çalışmalar yürütülmüştür (Hasegawa vd., 2000; Munns vd., 2005; Ashraf vd., 2009; Agarwal vd., 2013). Tuz stresi reaksiyonları sırasında, hücrelerin iyon homeostazı dengesizleştiği ve plazma zarı boyunca iyon geçişinin kontrolünün bozulduğu bildirilmiştir. Bu iyonik dengesizlik, bitki hücresel mimarisinde iki önemli faktör olan redoks homeostazını ve hücresel enerji depolamasını da etkilemektedir (Baena-González vd., 2007; Jaspers ve Kangasjärvi, 2010; Miller vd., 2010; Zhu vd., 2010). Çeltik yapraklarında, tuz muamelesi sırasında PA oluşumunun temel olarak deneysel koşullar altında DGK aktiviteleri tarafından tetiklendiği öne sürülmüştür (Darwish vd., 2009). Çeltikte tuz stresi uygulamasında *DGK* gen ekspresyonlarının susturulması, bazı önemli transkripsiyonel faktörlerin önemli ölçüde baskılandığını ortaya çıkarmıştır. Tuz stresi altında çeltikte *OsCIPK15*'te gen ifade düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, DGK enzimlerinin çeşitli sinyal yolları aracılığıyla abiyotik stresleri düzenleyebileceğini göstermektedir (Ge vd., 2012). Elma bitkisinde 100mM tuz stresi uygulamasında en fazla ifade düzeyi *MdDGK7* geninde bitkinin gövde dokusunda (3. saat) tespit edilirken, bu değeri *MdDGK8* geninin (6. saat) kök dokusundaki ifade düzeyi takip etmiştir (Li vd., 2015). Mısır bitkisinde 200mM tuz stresi altında (24. saatte) en fazla *ZmDGK5* geninin pozitif yönde eksprese olduğu belirlenmiştir. *ZmDGK3* geni ise 6. saatte en düşük negatif yönde ifade düzeyine sahip olmuştur (Gu vd., 2018). Soya bitkisinde *GmDGK* genlerinin farklı stress koşullarındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmada, 110Mm tuz uygulaması yapılmış olup *GmDGK2* dışındaki tüm *GmDGK* genleri bitkinin kök dokusunda 9. ve 12. saatlerde yukarı yönlü eksprese olmuştur. Sadece *GmDGK10* geninin 6. saatte 5.3 katlık bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Diğer taraftan yaprak dokusunda, küme III'de yer alan *GmDGK8* ve *GmDGK9* genlerinin tuz uygulamasından bir saat sonra sırasıyla 6.6 ve 9.8 katlık yukarı yönlü eksprese olduğu belirlenmiştir. Çeşitli bitki türlerinde yapılan çalışmalar, *DGK* genlerinin farklı dozlardaki tuz uygulamalarında ifade düzeylerinin değiştiğini göstermektedir. Önceki çalışmalardan elde edilen bulgular *DGK* genlerinin çeşitli sinyal yolları aracılığıyla fasulye bitkisinde de strese karşı olan savunmada rol oynayabileceğini göstermektedir.

2.4.1.2 Soğuk Stresinde DGK

Bitkiler değişen çevresel faktörlerin üstesinden gelmek için metabolik, moleküler ve fizyolojik adaptasyonlara dahil olan çeşitli sinyal yollarını kullanmaktadır (Thomashow, 1999; Fowler ve Thomashow, 2002; Kue Foka vd., 2020). Bitkilerin düşük sıcaklıklara adaptif tepkilerinin mekanizması birçok çalışma ile belirlenmeye çalışılmış olup soğuk stres tepkilerinde en çok çalışılan model bitkinin *Arabidopsis thaliana* olduğu bildirilmiştir (Van Buskirk ve Thomashow, 2006). Bitkilerde soğuk stresine karşı indüklenen reaksiyonlar, genellikle çeşitli bitki düzenleyici faktörlerin (NO, ROS, MPK) üretimi ile ilişkilidir (Lv vd., 2018; Amir vd., 2019). Bununla birlikte, COR (soğuğa duyarlı) genlerin ekspresyonu hemen uyarılarak soğuğa ve diğer çevresel sinyallere yanıt olarak bitki fizyolojik değişiklikleri başlatılmaktadır (Kue Foka vd., 2020). En hızlı PA üretimi, PtdInsP'nin PtdIns(4,5)P₂'ye fosforilasyonundan kaynaklanmakta, Ins(1,4,5)P₃ ve DAG da aynı süreçten üretilmektedir. Bu nedenle, soğuk stresine yanıt olarak, DGK genleri, DAG'nin fosforilasyonundan PA üretmek için ATP'yi kullanmaktadır (Xiong vd., 2002). PLC/DGK yolunun *Arabidopsis* hücre süspansiyonunda soğuk şok uyarıları tarafından aktive edildiği, *AtDGK1* ve *AtDGK2*'nin soğuk stresine karşı yukarı yönde ifade düzeyine sahip olduğu belirtilmiştir (Hirayama vd., 1995; Li vd., 2004; Lee vd., 2005). ROS, NO ve MPK element mobilizasyonlarının yanı sıra, ABA birikimiyle de bitkilerin soğuğa alışması tetiklenebildiği, ancak yetersiz veya bozulmuş ABA biyosentezinin, bitkinin soğuk stresine karşı etkinliğini azaltabileceğini belirtmişlerdir (Gilmour ve Thomashow, 1991). Bununla birlikte, bitki hücrelerindeki ABA birikiminin, Ca²⁺ akışındaki ayarlamayı iyileştirebileceği ve koruma hücrelerinde absisik asit sinyal iletimi sırasında spesifik mekanizmaları etkileyebileceği bildirilmiştir. Mısırdaki DGK genleri (*ZmDGK1* ve *ZmDGK3*) ile ABA biyosentezi arasındaki interaksyonlar Daszkowska-Golec (2016) tarafından belirlenmiştir. Bu etkileşim, ABA'yı bitki soğuk stres tepki mekanizmalarında yer alan potansiyel bir düzenleyici olarak göstermiştir (Huang vd., 2017). *Arabidopsis*'in soğuk stres tepkisi üzerine yapılan son çalışmalar, DGK genlerinin bitkilerin soğuğa tepki mekanizmalarında rol oynadığını açıkça göstermiştir (Xu vd., 2012; Chen vd., 2015). Birkaç DGK izoformunun, düşük sıcaklıklara karşı bitki tepkilerinde DAG'ı PA'ya dönüştürmek için programlanmasının muhtemel olduğu belirtilmiştir (Kue Foka vd., 2020). PA üretiminin çeşitli DGK tekli mutantlarında ciddi şekilde

etkilenmediğini ve soğuk yanıtlarındaki rolleri ile ilgili yeterli genetik kanıtın bulunmadığını bildirilmiştir (Arisz vd., 2009; 2013). *Arabidopsis* hücre süspansiyonlarında hem PLD hem de PLC/DGK'nın soğuk stres kaynaklı uyarımı ve ayrı DGK gen kümelerinin ifadesi, DGK genlerinin bitki soğuk stres tepkilerine karşı önemli bir konumda olduğunu ortaya çıkarmıştır (Vergnolle vd., 2005). *AtDGK2* geni, yapraklar, kökler ve çiçekler dahil olmak üzere *Arabidopsis* bitkisinin çeşitli dokularında eksprese edildiği ve bu genin bitkilerin düşük sıcaklığa (4 °C) maruz bırakılarak indüklendiğini ve soğuk sinyal iletiminde bir rolü olduğu belirlenmiştir (Gomez-Merino vd., 2004). Soğuk stresine yanıt olarak mısır köklerinde ve yapraklarında 30 dakika içinde *ZmDGK1*, *ZmDGK2* ve *ZmDGK3* genlerinin ekspresyonlarının pozitif yönde eksprese olduğu bildirilmiştir (Sui vd., 2008). Mısır bitkisi ile yürütülen diğer bir çalışmada 4 °C'deki soğuk uygulamasında, 7 *ZmDGK* geninin tamamı, 12 saatlik düşük sıcaklık işleminden sonra önemli ölçüde indüklenmiş, *ZmDGK2* ve *ZmDGK5*'in sırasıyla 3.8 kat ve 4.1 kat yukarı yönde ifade düzeyine sahip olduğu belirlenmiştir (Gu vd., 2018).

2.5 Fasulye'de Yürütülmüş Bazı Fonksiyonel Genomik Çalışmalar

Fonksiyonel genomik (FG), eksprese edilen genleri, metabolitleri ve spesifik özelliklerle ilgili proteinleri sınıflandırarak moleküler bitki ıslahı için oldukça önemlidir (Libault ve Dickstein, 2014). FG, ürün gelişimini düzenleyen genleri, abiyotik/biyotik stres faktörlerine direnci, verimi ve baklagillerin ekonomik önemini etkileyen çok sayıda farklı bileşeni tanımlamaya yardımcı olmaktadır. Bir hücrenin transkriptom seti içerdiği düşünülürse, transkriptomu anlamının genomun işlevsel öğelerini yorumlanması bakımından oldukça önemli olduğu belirtilmiştir (Nadeem vd., 2021). Transkriptomik, temel olarak genlerin transkripsiyonel yapısını, çeşitli koşullar nedeniyle her transkriptteki değişiklikleri araştırmak için uygulanmaktadır. Transkriptomu belirlemek ve ölçmek için çeşitli bitkilerde farklı teknikler geliştirilmiş ve uygulanmıştır (Wang vd., 2009). Çeşitli baklagil bitkilerinin de yer aldığı cDNA kütüphanelerinin oluşturulması için birçok araştırma yapılmıştır (Vodkin vd., 2004; Asamizu vd., 2004; Cheung vd., 2006; Blair vd., 2011). Tüm bitki türleri için şu anda mevcut olan eksprese edilmiş dizi etiketi (EST) sayısının 21 milyondan fazla olduğunu belirtilmiştir (Nadeem vd., 2021). Fasulye için EST'lerin geliştirilmesinin, CIAT-Kolombiya, UNESP-Brezilya ve UNAM-Meksika kuruluşları tarafından başladığı bildirilmiştir (Melotto

vd., 2005; Ramirez vd., 2005; Blair vd., 2009). Ramirez vd. (2005) tarafından yürütülen çalışmada, Negro Jamapa 81 (Mezoamerikan genotipi) fasulye genotipinde, fosfor eksikliği olan kökler, nitrojen fikse eden kök nodülleri, yapraklar ve bakla için beş farklı cDNA kütüphanesinden toplam 21,026 EST elde edilmiştir. Bu diziler, bitki gelişimi/hücre döngüsü, metabolizma, çevresel interaksyon ve bilinmeyen işlev gibi dört ana bölüme ayrılmış ve çeşitli streslere adaptasyonların anlaşılmasında büyük bir rol oynamıştır (Bellucci vd., 2014). Melotto vd. (2005) çalışmasında antraknoza dirençli fasulye ıslah hattı SEL 1308'i kullanmış ve cDNA kütüphaneleri (PVEPLE1, PVEPSE2 ve PVEPSE3) oluşturmuştur. Tian vd. (2007) fosfor eksikliği ile ilgili genleri sınıflandırmak için düşük fosfor koşullarına iyi adapte olan G19833 çeşidini kullanarak cDNA kütüphanesini oluşturmuştur. Diferansiyel olarak eksprese edilen genler sinyalleme-transkripsiyon, taşıyıcı-kanal, stres-savunma, karbon metabolizması ve diğer metabolizma olarak beş kategoriye ayrılmıştır. McClean vd. (2010) genomdaki bitişik dizileri belirlemek için mevcut tüm EST dizilerini kullanmıştır. Araştırma sonucunda, soya fasulyesi genomunda dublike genler varken, çoğu genin fasulyede yalnızca bir kopyasının olduğu tespit edilmiştir. McConnell vd. (2010) genomdaki SNP'leri ve InDel yoğunluğunu karakterize etmek için yeni dizi bazlı kaynaklar kullanmıştır. Blair vd. (2011), EST'leri geliştirmek için tam uzunlukta cDNA teknolojisini kullanan bir çalışma yürütmüştür. BAT477 ve G19833 genotiplerini kullanarak düşük toprak fosforu, kuraklık ve yüksek toprak alüminyum toksisitesi gibi çeşitli koşullarda ifade edilen genle ilgili ilişkili kütüphaneyi oluşturmuşlardır. Başka bir genomik veri seti, Kalavacharla vd. (2011) tarafından Roche 454-FLX pyrosequencing platformunu kullanarak farklı bitki dokularından (yaprak, çiçek, bakla ve kök) birçok cDNA kütüphanesi elde edilmiştir. Fasulyenin EST dizileri, genom çapında transkript çalışmalarının temelini oluşturmaktadır. Bağlantı gruplarını haritalamak için kurulmuş moleküler işaretlerin kaynakları olduğu bildirilmiştir. cDNA teknolojisinin, transkriptomun dizilenmesi, gen açıklamaları ve agronomik olarak genetik temelin tanımlanmasında oldukça işlevsel olduğu belirtilmiştir. Wu vd. (2017), transkripsiyon faktörlerin (TF'ler) abiyotik ve biyotik stres tepkileri sırasında genlerin ekspresyonunu ve sinyal iletimini senkronize eden önemli genler olduğu bildirmiştir. TF'lerin stresle ilişkili genlerin düzenlenmesindeki önemi nedeniyle, son yıllarda bitki TF'leri üzerine araştırmalar hızla artmaktadır. Bu amaç

doğrultusunda fasulyede farklı TF'lerin tanımlanması ve bu genlerin biyotik ve abiyotik stres koşulları altında ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Örneğin, Hernández vd. (2007) 372 fasulye TF geninin tanımlandığını bildirmiştir. Apetala2-ethylene-responsive element binding factor (*AP2-ERF*) gen ailesi, Kavas vd. (2015) tarafından tanımlanmış ve tuz stresi uygulanmış yaprak/kök dokularında 9 *PvAP2-ERFs* geninin ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. Benzer şekilde Kavas vd. (2016), biyoinformatik yöntemler ile 155 *bHLH* (basic helix-loop-helix) genini sınıflandırmış ve kök/yaprak dokularında tuz stresine karşı 16 *PvbHLH* geninin ekspresyon seviyelerini araştırmıştır. Büyük vd. (2016), yaprak/kök dokularında toplam 24 *HSP70* (heat shock protein 70) genini araştırmıştır. Wu vd. (2016) tarafından toplam 86 *NAC* (*NAM*, *ATAF1/2* ve *CUC2*) geni tanımlanmıştır. 22 *NAC* geninin ekspresyon düzeylerinin kuraklık stresi koşulları altında değiştiği kaydedilmiştir. Diğer önemli TF geni olan *C2C2-YABBY*, İnal vd. (2017) tarafından tanımlanmıştır. Tuz stresi koşullarında Zülbiye (duyarlı) ve Yakutiye (toleranslı) fasulye çeşitlerinin kullanarak *C2C2-YABBY* genlerinin gen ekspresyon seviyelerini incelemişlerdir. *WRKY* gen ailesi ile ilgili olarak 88 *WRKY* geni rapor edilmiş ve kuraklık stresi altında 19 *WRKY* geninin yanıtı belirlenmiştir (Wu vd., 2017). Diğer önemli TF olan *SBP* (*SQUAMOSA* promoter binding protein family) genleri (İlhan, 2018) tarafından tanımlanmıştır. Kök, yaprak ve çiçek organlarındaki *Phvul-SBP* genlerinden bazılarının yukarı veya aşağı regüle edildiği tespit edilmiştir. Büyük vd. (2019a) fasulyede 42 *PvDOF* geni tanımlamış ve tuz stresi altında *PvDOF* genlerinden 9'unun ekspresyon seviyelerinin farklı dokularda yukarı veya aşağı regüle edildiğini belirlemiştir. Büyük vd., (2019b) fasulyede *CAMTA* (The calmodulin-binding transcriptional activator) gen ailesini belirlemiş ve tuz stresine direnç sağlayan bazı potansiyel genleri bulmak için genlerin ekspresyon seviyelerini araştırmıştır. Fasulyede abiyotik stress toleransı ile ilişkili *DREB* genleri Konzen vd. (2019) tarafından tanımlanmış ve abiyotik stres faktörleri (kuraklık (PEG % 10), tuz (NaCl 200 Mm), soğuk stresi (4 °C) ve absisik asit (100 µM)) altında farklı fasulye genotiplerindeki (BAT93, Jalo EEP558, BAT 477, RAB 96, Carioca 80SH) *PvDREB1F*, *PvDREB2A*, *PvDREB5A* ve *PvDREB6B* genlerinin ifade düzeylerini araştırmışlardır. *PvDREB2A* geninin kuraklık stresinde gövdede yoğunlaştığı, *PvDREB6B* geninin soğuk stresi altında yaprakta bulunduğu bildirilmiştir. Çalışmada soğuk stresinde her genotipin ifade düzeylerinin farklılık gösterdiği,

genotiplerin farklı mekanizmalarının gen ekspresyonunu belirleyebileceği ve her bir genotipin özelliklerini aydınlatmak için daha fazla incelemenin yapılması gerektiği belirtilmiştir. SHI-Related Sequence (SRS) gen ailesi Büyük vd., (2021) tarafından fasulyede tanımlanmış ve karakterize edilmiştir. *PvulSRS-1*, 2, 4, 6 ve 10 genlerinin tuz stresi altındaki ifade düzeyleri tespit edilmiştir. *Pvul-SRS-1*, *Pvul-SRS-4* ve *Pvul-SRS-10* genlerinin ifade düzeyi Zülbiye çeşidinde kontrol grubuna göre önemli artışlar göstermiştir. Diğer taraftan, Yakutiye çeşidinde *Pvul-SRS-1* ve *Pvul-SRS-4* genlerinin mRNA seviyeleri kontrol seviyeleri ile aynı kalırken *Pvul-SRS-10* geninin ifade düzeyi azalmıştır.

2.6 Fasulye’de Soğuk Stresi ile İlgili Çeşitli Çalışmalar

Düşük sıcaklık stresi, soğuk ve don olmak üzere iki farklı ancak birbiri ile ilişkili bir terim olduğu bildirilmiştir (De Ron vd., 2019). Donma sıcaklığının 0 °C'nin altında, soğuk sıcaklığının ise 0-15 °C aralığında olduğu belirtilmiştir. Her iki stress sıcaklığının metabolik etkileri arasında bazı ortak noktalar olsa da, fizyolojik etkilerinin farklı olduğu, ancak bitki fonksiyonları üzerinde son derece zararlı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Thomashow, 1999). Bitkilerin düşük sıcaklıklara karşı duyarlılıkları tarımsal-çevresel dağılımı ile büyük ölçüde ilişkilidir (De Ron vd., 2019). Bunlar arasında en göze çarpan özellik su tutma kapasitesinin azalmasından kaynaklanan hava organlarının solmasıdır. Ayrıca, uzun süre düşük sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde yaprak rengi kayıplarının görülebilmektedir (Lukatkin vd., 2012). Bununla birlikte, programlanmış hücre ölümünün başlatılmasını ve düzenlenmesini destekleyen süreçlerin henüz tam olarak anlaşılmadığı Van Durme ve Nowack (2016) tarafından bildirilmiştir.

Günümüzde baklagil kullanımının kanıtlanmış birçok faydalarına rağmen, verim artışlarının hububat mahsullerine yeterli olmadığı görülmektedir. Baklagil üretimindeki küresel artışların üründeki yüksek ve stabil verimlilikten ziyade artan arazi kullanımının bir sonucu olduğu belirtilmiştir (Foyer vd., 2016). Baklagil bitkileri, iklim değişikliği ve beslenme talebi gibi çeşitli zorluklara iyi uyum sağlaması bakımından ön plana çıkmaktadır. Bu sebeple stres koşulları altında baklagillerin hayatta kalmasının ve üretkenliğinin artırılmasına özel olarak odaklanılmasa ve baklagil biyolojisi üzerine daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir (Foyer vd., 2016). Özellikle düşük sıcaklıkların, küresel baklagil verimleri üzerinde önemli bir kısıtlama oluşturduğu ve beslenme açısından önemli olan bu baklagiller üzerinde daha fazla çalışılmasının gerektiği

bildirilmiştir. Düşük sıcaklık stresi, her kıtada tarımsal verimliliği etkileyen bir olgudur (De Ron vd., 2019). Amerika Birleşik Devletleri'nde, ürün verimliliğindeki azalmanın tahminen % 25 'inin düşük sıcaklıklardan kaynaklandığı belirtilmiştir (Boyer 1982). Avrupa'da şiddetli soğuk stresinin bakla (*Vicia faba*) ve nohut (*Cicer arietinum*) gibi baklagillerin kışı geçirmesini sınırlandırdığı, bu nedenle düşük sıcaklık stresine toleranslı baklagil bitkilerinin geliştirilmesinin, gıda güvenliğinin korunması için kritik öneme sahip olduğu bildirilmiştir (Link vd., 2010). Bitkilerin fide dönemi ve tohum oluşumu sırasında özellikle yüksek olan duyarlılıklarına ek olarak, gelişimin tüm aşamalarında soğuk stresine karşı hassas olduğu vurgulanmıştır (De Ron vd., 2019). Bununla birlikte bitkiler düşük sıcaklık stresine karşı çok sayıda strateji geliştirmişlerdir. Düşük sıcaklık toleransını destekleyen genetik ve biyokimyasal faktörler tahıllarda kapsamlı bir şekilde tanımlanmış olsa da (Winfield vd., 2010), baklagillerde düşük sıcaklık toleransı mekanizmaları hakkında sınırlı araştırma yapılmıştır.

Fasulye bitkisinin erken fide döneminde üretimi sınırlayabilecek düşük sıcaklıklara karşı oldukça duyarlı olduğu bildirilmiştir. Dickson ve Boettger (1984), genotiplerin düşük sıcaklıklara tolerans durumlarının araştırmışlardır. Meyer ve Badaruddin (2001), tek yapraklı ve ilk üç yapraklı yaprak aşamalarında fasulyenin donma sıcaklıklarına duyarlı olduğunu bildirmiştir. -3,25 °C'de fasulyenin yaklaşık % 50 'sinin öldüğünü, hayatta kalanların da yeniden büyümesinin sınırlı olduğu belirlenmiştir. Balasubramanian vd. (2004), kültüre alınmış ve yabani *Phaseolus* türlerini içeren bir genetik kaynak içerisinden düşük sıcaklıklara toleranslı bazı adaylar belirlemişlerdir. Çalışmada en kayda değer olan, kontrollü büyüme odalarında ve tarlada düşük ve hatta ılıman sıfırın altındaki sıcaklıklara (-2 ile -3 °C) dayanabilen *Phaseolus angustissimus* yabani türünden PI 535272 genotipi olmuştur. Rodino vd. (2007), soğuk stresinde çimlenme, çıkış ve büyüme yeteneği gösteren yedi *P. coccineus* çeşidi bildirmiştir. Chen vd. (2009) prolin biyosentezinde yer alan bir enzim olan *PvP5CS*'nin (D1-pirolin-5-karboksilat sentetaz) kuraklık, soğuk (4 °C) ve tuz (200 mM NaCl) stresleri ile muamele edilmiş fasulyedeki ifade modelleri gerçek zamanlı kantitatif PCR kullanılarak incelenmiştir. Bu abiyotik stresler, yapraklarda *PvP5CS* ekspresyonunun önemli ölçüde yukarı regülasyonuna neden olmuşlardır. *PvP5CS* mRNA transkripti, 4 günlük kuraklık stresinden sonra kontrol seviyesinin 2,5 katına yükselmiştir. Tuz stresi uygulamasından 2 saat sonra kontrolün yaklaşık 16,3 katına kadar hızlı bir

PvP5CS yukarı regülasyonu gözlemlenmiştir. 2 saatlik soğuk stresinden sonra *PvP5CS* ifadesinde (11,7 kat) önemli artış tespit edilmiştir. Prolin birikiminin en yüksek olduğu zamanların, kuraklık için 8. gün, soğuk için 24. saat ve tuz stresi için 9. saat olduğu bildirilmiştir. Verslues vd. (2006), bitkilerde prolin birikiminin sadece hücre potansiyelini arttırmakla kalmadığını, aynı zamanda proteinleri, zarları ve hücre altı yapıları stabilize ettiğini bildirmiştir. Woronuk vd. (2010), düşük sıcaklıkta *P. vulgaris* ve *P. angustissimus*'ta gen ekspresyon seviyesini karşılaştırmak için makrodizi ve qRT-PCR yöntemi kullanmışlardır. *P. vulgaris*'te aşağı regüle, *P. angustissimus*'ta da yukarı regüle edilecek monooksijenazların sitokrom *P450* süper ailesine ait *CYP72A14* genini bulmuşlardır. İki fasulye türünün de soğuk stresinde farklı tepkiler verdiğini belirlemişlerdir. Makrodizi deneyleri, *P. vulgaris*'in, soğuk stresine maruz kaldığında çok sayıda genin ekspresyon seviyelerinde homeostazı sürdürmekte başarısız olduğunu belirlemiştir. Ayrıca, düşük sıcaklıklarda canlılığa katkıda bulunan birçok genin aşağı regüle olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan, *P. angustissimus* türündeki genlerin ekspresyon seviyelerinin homeostazı korumada *P. vulgaris*'e göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu çalışma, potansiyel olarak çok önemli stresle ilişkili fonksiyonlara sahip belirli spesifik genlerin, strese dayanıklı ve duyarlı *Phaseolus* türlerinde ters şekilde düzenlendiğini, diğer genlerin ise uyarılma zamanlamalarında farklılıklar sergilediğini ortaya koymuştur. Soğuk stresi altında *P450* gen ailesi, *Arabidopsis* spp.'de abiyotik strese karşı bitki tepkilerinde yer almıştır.

Ülkemizde soğuk stresi ile ilgili yürütülmüş sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Örneğin; Elkoca ve Kantar (2004), tarla şartlarında kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotipleri ile Erzurum şartlarında yürüttükleri çalışmada çimlenme ve fide döneminde soğuğa ve dona toleranslı genotipleri belirlemişlerdir. Kantar vd. (2018)'nin yürüttükleri projede ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesi'nden toplanmış 826 fasulye genotipini fide döneminde soğuk (+5 °C) testine tabi tutarak soğuğa karşı tepki düzeylerini nisbi elektrolit sızıntı testi, yaprak rengi ölçümleri, doğrudan klorofil ölçümleri ve görsel olarak değerlendirme kriterlerini kullanarak belirlemişlerdir. Toleranslı ve hassas genotiplerde arazi çalışması yürütülmüş, stres geni olan *PHAVU_005G063200* ile genotiplerin ifade düzeyleri araştırılmıştır. Genotip 329'da, *PHAVU_005G063200* geninin vejetatif ve generatif evrelerdeki ifade düzeyinde artış görülmüş ve arazi denemelerini desteklemiştir. Benzer

şekilde, arazi denemeleri sonucu soğuğa karşı toleranslı olduğu belirlenen HK-26 genotipinde de *PHAVU_005G063200* geninin ifade düzeyinde 3 kat artış tespit edilmiştir. Ülkemizdeki çalışmalara ek olarak soğuk stresi ile ilgili fasulyede son zamanlarda farklı araştırmacılar tarafından çeşitli çalışmalar yürütülmüştür. Örneğin; Liu vd. (2019), soğuğa toleranslı '120' ve hassas '093' kendilenmiş fasulye hatlarına 4 °C'de 3 gün düşük sıcaklık uygulaması gerçekleştirmişler ve transkriptomları analiz etmişlerdir. Transkriptomlar kontrol koşullarında yetiştirilen bitkilerin transkriptomları ile karşılaştırılmıştır. RNA-seq analizi, çok sayıda TF'nin fasulyede düşük sıcaklıkla düzenlendiğini ve temsil edilen TF ailelerinin *MYB*, *NAC* (*NAM*, *ATAF* ve *CUC*), *WRKY* ve *HSF* vb. TF'leri içerdiğini ortaya koymuştur. 29 TF geninin her iki fasulye hattında eksprese olduğu belirtmiştir. Eksprese olan genlerin analiz sonuçları, *P. vulgaris*'teki düşük sıcaklık stres tepkisinin CBF yoluna bağlı olmayabileceğini, ancak Ca^{2+} , ROS ve hormonların fasulyenin düşük sıcaklık stresine tepkisinde önemli bir rol oynadığı açıklamıştır. Çalışma sonuçları, kuru fasulyedeki düşük sıcaklık tepkisinin moleküler temelini anlaşılmaya olanak sağlamıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmada, TOVAG 115R042 nolu (Ulusal Kuru Fasulye Gen Kaynaklarından Yüksek Verimli ve Antraknoz (*Colletotrichum lindemuthianum*) Hastalığına Dayanıklı Islah Materyallerinin Geliştirilmesi) Projeden elde edilen 54 kuru fasulye genotipi, TOVAG 114O806 nolu projeden (Fasulye (*Phaseolus* sp.) Gen Kaynaklarının Hücre ve Bitki Seviyesinde Soğuk Stresine Tolerans Açısından Fenotiplenmesi) temin edilen 5 ileri fasulye genotipi ve standart kuru fasulye çeşitlerinden Zülbiye ve Yakutiye olmak üzere toplam 61 fasulye genetik kaynağı materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmada materyal olarak kullanılan genotip ve çeşitlere ait pasaport bilgileri Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan fasulye genetik kaynaklarının pasaport bilgileri.

Genotip/Çeşit	İl	İlçe	Köy	Yükseklik	Koordinat	Tohum Resmi
YLV-9	Yalova	Çiftlikköy	Burhaniye	511m	40°34’25’’/29°25’02’’	
YLV-14	Yalova	Çiftlikköy	Kabaklı	125m	40°39’30’’/29°24’36’’	
YLV-16	Yalova	Çınarcık	Çalica	61m	40°38’12’’/29°09’18’’	
YLV-20	Yalova	Çınarcık	Ortaburun	688m	40°37’04’’/29°09’00’’	
YLV-22	Yalova	Merkez	Kurtköy	362m	40°34’34’’/29°13’23’’	
YLV-23	Yalova	Merkez	Kurtköy	362m	40°34’34’’/29°13’23’’	
YLV-27	Yalova	Merkez	Kurtköy	362m	40°34’34’’/29°13’23’’	
YLV-28	Yalova	Merkez	Kurtköy	362m	40°34’34’’/29°13’23’’	
YLV-31	Yalova	Merkez	Hacımehmet	70m	40.617°/29.244°	
YLV-32	Yalova	Merkez	Sugören	428m	40.561°/29.329°	
BLKSR-3	Balıkesir	Manyas	Salur Mah.	29m	40°05’51’’/27°56’11’’	
BLKSR-4	Balıkesir	Manyas	Akçaova	30m	40°07’16’’/27°51’18’’	
BLKSR-6	Balıkesir	İvrindi	Ayaklı	403m	39.516°/27.364°	
BLKSR-7	Balıkesir	İvrindi	Ayaklı	403m	39.516°/27.364°	
BLKSR-8	Balıkesir	İvrindi	Ayaklı	403m	39.516°/27.364°	
BLKSR-9	Balıkesir	İvrindi	Ayaklı	403m	39.516°/27.364°	
BLKSR-11	Balıkesir	İvrindi	Korucu	190m	39°35’00’’/27°29’04’’	
BLKSR-16	Balıkesir	Gömeç	Merkez	10m	39°23’28’’/26 50’24’’	
BLKSR-17	Balıkesir	Sındırgı	Kürendere	1051m	39.313°/28.571°	
BLKSR-18	Balıkesir	Sındırgı	Kürendere	1051m	39.313°/28.571°	
BLKSR-21	Balıkesir	Sındırgı	Kürendere	1051m	39.313°/28.571°	
BLKSR-22	Balıkesir	Sındırgı	Kürendere	1051m	39.313°/28.571°	
BLKSR-30	Balıkesir	Sındırgı	Gözeren	960m	39.319°/28.475°	
BRS-3	Bursa	Yenişehir	Osmaniye	377m	40°10’12’’/29°37’14’’	
BRS-4	Bursa	İnegöl	Cerrah	327m	40°04’16’’/29°26’51’’	

Tablo 1. Devam.

Genotip/Çeşit	İl	İlçe	Köy	Yükseklik	Koordinat	Tohum Resmi
BRS-5	Bursa	İnegöl	Cerrah	327m	40°04'16"/29°26'51"	
BRS-8	Bursa	Kestel	Kızılören	435m	40°07'54"/29°21'26"	
BRS-9	Bursa	Kestel	Kızılören	435m	40°07'54"/29°21'26"	
BRS-10	Bursa	Kestel	Kızılören	435m	40°07'54"/29°21'26"	
BRS-14	Bursa	Kestel	Kızılören	435m	40°07'54"/29°21'26"	
BRS-19	Bursa	Kestel	Kızılören	435m	40°07'54"/29°21'26"	
BRS-20	Bursa	Kestel	Kızılören	435m	40°07'54"/29°21'26"	
BRS-21	Bursa	Kestel	Kızılören	435m	40°07'54"/29°21'26"	
BRS-22	Bursa	Kestel	Aksu	360m	40.169°/29.317°	
BRS-23	Bursa	Kestel	Aksu	360m	40.169°/29.317°	
BRS-24	Bursa	Orhaneli	Küçükorhan	487m	39°54'24"/28°59'19"	
BRS-27	Bursa	Yenişehir	Fethiye	377m	40°10'12"/29°37'14"	
DZC-2	Düzce	Merkez	Derdin	859m	40.711°/31.228°	
DZC-3	Düzce	Merkez	Derdin	859m	40.711°/31.228°	
DZC-4	Düzce	Merkez	Derdin	859m	40.711°/31.228°	
DZC-7	Düzce	Merkez	Derdin	859m	40.711°/31.228°	
DZC-9	Düzce	Merkez	Darıca	859m	40°49'18.9"/31°10'26.2"	
BLCK-3	Bilecik	Pazaryeri	Merkez	804m	40°0'5.9" / 29°54'9.6"	
BLCK-4	Bilecik	Pazaryeri	Merkez	876m	39°59'38.6" / 29°54'41"	
BLCK-5	Bilecik	Pazaryeri	Dereköy	876m	39°59'38.6" / 29°54'41"	
BLCK-7	Bilecik	Pazaryeri	Dereköy	876m	39°59'38.6" / 29°54'41"	
ÇNK-1	Çanakkale	Biga	Hacıköy	25m	40.219°/27.247°	
ÇNK-2	Çanakkale	Yenice	Çınarcık	320m	39.95°/27.182°	
ÇNK-4	Çanakkale	Biga	Aşağıdemirci	25m	40.219°/27.247°	
ÇNK-6	Çanakkale	Biga	Gerlengeç	25m	40.219°/27.247°	
ÇNK-7	Çanakkale	Biga	Bahçeli	38m	40°14'40"/27°19'0"	
ÇNK-8	Çanakkale	Bayramiç	Beşik	100m	39.8076875°/26.609207°	
ÇNK-9	Çanakkale	Bayramiç	Beşik	100m	39.8076875°/26.609207°	
ÇNK-10	Çanakkale	Bayramiç	Beşik	100m	39.8076875°/26.609207°	
HK-26	Soğuk stresine toleranslı genotip					
El-37	Soğuk stresine toleranslı genotip					
HK-57	Soğuk stresine toleranslı genotip					
115	Soğuk stresine hassas genotip					
58	Soğuk stresine hassas genotip					
Yakutiye	Tuz stresine toleranslı standart çeşit					
Zülbiye	Tuz stresine hassas standart çeşit					

3.2 Yöntem

Tez çalışması dört bölümden oluşmakta olup yürütülen çalışmalar aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

3.2.1 DGK gen ailesinin fasulye genomu içerisinde tanımlanması

3.2.1.1 Fasulye'de DGK genlerinin belirlenmesi

DGK genlerinin fasulye genomundaki analizi online tarama ile yapılmıştır. *Arabidopsis thaliana* (At), *Glycine max* (Gm), *Oryza sativa* (Os) ve *Malus*

domestica (Md) 'nın DGK gen nükleotit dizileri NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ve Uniprot (<https://www.uniprot.org/>) online platformları aracılığıyla belirlenmiştir. Bu diziler Phytozome v9.1'de (<http://www.phytozome.org/>) BLASTn analizi ile taranmış ve yüksek benzerlik gösteren genlere ait sekans verileri ve gen ID leri kaydedilmiştir. Gen tanımlayıcı "ID"ler NCBI web sitesi (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) tarayıcı aracında anahtar kelime olarak kullanılarak genlerin kromozomlar üzerindeki konumları doğrulanmıştır. Özgün-eşsiz olduğu belirlenen protein ailesi üyelerinin ise DGK domainlerini içerip içermediği HMMER (<http://www.ebi.ac.uk>) ve Pfam (<https://pfam.xfam.org/search/sequence>) veritabanları kullanılarak kontrol edilmiştir. Tanımlanan proteinlerin molekül ağırlıkları, teorik izoelektrik noktaları (*pI*) ve instabilite indeksleri ProtParam Tool (<http://web.expasy.org/protparam>) programı aracılığıyla belirlenmiştir.

3.2.1.2 Fasulye DGK genlerinin çoklu sıra hizalamaları, kromozomlardaki lokalizasyonu ve filogenetik analizi

DGK üyelerinin diğer farklı bitkiler ile ilişkilerinin tespiti için *Arabidopsis thaliana* (At), *Glycine max* (Gm), *Oryza sativa* (Os) ve *Malus domestica* (Md) bitkilerine ait DGK genlerine ait protein dizileri indirilmiştir. Bootstrap testi için 1000 tekrarlamalı ve komşu birleştirme (Neighbor-joining-NJ) metodu kullanılarak tüm protein dizileri MEGA X yazılımı hizalama programında hizalanmış ve filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Kumar vd., 2018). Oluşturulan filogenetik ağaç Microsoft Power Point programında düzenlenmiştir. Tanımlanan tüm DGK genlerinin konumları Phytozome v9.1'den temin edilen bilgiler doğrultusunda MapChart programı kullanılarak kromozomlar üzerinde çizilerek gösterilmiştir (Voorrips, 2002).

3.2.1.3 Fasulye DGK proteinlerindeki ekzon-intron yapıları ve protein motiflerin tanımlanması

Fasulye DGK proteinlerinin ekzon-intronları hakkında bilgi sahibi olmak için Gene Structure Display Server V2.0 (GSDS, <http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>; Hu vd., 2015) kullanılmıştır. DGK genlerinin konum bilgisinin tahmini için hem genom dizileri hemde kodlayan diziler birlikte kullanılmıştır. Phytozome database aracılığıyla kromozomal yerleşimi, büyüklüğü (bp) ve intron sayıları tespit edilmiştir. Fasulye DGK proteinlerindeki korunmuş motifleri tanımlamak için Multiple EM For Motif Elicitation Tool (MEME v4.11.1; <http://meme-suite.org/>) kullanılmıştır (Bailey vd., 2009). Tanımlanan korunmuş motifler InterPro

veritabanında doğrulanmıştır (Quevillon vd., 2005). Fasulye *DGK* genlerindeki fonksiyonel motiflerin şematik diyagramı çizmek için DOG 2.0 yazılım programı kullanılmıştır (Liu vd., 2015; Carther vd., 2019). DNAMAN programında *Arabidopsis* ve fasulye *DGK*'leri hizalanmış ve ATP-bağlanması bölgesi görsel olarak gösterilmiştir.

3.2.1.4 Fasulye *DGK* gen ailesinin hücre altı lokalizasyonları

DGK proteinlerinin hücre altı lokalizasyonları CELLO v.2.5: subCELLular Localization predictor (<http://cello.life.nctu.edu.tw/>) (Yu vd., 2006) online platformu kullanılarak belirlenmiş, oranları da TargetP 1.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP-1.1/index.php>) ile tespit edilmiştir (Emanuelsson vd., 2000).

3.2.1.5 Gen ontoloji analizi

DGK protein dizilerinin fasulye bitkisindeki fonksiyonel ontolojileri Blast2GO (<http://www.blast2go.com>) programı kullanılarak belirlenmiştir. Bu kapsamda, veriler öncelikle BLASTp, ardından haritalama ve ontoloji algoritmaları ile değerlendirilmiş ve proteinlerin moleküler fonksiyonları, hücresel bileşenleri ve biyolojik süreçleri tespit edilmiştir (Conesa vd., 2005).

3.2.1.6 Primer dizaynı ve etkinliklerinin belirlenmesi

Blastn analizleri sonucunda *DGK* ile alakalı olarak düşünülen gen bölgelerinin sekansı Phytozome v9.1 veri tabanlarından alınmış ve qRT-PCR primerleri Primer3 v.0.4.0. kullanılarak dizayn edilmiştir (Untergasser vd., 2012). Primerler T_m 60 ± 1 °C, PCR ampikon büyüklüğü 75 - 150 bp, primer sekans uzunluğu 18–22 nükleotit ve GC oranı % 45 - 65 olacak şekilde planlanmıştır. Çalışmalarda genomik DNA'nın bulaşıklılığını anlamsızlaştırmak için primerlerin tasarlama aşamasında ekzon hibrit bölgeleri seçilmeye çalışılmıştır. Bu kapsamda tasarlanan primerler Tablo 2'de verilmiştir. Bustin vd. (2009) gen ekspresyon analizinde kullanılan referans gen ve primerlerin etkinliğinin belirlenmesinde bir dizi dilüsyon serilerinin oluşturulması ve değerlendirilmesinin, çalışma sonucunun doğruluğunu ve güvenilirliğini artırılması yönünden önermiştir. Bu kapsamda, *DGK* primerlerinin reaksiyon verimliliğinin (PCR efficiency) belirlenmesi için real-time PCR'da çoğaltılan ve çalıştığından emin olunan bir PCR ürününden seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. 10, 1, 0,1, 0,01 seri dilüsyonlarından elde edilen *DGK* primerlerinin standart eğri değerleri, R² ve reaksiyon verimliliği Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 2. qRT-PCR çalışmalarında kullanılan genlerin primerler dizileri ve Phytozome numaraları

Phytozome numarası	Primer isimleri		Sekans
Phvul.003G185800.3	PvDGK01	F	CAGATTCGTGTTGAGGTGGATG
	PvDGK01	R	GCCATGTTCCCGATATGCTTAC
Phvul.002G276700.1	PvDGK02	F	TGACGGGAGAGACATTGAGATT
	PvDGK02	R	GCCATGCTCCACATACACATAC
Phvul.003G149800.1	PvDGK03	F	AAGGAGAGACTCCAGCAACTC
	PvDGK03	R	CATCACCTCCAGCAACCATAAC
Phvul.005G108700.1	PvDGK05a	F	GAACAGATGAACAGTCGGTCAAG
	PvDGK05a	R	GCAAAGAGTGTGGTAGCTCAAG
Phvul.011G110600.1	PvDGK05b	F	CTGGCTTCTTGGAGTTGTTTGT
	PvDGK05b	R	CTGTTGTCGGGTTCTTCTTTCC
Phvul.011G155800.3	PvDGK06	F	GCTGGCTTCTTGGAGTTGTATC
	PvDGK06	R	CTGATTGAAGATCCGTGGTTGG

F: İleri primer, R: Geri primer

Burns vd. (2005), regresyon katsayısının PCR'ın logaritmik artış bölümünün eğimine eşit olmakla birlikte amplifikasyon ürünlerinin etkinliği ile de ilişkili olduğunu bildirmiştir. Optimal qRT-PCR etkinliğin E = 1,60 ile 2,10 arasında olması gerektiği araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Pfaffl vd., 2002; Korkmaz Ağaoğlu ve Sidekli, 2020).

$$y = mx + b$$

m=slope (standart eğrinin eğimi),

b=intercept (kesme noktası = $y_2 - y_1 \div x_2 - x_1$)

Primerlerin reaksiyon verimliliği (PCR Etkinliği);

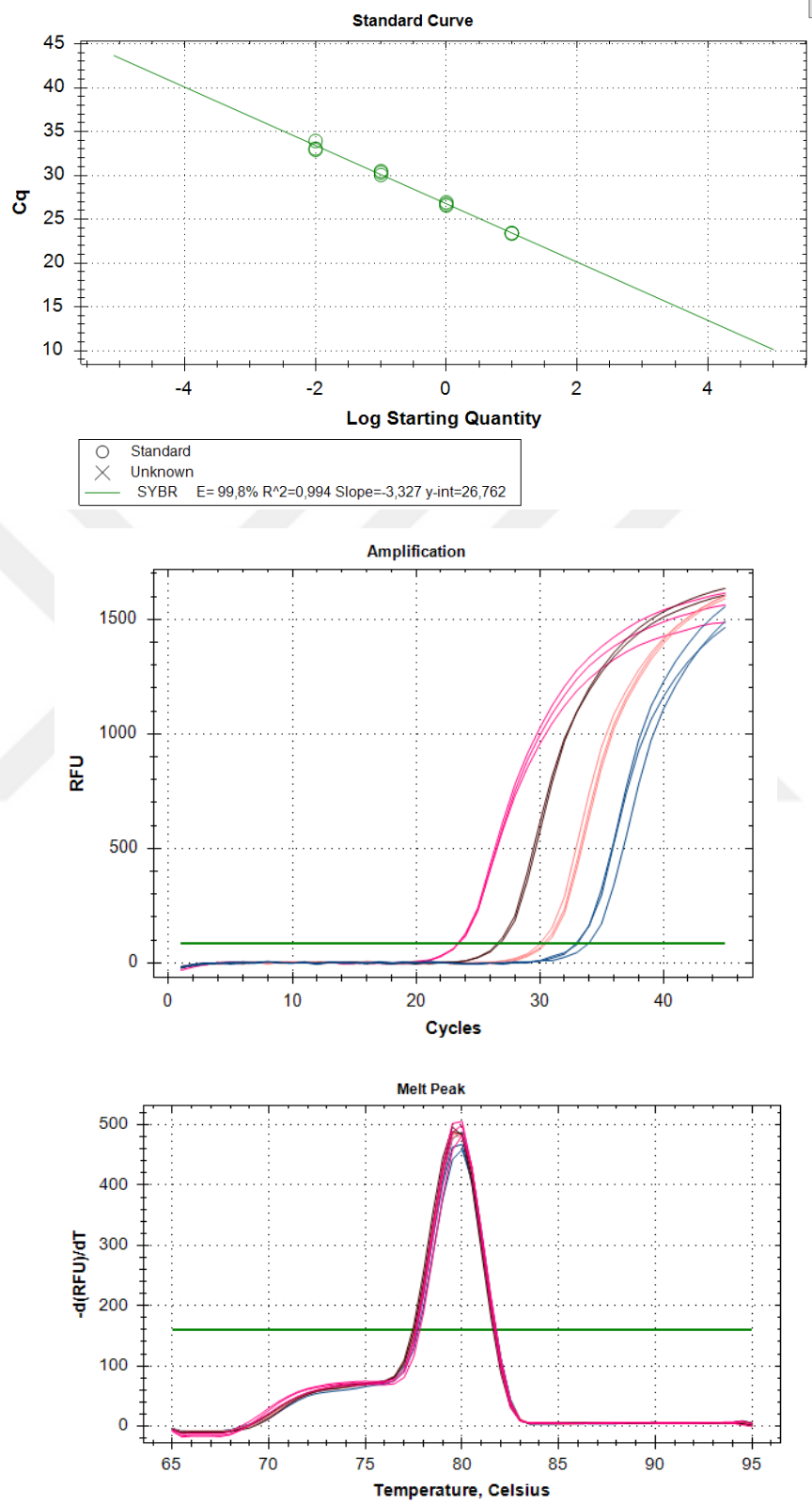
$$E = 10^{(-1/\text{slope})}$$

$$\%E = (E - 1) \times 100$$

Tablo 3. Tasarlanan DGK primerlerinin standart eğri, R² ve reaksiyon verimliliği değerleri

Primers	Regresyon Denklemi	R ²	E	PCR ETKİNLİĞİ (%)
DGK1	$y = -3,519x + 27,734$	0,99	1,92	92,4
DGK2	$y = -3,178x + 28,296$	0,99	2,06	106,4
DGK3	$y = -3,327x + 26,762$	0,99	2,00	99,8
DGK5a	$y = -3,449x + 32,659$	0,98	1,95	95,0
DGK5b	$y = -3,282x + 27,579$	0,99	2,02	101,7
DGK6	$y = -3,222x + 32,267$	0,95	2,04	104

DGK3 primerinde dilüsyon serileri sonucunda elde edilen standart eğri, amplifikasyon ve erime eğrisi aşağıda verilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. DGK3 primerinin dilüsyon serileri sonucunda elde edilen standart eğri, amplifikasyon ve erime eğrisi.

3.2.2 *PvDGK* gen ailesinin normal koşullarda ve tuz stresinde farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi

3.2.2.1 *PvDGK* gen ailesinin normal koşullarda farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi

3.2.2.1.1 Bitki materyali ve yetiştirme koşulları

DGK genlerinin normal koşullar altında bitkinin farklı dokulardaki ifade düzeylerinin belirlenmesinde Zülbiye çeşidi bitki materyali olarak kullanılmıştır. Bitkinin iyi büyüme sağlaması için iyi tohumlar seçilmiştir. Yüzey sterilizasyonu için tohumlar 3 dakika % 1 'lik sodyum hipoklorit (NaOCl)'te bekletildikten sonra % 70 'lik etil alkol (C₂H₅OH) ile muamele edilmiştir. Daha sonra ddH₂O ile tohumlar yıkanmış ve otoklavlanmış steril torfa ekim yapılmıştır. Bitkilerin çıkış işlemi gerçekleştikten sonra hidroponik kaplara fideler aktarılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak yürütölmüştür. Besin çözeltisi olarak Hoagland çözeltisi (235 ppm K, 200 ppm Ca, 0,5 ppm B 31 ppm P, 64 ppm S, 48 ppm Mg, 0,5 ppm Mn, 0,05 ppm Zn, 0,02 ppm Cu, 210 ppm N, 0,01 ppm Mo ve 1 ile 5 ppm Fe) besin kaynağı olarak kullanılmıştır (Hoagland vd., 1950; Epstein, 1972). Her bir bitki dokusundan alınacak örnekle ve tekerrürler için farklı yetiştirme saksıları kullanılmıştır. Bitkiler sürekli olarak 16 saat ışık/8 saat karanlık döngü altında % 70 nemde 25 °C'de kontrollü iklim odasında tutulmuş ve besin çözeltisi her hafta değiştirilmiştir. Bitkiler üç yapraklı hale geldikten sonra farklı gelişme dönemlerinde kök, gövde yaprak, çiçek ve baklalarından doku numuneleri Le vd. (2016) ve Ayra vd. (2018)'e göre alınmıştır. qRT-PCR reaksiyonu için örnekle üç tekerrürlü olarak toplanmıştır. Toplanan örnekle etiketlendikten sonra 50 ml'lik tüpler içerisinde sıvı nitrojen tankında dondurularak RNA izolasyonu ve cDNA sentezine kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. Bitkilerin farklı gelişim dönemlerinde örnekle alınmasına ait deneme planı Tablo 4'de verilmiştir. Denemeye ait çeşitli görseller Fotoğraf 1 ve Fotoğraf 2'de verilmiştir.

Tablo 4. Bitkilerin farklı gelişim dönemlerinde örnekle alınması için kurulan denemenin şematik görünümü

Çeşit	Kök	Gövde	Yaprak	Bakla	Çiçek	Toplam
Zülbiye	3 bitki x 3 tekerrür = 9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	45 bitki



Fotoğraf 1. Zülbiye çeşidinin çimlenmesi ve çıkışı



Fotoğraf 2. Bitkilerin hoagland solüsyonunda yetiştirilmesi ve örneklerin alınması

3.2.2.1.2 Total RNA izolasyonu, DNase uygulaması, komplementer DNA (cDNA) sentezi ve ekspresyon analizi

Elde edilen bitki dokularından toplam RNA ayrı olarak ekstrakte edilmiştir. RNA izolasyonu aşağıdaki basamaklar takip edilmiştir.

- 1) RNA izolasyonu yapılacak örnek sayısı kadar eppendorf tüp çıkartılıp üzerine bilgiler not edilmiştir. Ardından pipet kullanımını ve kontaminasyonu azaltmak için öncelikle 200 µl saf su konulmuştur. Saf suyun üzerine NucleoZOL

- (Macherey-Nagel) bufferı eklenmiştir. Örnekler vorteks yapıp daha sonra spinlenmiştir.
- 2) Sıvı azot önceden dezenfeksiyonu yapılmış havaneline dökülüp havanelinin soğuk olması sağlanmıştır. Daha sonra havanelinin içerisine bitki dokuları konulmuş ve sıvı azot ezilmiştir. Ezme işlemi sırasında örneklerin eriyip sulanmamasına dikkat edilmiştir.
 - 3) Ezilmiş örnek tozları ependorf tüplerin içerisine sıvı olmayacak şekilde konulmuştur.
 - 4) Örnek tozları tüplere konulduktan sonra hafifçe çalkalanmış ve karışması sağlanmıştır.
 - 5) Çalkalanmış örnekler +4 °C 20 dakika bekletilmiştir
 - 6) Ardından 24 °C’de 10 dakika bekletilmiştir
 - 7) 10 dakika +4 °C de 12000q de santrifüj edilmiştir
 - 8) Santrifüj işlemi sırasında yeni ependorf tüpler numaralandırılmış ve 500 µl isopropanol eklenmiştir
 - 9) Santrifüjden çıkan örneklerin üst sıvısı (supernatant) 600 µl olacak şekilde isopropanol içeren örneklerin üzerine konulmuş ve hafif çalkalanmıştır
 - 10) 10-15 dakika -20 °C de bekletilmiştir
 - 11) Daha sonra 10 dakika 12000q +4 °C ‘de santrifüj edilmiştir
 - 12) Santrifüj edilen örneklerin üst sıvısı dökülmüş ve peletlerin kuruması için kuruma kağıdına konulmuştur (5 dakika)
 - 13) Kurumuş örneklerin üzerine 500 µl soğuk ETOH (% 70) eklenmiştir
 - 14) Daha sonra 2 dakika 15000rpm santrifüj edilmiş ve içerisindeki ETOH (% 70) dökülüp tekrar santrifüjlenmiştir (2 dakika 15000rpm)
 - 15) Santrifüjden sonra 100 µl’lik pipet ucuyla örneklerin içerisinde kalan ETOH çekilmiştir.
 - 16) Kalan peletlerin üzerine 40 µl saf su konulup çözündürülmüş ve örnekler hızlı şekilde -80 °C’ye kaldırılmıştır.

RNA izolasyonuna ait görseller Fotoğraf 3’de, elde edilen total RNA’ların jel görüntüsü de Fotoğraf 4’de verilmiştir. DNA kontaminasyonunu engellemek için elde edilen RNA’lara üretici firma protokolü modifiye edilerek DNase uygulaması gerçekleştirilmiştir. Total RNA, Thermo Scientific (Katalog numarası: EN0525) protokolü modifiye (Tablo 5) edilerek genomik DNA’lardan arındırılmıştır.

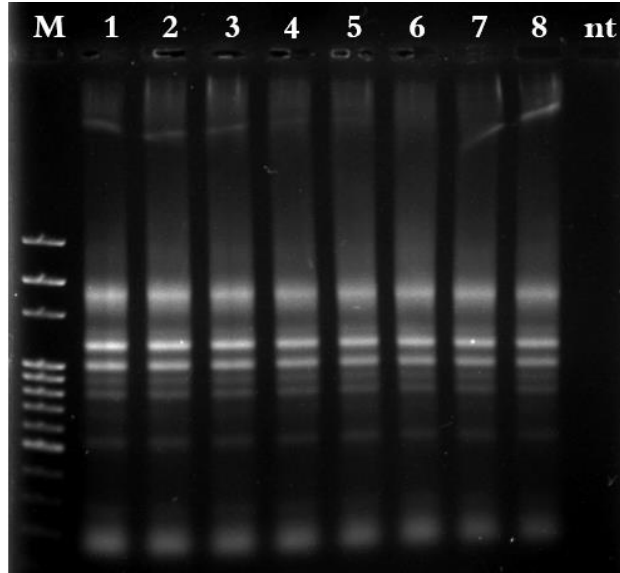
Tablo 5. DNase uygulamasında uygulanan protokole ait bilgiler

Komponentler	Reaksiyon Başına Hacim
RNA	4 µg
10X Buffer	2 µl
DNase I	2 µl (1u)
Su	15µl 'e tamamlanır

- 1) -80 °C'deki örnekler soğuk rack üzerine çıkartılmıştır.
- 2) Elde edilen RNA miktar ve saflıkları Denovix Ds-11 FX Nanospektrofotometre cihazı ile 260/280 ve 260/230 nm dalga boylarındaki absorbans oranları ile tespit edilmiştir.
- 3) Örnekler vorteks ve spin yapılmış, daha sonra 1,5 µl örneklerden çekilerek cihaz üzerine damlatılarak ölçümler sırasıyla gerçekleştirilmiştir. Ölçümler üç kez tekrarlanıp ve ortalaması alınmıştır.
- 4) DNase uygulanması için µl hesabı (4000 ng /RNA miktarı) yapılmış ve tüm örneklerin total RNA'sı eşitlenmiştir.
- 5) Örnek sayısı kadar PCR tüp çıkartılıp numaralandırılmıştır. Ardından RNA miktarları, hesaplamadaki miktarlara göre numaralandırılan PCR tüplere konulmuştur.
- 6) Ayrı PCR tüp içersinde karışım hazırlanmıştır.
- 7) RNA miktarlarının üzerine karışım eklenmiştir.
- 8) PCR tüpleri 37 °C 30 dakika PCR cihazında (BioRad T100 termal cyclers) inkübe edilmiştir.
- 9) Inkübasyon sonrası 5 Mm olacak şekilde (15 µl için 1,5 µl) EDTA eklenerek 65 °C 10 dakika tekrar inkübe edilmiş ve DNase inhibe edilmiştir.
- 10) Tekrar Nanodrop ölçümü (Denovix Ds-11 FX Nanospektrofotometre) yapılip RNA miktarları belirlenmiştir.



Fotoğraf 3. RNA izolasyon aşamasına ait görseller



Fotoğraf 4. RNA izolasyonu sonrası çeşitli örneklerin jel görüntüsü

(M: marker, 1) tuz stresi 6. saat/Yakutiye, 2) tuz stresi 12. saat/Zülbiye, 3) tuz stresi 24. saat/Zülbiye, 4) tuz stresi 24. saat/Yakutiye, 5) soğuk stresi 24. saat/BLKSR3, 6) soğuk stresi 24. saat/BRS5, 7) soğuk stresi 24. saat/BR3, 8) soğuk stresi 24. saat/DZC9, nt) Su kontrol)

Komplementer DNA (cDNA) Sentezi, iScript™ cDNA sentez kiti (Bio-Rad, Kaliforniya, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 6). DNase uygulanmış RNA'ların her biri için µl hesabı (2000 ng /RNA miktarı) yapılmış ve tüm örneklerin total RNA'sı eşitlenmiştir.

Tablo 6. cDNA eldesi için kullanılan protokol

Komponentler	Reaksiyon Başına Hacim
5x iScript Reaksiyon Karışımı	2 µl
iScript Ters transkriptaz	0,5 µl
RNA	2 µg
Su	15 µl

PCR tüpler içerisine protokole göre hazırlanan karışıma 5X iScript Reaction mix ve iScript RT konulmuştur. Hesaplanan RNA miktarı ve kalan su miktarı da PCR tüplerin içerisine eklenmiştir. Bio-Rad Termalcycler PCR cihazında reaksiyon koşulları 25 °C'de 5 dakika, 42 °C'de 30 dakika, 85 °C'de 5 dakika, 4°C ∞ olacak şekilde inkübasyon yapılarak cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA'lar 1/10 oranında seyreltilmiştir. qRT-PCR'da kullanılabilecek kadar -20 °C saklanmıştır.

qRT-PCR çalışmaları çift sarmal DNA'ya bağlanarak floresan özellik gösteren SYBR Green yöntemi kullanılarak bazı modifikasyonlarla gerçekleştirilmiş ve reaksiyon koşulları optimize edilmiştir (Tablo 7). Bütün PCR

çalışmaları CFX-Connect Bio-Rad Real-Time PCR Detection System cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 7. qRT-PCR için reaksiyon koşulları

Mix	Gerçekleştirilen
iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (2x)	5 µl
İleri ve Geri Primer (10 µM)	1+1 µl
cDNA	2 µg
Su	1 µl

Toplamda 10 µL reaksiyon karışımı; 2 µl cDNA, 2x iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) karışımı, 1+1 µl Primer konsantrasyonu ve 1 µl ddH₂O su kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Real-Time PCR koşulları ise; 50 °C’ de 2 dk, 95 °C-5 dk ilk denatürasyon, 95 °C-10 s, 60 °C-30 s, 72 °C- 5 saniye (florosans okuma) süreyle 39 döngü, sonrasında her real-time PCR uygulamasında floresans sinyallerin beklenen spesifik PCR ürününden gelip gelmediğini saptamak için yapılan erime eğrisi (melting curve) analizi ise 95 °C-10 saniye, 65-95 °C arasında her 5 saniyede 0,5 °C artırılarak qRT-PCR koşulları gerçekleştirilmiştir.

Test edilen genlerdeki nispi değişim miktarının belirlenmesinde housekeeping/normalizasyon gen olarak *actin* (İleri Primer: TGAGCAAGGAGATTACAGCATTGG, Geri Primer: CATACTCTGCCTTCGCAATCCAC) (Büyük, 2014; Tanrıseven, 2020) kullanılmıştır.

3.2.2.2 PvDGK genlerinin tuz stresine karşı farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi

3.2.2.2.1 Bitki materyali, hoagland çözeltisinin hazırlanması ve tuz stresinin uygulanması

Çalışmada, Büyük vd. (2016), İnal vd. (2017), İlhan vd. (2018) ve Büyük vd. (2019) tarafından tuz stresine toleranslı ve hassas olduğu belirtilen Yakutiye (toleranslı) ve Zülbiye (hassas) çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır. Bitkinin iyi büyüme sağlaması için iyi tohumlar seçilmiş her çeşitten 36 bitki olacak şekilde tohumlar bir önceki iş paketinde belirtildiği gibi ekilmiş ve hoagland çözeltisini içeren hidroponik kaplarda yetiştirilmiştir. Deneme 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. İklim odasındaki bitkiler üç yapraklı aşamaya ulaştığında her çeşitteki bitkilerin hoagland solüsyonu içerisine orta derece tuz stresi

uygulayabilmek amacıyla 150 mM NaCl eklenmiştir. Stres uygulamasından sonraki 0, 6, 12 ve 24. saatlerde bitkilerin kök ve yapraklarından doku numuneleri alınıp etiketlendikten sonra 50 ml'lik tüpler içerisinde sıvı nitrojen tankında dondurularak RNA izolasyonu ve cDNA sentezine kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir. qRT-PCR reaksiyonu için örnekler üç tekerrürlü olarak toplanmıştır. Tuz stresinin uygulanmasına ait deneme planı Tablo 8'de, denemeye ait görünüm de Fotoğraf 5 ve Fotoğraf 6'de verilmiştir.

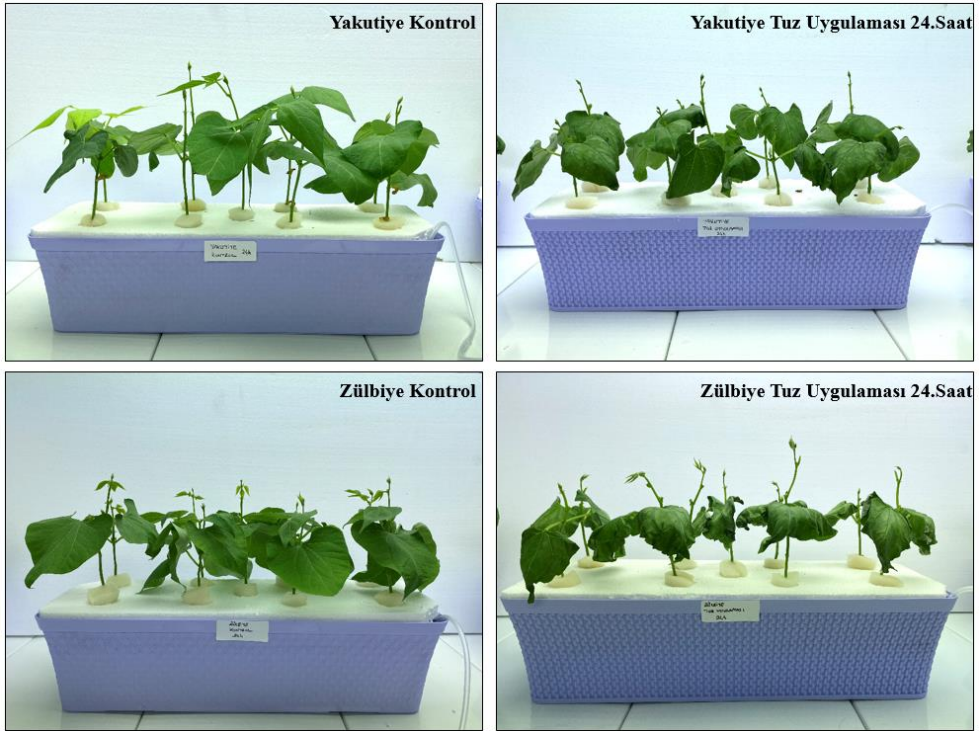
RNA izolasyonu, DNase uygulaması, cDNA sentezi ve qRT-PCR çalışmaları bölüm 3.2.2.1.2'de belirtilen yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Test edilen genlerdeki nispi değişim miktarının belirlenmesinde housekeeping/normalizasyon geni olarak *actin* (İleri Primer: TGAGCAAGGAGATTACAGCATTGG, Geri Primer: CATACTCTGCCTTCGCAATCCAC) kullanılmıştır.

Tablo 8. Hoagland çözeltisinde yetişen bitkilere tuz stresinin (150 mM NaCl) uygulanmasına ait deneme planı

Çeşitler	Uygulama	0 (Saat)	6 (Saat)	12 (Saat)	24 (Saat)	Toplam
Yakutiye	Tuz Stresi	3 bitki x 3 tekerrür= 9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	36 bitki
Zülbiye	Tuz Stresi	3 bitki x 3 tekerrür= 9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	36 bitki



Fotoğraf 5. Hoagland solüsyonunda bitki materyallerinin yetiştirilmesi ve tuz stresinin uygulanması



Fotoğraf 6. Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin kontrol ve tuz stresi uygulandıktan 24. saatteki görünümü.

(Fotoğraflar örnek alımlarından sonra çekilmiştir)

3.2.3 Yerel kuru fasulye genotiplerinin soğuk stresine tolerans durumlarının fenotipik düzeyde belirlenmesi

3.2.3.1 Laboratuvar şartlarında fide döneminde soğuk stresi (5 °C ve 0 °C) testinin uygulaması

Bu çalışma kapsamında, 115R042 nolu Tübitak Projesinden temin edilen 54 yerel fasulye genotipi test edilmiştir. Ayrıca 114O806 nolu TÜBİTAK Projesinden elde edilen ve soğuğa dayanıklılık düzeyleri bilinen (Tablo 1, hassas ve toleranslı) 5 ileri fasulye genotipi denemede kontrol olarak kullanılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. İklim odasında erken fide döneminde bitkilere soğuk stresi testi uygulanması amacıyla her fasulye genotipinde homojen çıkışın sağlanabilmesi için 15 tohum standart bahçe karışımında viyollere ekilmiş ve etiketlenmiştir (Fotoğraf 7). Çimlenme ve çıkışı müteakip bitkiler 3 gruba (Grup 1: Kontrol, Grup 2: 5 °C, Grup 3: 0 °C) ayrılmıştır. Her grupta her genotip ve çeşitten 3 fide bulunmuş ve her fide tekerrür kabul edilmiştir.



Fotoğraf 7. Fasulye genotip ve çeşitlerinin ekimine ait görseller

Grup 1’de bulunan bitkiler 20 °C’de (16 saat gündüz/8 saat gece) ve 300-700 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğu aralığında bitki yetiştirme odasında büyümelerine devam etmiştir. Grup 2’deki bitkiler 5 °C testlemeleri için 20 °C’de 2 gün, 15 °C’de 1 gün, 10 °C’de 1 gün ve 5 °C’de 5 gün tutulmuştur. Grup 3 ’deki bitkiler 0 °C testlemeleri için 20 °C’de 2 gün, 15 °C’de 1 gün, 10 °C’de 1 gün, 5 °C’de 5 gün ve

0 °C’de 2 gün tutulmuştur. Grup 2 ve 3’ deki bitkiler soğuk testlemelerinden sonra kontrol grubu bitkilerin yanına alınmış 5 gün iyileşme süresi için beklenilmiştir (Kantar vd., 2018). Farklı gruplarda yer alan bitkilere ait görseller Fotoğraf 8’de verilmiştir.



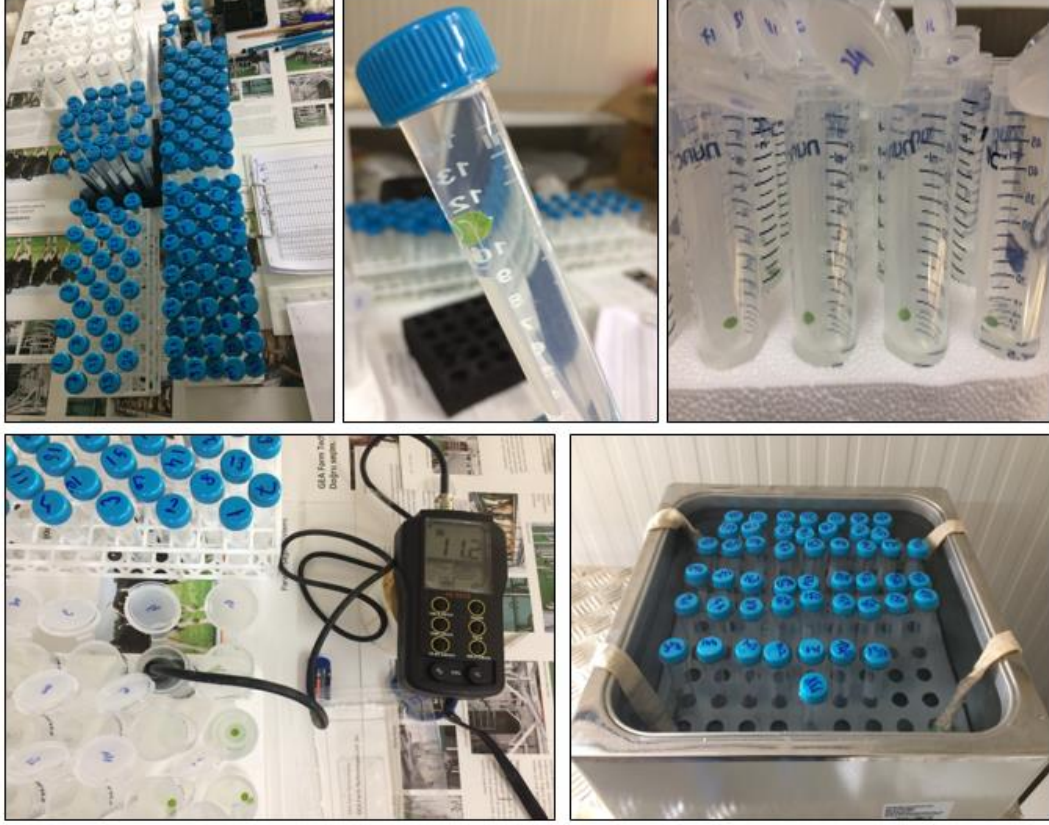
Fotoğraf 8. Farklı gruplarda yer alan bitki materyallerine ait görseller (Grup 1: Kontrol, Grup 2: 5 °C uygulaması, Grup 3: 0 °C uygulaması)

3.2.3.1.1 Nisbi Elektrolit Sızıntı Testi

Gao vd. (2009) ve Kantar vd. (2018) tarafından kullanılan nisbi elektrolit sızıntı testi (*NES*), Grup 1’de 20 °C’de bulunan kontrol grubu bitkilerde, Grup 2’de 5 °C’de 5 gün tutulan bitkilerde ve Grup 3’de 0 °C’de 2 gün tutulan bitkilerde uygulanmıştır (Tablo 10). Her tekerrürde yer alan bitkilerin yaprakların alınan 5 mm diskler di-iyonize su ile yıkanmıştır. Daha sonra diskler, içerisinde 15 ml di-iyonize su bulunan falkon tüplere konularak ağzı kapalı olacak şekilde 25 °C de 6 saat inkübe edilmiştir. Falkon tüp içerisindeki beklemiş sıvısının elektriksel konduktivitesi (geçirgenlik) bir konduktivite metre yardımıyla ölçülmüş ve kaydedilmiştir (E1). Ardından yaprak diski içeren 15 ml falkon tüpler 100 °C sıcak su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir (Fotoğraf 9). Bu işlemten sonra tüpler 25 °C de soğutulurak ikinci ölçüm (E2) yapılmıştır. De-iyonize suyun ölçümü (E0) ayrıca yapıldıktan sonra Nisbi Elektrolit Sızıntısı (Relative Elektrolitte Leakage) (*NES*) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$NES = \frac{E1 - E0}{E2 - E0} \times 100$$

NES değeri düşük olan fasulye genotiplerinin sağlam membran yapısına sahip olmasından dolayı soğuğa toleranslı genotiplerin selekte edilmesinde kullanıldığı bildirilmiştir (Certel, 2016; Kantar vd., 2018).



Fotoğraf 9. Nisbi elektrolit sızıntı testinin uygulanmasına ait görseller

3.2.3.1.2 Yaprak Rengi Ölçümleri

Yaprak rengi ölçümleri 3NH NR110 cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Grup 1 'de 20 °C'de bulunan kontrol grubu bitkilerde, Grup 2 'de 20 °C, 15 °C, 10 °C ve 5 °C 5 gün tutulan bitkilerde ve Grup 3 'de 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C'de 2 gün tutulan bitkiler üzerinde ölçümler yapılmıştır (Tablo 9; Fotoğraf 10). Ölçümlerde uluslararası aydınlatma komisyonu (CIELAB) tarafından kabul gören koyuluk (L^*), kırmızılık/yeşillik (a^*), sarılık/mavilik (b^*), Chroma (C^*) ve Hue-renk tonu açısı (H°) değerleri okunmuş ve değerlendirilmiştir. Alınan ölçümler sonrası soğuk testine tabi tutulan bitkiler ve kontrol bitkiler kıyaslanmıştır (Certel, 2016; Kantar vd., 2018).

3.2.3.1.3 Doğrudan klorofil ölçümleri (SPAD okumaları)

Soğuk stresinde kloroplastların parçalandığı ve yaprakta nekroz oluştuğu bildirilmiştir (Guye vd., 1987). Bu kapsamda, klorofil konsantrasyon ölçüm (APOGEE Instruments, MC-100) cihazı kullanılarak yaprak üzerinde doğrudan

klorofil ölçümleri Grup 1 'de 20 °C'de bulunan kontrol grubu bitkilerde, Grup 2 'de 20 °C, 15 °C, 10 °C ve 5 °C 5 gün tutulan bitkilerde ve Grup 3 'de 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C'de 2 gün tutulan bitkiler üzerinde ölçümler yapılmıştır (Tablo 9; Fotoğraf 10). Her fasulye genotipine ait en üst yaprağın terminal yaprakçığında klorofil ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Williams, 1984; Certel, 2016; Kantar vd., 2018).

3.2.3.1.4 Klorofil floresan ölçümleri (F_v/F_m ve PI_{abs})

Klorofil floresan parametreleri, soya fasulyesi, bakla, asma, domates ve mısır bitki gibi bitkilerin soğuk stresine duyarlılıklarının belirlenmesinde kullanılmıştır (Guy vd., 1997; Skrudlik vd., 2000; Cao vd., 2015; Su vd., 2015; Zhou vd., 2018). Denemeye alınan fasulye genotip ve çeşitlerinin fotosistem II'nin ($PSII$) maksimum kuantum veriminin (F_v/F_m) ve absorpsiyon bazında fotosentetik performans indeksi (PI_{abs})'nin belirlenmesi FlourPen FP 100 cihazı ile Grup 1 'de 20 °C'de bulunan kontrol grubu bitkilerde, Grup 2 'de 20 °C, 15 °C, 10 °C ve 5 °C 5 gün tutulan bitkilerde ve Grup 3 'de 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C'de 2 gün tutulan bitkiler üzerinde yapılmıştır (Tablo 9; Fotoğraf 10). Ölçümlerden elde edilen veriler nisbi elektrolit sızıntı testi ile karşılaştırılmış ve genotiplerin seleksiyonunda kullanılmıştır.

3.2.3.1.5 Soğuk zararının görsel olarak değerlendirilmesi

Soğuk testlemelerden sonra kontrol grubu bitkilerin yanına alınan Grup 2 ve 3 'deki bitkilerin 5 gün iyileşme süresinden sonra soğuk stresine maruz bırakılan fidelerde oluşan zararın tespiti için görsel değerlendirme yapılmıştır (Tablo 9). Görsel değerlendirme zararlanma indeksi (Zİ) ise 1'den 9'a kadar değer verilerek Certel. (2016) ve Kantar vd. (2018)'e göre yapılmıştır. Bu değerlendirme; 1. En çok toleranslı (soğuk yok), 2. Çok toleranslı (yaprakların en fazla % 10 'unda soğuk zararı var), 3. Dayanıklı (yaprakların % 11-20 'sinde soğuk zararı var), 4. Orta derece toleranslı (yaprakların % 21-40 'ında soğuk zararı var), 5. Orta (yaprakların % 41-60 'ında soğuk zararı var), 6. Orta derece hassas (yaprakların % 61-80 'inde soğuk zararı var, ölü bitki var), 7. Hassas (yaprakların % 81-90 'inde soğuk zararı var, ölü bitki var), 8. Çok hassas (yaprakların % 91-99 'unda soğuk zararı var, ölü bitki var) ve 9. (yaprakların tamamında soğuk zararı var ve bitkiler ölmüş) şeklinde gerçekleştirilmiştir. Soğuk stresinin uygulanmasına ait çalışmanın şematik planı Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Soğuk stresi uygulamasında yapılan gözlemlerin şematik görünümü

Gruplar	20 °C (2 gün)	15 °C (1 gün)	10 °C (1 gün)	5 °C (5 gün)	0 °C (2 gün)	20 °C (5 gün)
1 (Kontrol Grubu)	-	-	-	-	-	SZ, E, Y, D, KF
2 (5 °C Ölçüm Grubu)	Y, D, KF	Y, D, KF	Y, D, KF	E, Y, D, KF	-	SZ
3 (0 °C Ölçüm Grubu)	Y, D, KF	Y, D, KF	Y, D, KF	Y, D, KF	E, Y, D, KF	SZ

E: Nisbi elektrolit sızıntısı, Y: Yaprak rengi ölçümleri, D: Doğrudan klorofil ölçümleri, KF: Klorofil floresan ölçümleri, SZ: Soğuk zararının görsel olarak değerlendirilmesi



Fotoğraf 10. Ölçümlerde kullanılan cihazlar ve farklı gruplardaki bitkilerin görünümü.

3.2.4 *PvDGK* genlerinin soğuk stresine karşı bitki dokusundaki ifade düzeylerinin belirlenmesi

3.2.4.1 Bitki materyali ve soğuk stresinin uygulanması

Çalışmada soğuk stresine karşı fasulye genotiplerinin fenotiplenmesi sonucu seçilen toleranslı BLKSR-3, BRS-27 ve BRS-3 genotipleri ile hassas DZC-9, BRS-5, BRS-14 fasulye genotipleri bitki materyali olarak kullanılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Çalışmada her fasulye genotipinden 36 bitki yetiştirilmiştir. Araştırmada kullanılan tüm bitkiler 25 °C sıcaklık ve 12/12 saatlik

ışık periyodu içeren kontrollü bitki yetiştirme odalarında yetiştirilmiştir. Bu amaçla %1'lik NaOCl solüsyonunda 3 dk süreyle yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutulan tohumlar viyole ekilmiştir. Çıkış gerçekleştikten sonra fideler toprak, kum, gübre karışımı içeren (1:1:1 v/v) 16 cm çapındaki saksılara ekilmiş ve yaklaşık 10-12 gün bitki yetiştirme odasında yetiştirilmiştir. Bitkiler üç yapraklı aşamaya geldiğinde, 4 °C soğuk stresi uygulamasına tabi tutulmuştur. Soğuk uygulamasının 0, 6, 12 ve 24. saatlerinde bitkilerin yapraklarından doku numuneleri alınıp etiketlendikten sonra 50 ml'lik tüpler içerisinde sıvı nitrojen tankında dondurularak RNA izolasyonu ve cDNA sentezine kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir (Liu vd., 2019). Soğuk stresinde *DGK* genlerinin bitki dokusundaki gen ekspresyon seviyesinin belirlenmesi ait deneme planı Tablo 10'da, denemeye ait görseller ise Fotoğraf 11'da verilmiştir.

Tablo 10. Soğuk stresinin uygulanması için kurulan denemenin şematik görünümü

Genotip	0 (Saat)	6 (Saat)	12 (Saat)	24 (Saat)	Toplam
BLKSR3	3 bitki x 3 tekerrür= 9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	36 bitki
BRS27	3 bitki x 3 tekerrür= 9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	36 bitki
BRS3	3 bitki x 3 tekerrür= 9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	36 bitki
DZC9	3 bitki x 3 tekerrür= 9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	36 bitki
BRS5	3 bitki x 3 tekerrür= 9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	36 bitki
BRS14	3 bitki x 3 tekerrür= 9 bitki	9 bitki	9 bitki	9 bitki	36 bitki



Fotoğraf 11. Soğuk stresi uygulamasına ait görseller

3.2.4.2 Total RNA izolasyonu, DNase uygulaması, komplementer DNA (cDNA) sentezi ve *DGK* genlerinin bitki dokusundaki ifade düzeylerinin tespiti

Total RNA izolasyonu, DNase uygulaması, cDNA sentezi ve qRT-PCR çalışmaları bölüm 3.2.2.1.2’de belirtilen yöntemlerle gerçekleştirilmiştir. Test edilen genlerdeki nispi değişim miktarının belirlenmesinde housekeeping/normalizasyon gen olarak *actin* (İleri Primer: TGAGCAAGGAGATTACAGCATTGG, Geri Primer: CATACTCTGCCTTCGCAATCCAC) ve *beta-tubulin* (İleri Primer: CCGTTGTGGAGCCTTACAA, Geri Primer: GCTTGAGGGTCCTGAAACAA) kullanılmıştır.

3.2.5 Verilerin Değerlendirilmesi

qRT-PCR reaksiyonları sonucunda elde edilen verilen normalizasyonu normal koşullar için $2^{-\Delta CT}$, tuz ve soğuk stresi için $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre yapılmıştır (Livak ve Schmittgen 2001). Tuz ve soğuk stresinden elde edilen sonuçlar $\log_2$ tabanlı kat artışı olarak belirtilmiştir. Tuz stresi uygulamasındaki gen ifade

sonuçları GraphPad Prism 8 programında grafik haline getirilmiş ve XLSTAT (Addinsoft, USA) istatistik programında ANOVA ve LSD oklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Soğuk stresi uygulamasındaki gen ifade düzeyine ait sonuçlar ise Graphpad Prizm 8 programında Heat Map haline getirilmiştir. Soğuk stresine karşı fasulye genotiplerinin fenotiplenmesinden elde edilen veriler R istatistik programında Pearson Korelasyon analizi ile JMP istatistik programında BOX Plot, Temel Bileşen Analizi ve varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizinden sonra genotiplerin soğuk stresine tolerans durumları $LSD_{0.01}$ oklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 DGK gen ailesinin fasulye genomu içerisinde tanımlanması

4.1.1 Fasulye’de DGK genlerinin belirlenmesi

Yürütülen biyoinformatik analizler sonucunda *Phaseolus vulgaris* genomunda 6 adet *PvDGK* (*PvDGK1*, *PvDGK2*, *PvDGK3*, *PvDGK5a*, *PvDGK5b* ve *PvDGK6*) geni keşfedilmiştir. Keşfedilen genlerin Phytozome, Legume Information System, Uniprot ID’leri, izoelektrik noktaları, stabilite özellikleri ve instabilite indeksleri Tablo 11, Tablo 12 ve Tablo 13’de belirtilmiştir. Keşfedilen genlerin kromozomal yerleşimleri göz önüne alındığında, *PvDGK1* ve *PvDGK3* genlerinin 3. kromozomda, *PvDGK2* geninin 2. kromozomda, *PvDGK5a* geninin 5. kromozomda, *PvDGK5b* ve *PvDGK6* genlerinin de 11. kromozomda yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 3). Genlerin kromozomlardaki lokasyonları Tablo 11’de belirtilmiştir.

Tablo 11. *PvDGK* genlerinin özellikleri ile ilgili bazı tanımlayıcı bilgiler

ID	Phytozome ID	Legume Information ID	Kromozom	Lokasyon
<i>PvDGK1</i>	Phvul.003G185800.3	phavu.Phvul.003G185800	3	40920697..40930225 +
<i>PvDGK2</i>	Phvul.002G276700.1	phavu.Phvul.002G276700	2	44620057..44628293 +
<i>PvDGK3</i>	Phvul.003G149800.1	phavu.Phvul.003G149800	3	36235244..36242122 -
<i>PvDGK5a</i>	Phvul.005G108700.1	phavu.Phvul.005G108700	5	32999982..33005713 -
<i>PvDGK5b</i>	Phvul.011G110600.1	phavu.Phvul.011G110600	11	14255756..14261908 +
<i>PvDGK6</i>	Phvul.011G155800.3	phavu.Phvul.011G155800	11	44477840..44485327 -

PvDGK genlerinin izoelektrik noktaları (*pI*) sırasıyla 6,22 (*PvDGK1*), 8,70 (*PvDGK2*), 8,83 (*PvDGK3*), 8,41 (*PvDGK5a*), 6,07 (*PvDGK5b*) ve 7,29 (*PvDGK6*) olarak belirlenmiştir. Instabilite indekslerine göre genlerin stabil olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 12). Mısır bitkisinde *ZmDGKs* genlerinin izoelektrik noktasının 5,90 (*ZmDGK3*) ile 8,28 (*ZmDGK7*) arasında değiştiği, elma bitkisinde ise *MdDGKs* genlerinin izoelektrik noktasının 6,08 (*MdDGK6*) ile 8,74 (*MdDGK1*) arasında değiştiği araştırmacılar (Li vd., 2015; Gu vd., 2018) tarafından belirtilmiştir (Tablo 13). *Glycine max* bitkisinde *DGK* genlerinin tanımlanmasına yönelik yürütülen çalışmada *GmDGKs* genlerinin izoelektrik noktasının 5,29 (*GmDGK4*) ile 7,61 (*GmDGK7*) arasında değiştiği tespit edilmiştir (Carther vd., 2019) (Tablo 13).

Tablo 12. *PvDGK* genlerinin izoelektrik noktaları, stabilite özellikleri ve instabilite indeksleri

ID	İzoelektrik noktası (pI)	Stabilite Özelliği	Instabilite indeksi
<i>PvDGK1</i>	6,22	Stabil değil	50,50
<i>PvDGK2</i>	8,70	Stabil değil	49,61
<i>PvDGK3</i>	8,83	Stabil değil	49,60
<i>PvDGK5a</i>	8,41	Stabil değil	40,19
<i>PvDGK5b</i>	6,07	Stabil değil	46,58
<i>PvDGK6</i>	7,29	Stabil değil	41,87

Tanımlanan *DGK* proteinlerinin, protein uzunlukları 727 (*PvDGK1*), 704 (*PvDGK2*), 481 (*PvDGK3*), 423 (*PvDGK5a*), 481 (*PvDGK5b*), 501 (*PvDGK6*) aminoasit iken molekül ağırlıklarının da sırasıyla 81,09, 78,65, 53,61, 47,31, 53,72 ve 58,68 kDa olduğu belirlenmiştir (Tablo 13). *Arabidopsis thaliana*, *Zea mays*, *Glycine max*, *Malus domestica*'da bitkilerinde *DGKs* genlerinin protein uzunlukları ve moleküler ağırlıkları sırasıyla; 466-728 aa/41,2-80 kDa, 487-716 aa/ 54,6-80,2 kDa, 430-727 aa/ 48,6–80,93 kDa, 488-737 aa/54-51-81,65 kDa arasında değişmiştir (Gomez-Merino vd., 2004; Li vd., 2015, Gu vd., 2018; Carther vd., 2019) (Tablo 13).

Tablo 13. *Phaseolus vulgaris* (*Pv*), *Glycine max* (*Gm*), *Arabidopsis thaliana* (*At*), *Oryza sativa* (*Os*) ve *Malus domestica* (*Md*)'daki *DGK* genlerinin gen lokusları, erişim kodları, protein uzunlukları ve moleküler ağırlıkları

ID	Gen Lokusu	Uniprot & NCBI	Aminoasit uzunluğu	Moleküler Ağırlığı (kDa)
<i>PvDGK1</i>	Phvul.003G185800.3	V7CAT4	727	81.09
<i>PvDGK2</i>	Phvul.002G276700.1	V7CP26	704	78.65
<i>PvDGK3</i>	Phvul.003G149800.1	V7CBS8	481	53.61
<i>PvDGK5a</i>	Phvul.005G108700.1	V7BV67	423	47.31
<i>PvDGK5b</i>	Phvul.011G110600.1	V7AG76	481	53.72
<i>PvDGK6</i>	Phvul.011G155800.3	V7AHY3	501	58.68
<i>AtDGK1</i>	AT5G07920	NP_196409	728	80.0
<i>AtDGK2</i>	AT5G63770	NP_201182	712	79.4
<i>AtDGK3</i>	AT2G18730	NP_849980	488	53.9
<i>AtDGK4</i>	AT5G57690	NP_200577	487	55.5
<i>AtDGK5a</i>	AT2G20900	AAM62810	491	55.3
<i>AtDGK5b</i>	AT2G20900	NP_850007	509	57.4
<i>AtDGK6</i>	AT4G28130	NP_194542	466	52.5
<i>AtDGK7</i>	AT4G30340	NP_567845	492	54.6

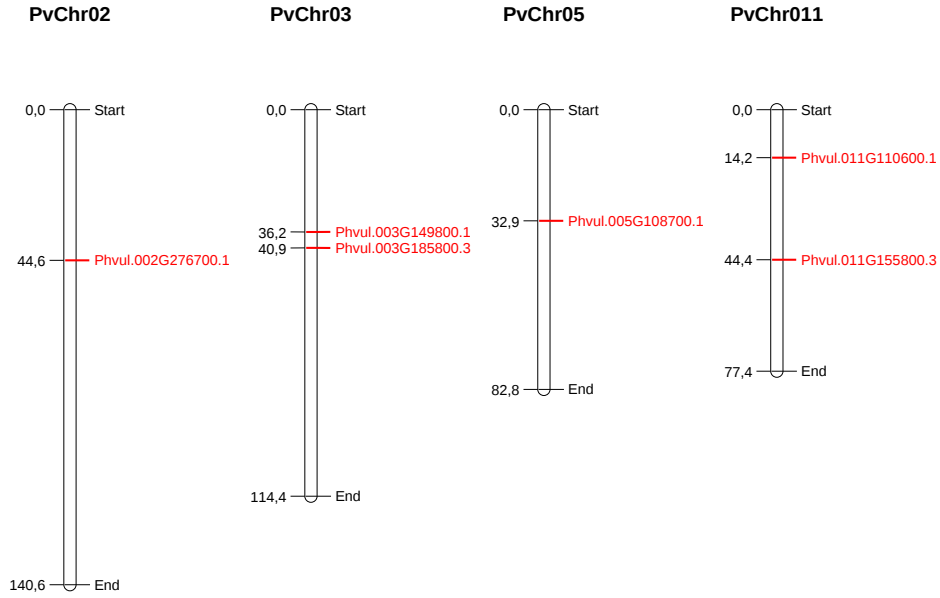
Tablo 13. Devam.

ID	Gen Lokusu	Uniprot & NCBI	Aminoasit uzunluğu	Moleküler Ağırlığı (kDa)
<i>GMDGK1</i>	Glyma.13G302200	XP_003541921.1	430	48.62
<i>GMDGK2</i>	Glyma.05G196100	XP_006580353.1	725	78.6
<i>GMDGK3</i>	Glyma.12G200100	XP_014632628	480	53.7
<i>GMDGK4</i>	Glyma.06G299200	XP_003526295	484	54.29
<i>GMDGK5</i>	Glyma.06G223900	XP_014632628	480	53.76
<i>GMDGK6</i>	Glyma.04G143000	XP_003552048	485	54.2
<i>GMDGK7</i>	Glyma.13G093100	XP_003542286	480	53.54
<i>GMDGK8</i>	Glyma.06G2549001	XP_014632201	504	56.32
<i>GMDGK9</i>	Glyma.12G146700	XP_006592585	485	54.35
<i>GMDGK10</i>	Glyma.17G067400	XP_014625529.3	480	53.56
<i>GMDGK11</i>	Glyma.17G077100	XP_014625346.1	727	80.97
<i>GMDGK12</i>	Glyma.05G022500	XP_006579516	727	80.93
<i>OsDGK1</i>	OS04G54200	EAZ32109	541	60.3
<i>OsDGK2</i>	OS08G08110	NP_001061130	502	55.8
<i>OsDGK3</i>	OS02G54650	NP_001048345	488	53.9
<i>OsDGK4</i>	OS12G38780	NP_001067111	705	78.7
<i>OsDGK5</i>	OS03G31180	ABF96709	616	68.1
<i>OsDGK6</i>	OS08G15090	BAD05689	527	57.1
<i>OsDGK7</i>	OS01G57420	EEE55501	499	55.9
<i>OsDGK8</i>	OS12G12260	ABG21922	663	72.8
<i>MdDGK1</i>	MDP0000900186	KM099881	707	79.3
<i>MdDGK2</i>	MDP0000246501	KM099882	489	54.6
<i>MdDGK3</i>	MDP0000276007	EB177954	724	80.2
<i>MdDGK4</i>	MDP0000139683	GO512216	502	54.5
<i>MdDGK5</i>	MDP0000401076	KM099880	522	58.5
<i>MdDGK6</i>	MDP0000237723	GO552958	488	54.5
<i>MdDGK7</i>	MDP0000286961	KM099883	737	81.6
<i>MdDGK8</i>	MDP0000171640	DR992213	538	60.2

Kaynak: *AtDGKs*: Gomez-Merino vd. 2004; *OsDGKs*: Ge vd. 2012; *MdDGKs*: Li vd. 2015, *GmDGKs*: Carther vd. 2019.

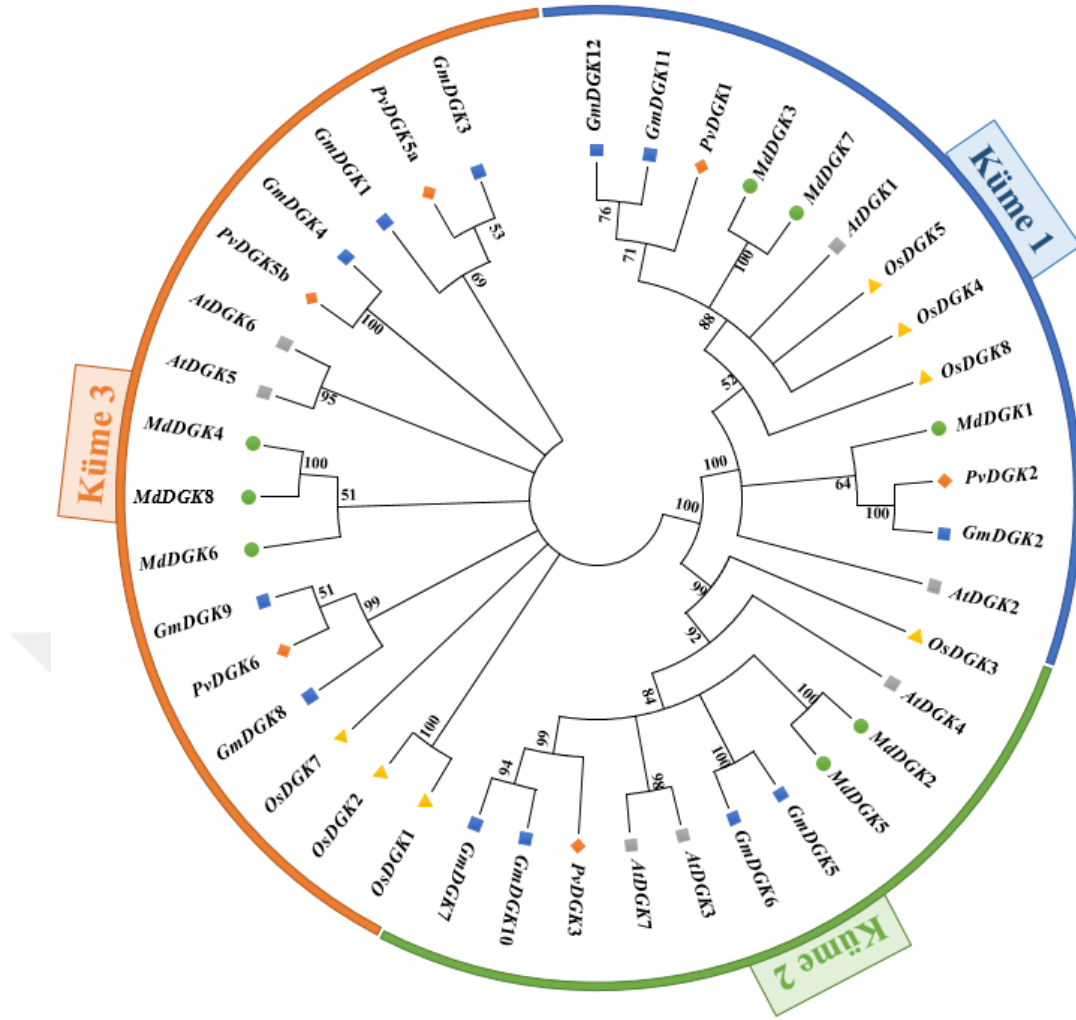
4.1.2 Fasulye *DGK* genlerinin çoklu sıra hizalamaları, kromozomlardaki lokalizasyonu ve filogenetik analizi

Genlerin kromozomlardaki lokasyonları Phytozome'dan alınan veriler kullanılarak MapChart programı kullanılarak görsel hale getirilmiştir. Şekil 3 'de de görüldüğü gibi *PvDGK2* geni 2. kromozomda, *PvDGK1* ve *PvDGK3* genleri 3. kromozomda, *PvDGK5a* geni 5. kromozomda, *PvDGK5b* ve *PvDGK6* genleri ise 11. kromozomda yer almaktadır.



Şekil 3. *Pv*DKG genlerinin fasulye kromozomları üzerindeki lokalizasyonları.

Phaseolus vulgaris (*Pv*), *Glycine max* (*Gm*), *Arabidopsis thaliana* (*At*), *Oryza sativa* (*Os*) ve *Malus domestica* (*Md*)’daki *DKG* genlerinin protein dizileri kullanılarak filogenetik analiz gerçekleştirilmiştir. Analizin gerçekleştirilmesinde farklı bitkilerdeki *DKG* izoformlarına ait bilgiler Tablo 13 ’de belirtilmiştir. Analiz sonucunda üç farklı küme belirlenmiştir. Küme I’de *PvDKG1* ve *PvDKG2* genleri, küme II’de *PvDKG3* geni, küme III’de de *PvDKG5a*, *PvDKG5b* ve *PvDKG6* genleri yer almaktadır (Şekil 4). Farklı bitki türlerinde *DKG* genlerinin tanımlanmasına yönelik yürütülen çeşitli çalışmalarda da bitki izoformları kullanılarak filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4. Fasulye (Pv), soya fasulyesi (Gm), Arabidopsis (At), çeltik (Os) ve elmadaki DGK genlerinin filogenetik analizi.

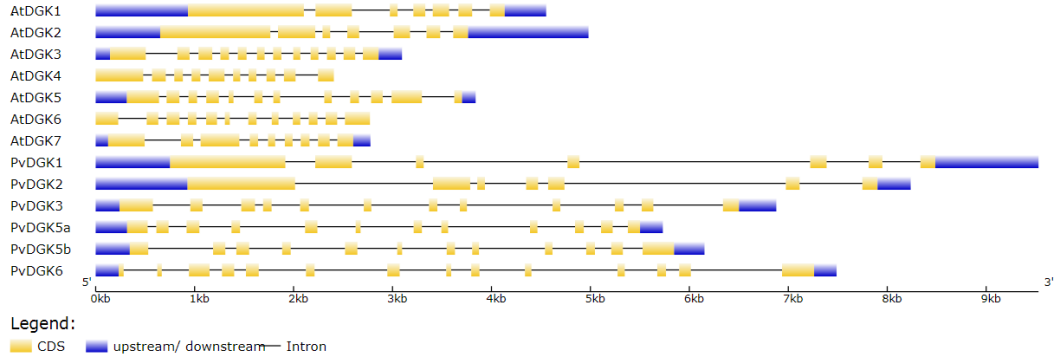
Örneğin; Gómez-Merino vd. (2004) *Arabidopsis thaliana*'da DGK genlerinin filogenetik analizinde küme I'de AtDGK1, AtDGK2, küme II'de AtDGK3, AtDGK4, AtDGK7, küme III'de de AtDGK5a, AtDGK5b, AtDGK6 genlerinin bulunduğunu belirlemiştir. Ge vd. (2012) *Oryza sativa*'da 8 DGK geni tanımlamış ve filogenetik analizde OsDGK4, OsDGK5, OsDGK8 genlerinin küme I'de, OsDGK3 ve OsDGK6 genlerinin küme II'de, OsDGK1, OsDGK2 ve OsDGK7'nin de küme III'de gruplandığını belirtmiştir. Li vd. (2015) *Malus domestica*'daki DGK genlerinin filogenetik analizinde MdDGK4, MdDGK8, MdDGK6 genlerinin küme III'de, MdDGK2, MdDGK5 genlerinin küme II'de, MdDGK1, MdDGK3, MdDGK7 genlerinin ise küme I'de yer aldığını bildirmiştir. Gu vd. (2018) mısır bitkisinde ZmDGK genlerini tanımlamış, küme I'de ZmDGK1, ZmDGK4, ZmDGK5, küme II'de ZmDGK6, küme III'de ZmDGK2, ZmDGK3 ve ZmDGK7'nin bulunduğu açıklamıştır. DGK genlerinin tanımlanması ile ilgili soya

fasulyesinde yürütülen diğer bir çalışmada Carther vd. (2019) filogenetik analizde DGK genlerinin III kümeye ayrıldığını, küme I'de *GmDGK2*, *GmDGK11*, *GmDGK12*, küme II'de *GmDGK5*, *GmDGK6*, *GmDGK7*, *GmDGK10*, küme III'de *GmDGK1*, *GmDGK3*, *GmDGK4*, *GmDGK8*, *GmDGK9* genlerinin yer aldığını ve *GmDGK* kümelenmesinin dikot *Arabidopsis* ve monokot çeltiğe göre dar olduğunu bildirmiştir. Çalışmada tanımlanan fasulye DGK genlerinin daha önce farklı bitkilerin proteomunda bulunan tüm DGK izoformları (*AtDGKs*; *OsDGKs*; *MdDGKs*; *ZmDGKs* *GmDGKs*) ile aynı grupta yer aldığı ve önceki çalışmalarla uyum içerisinde olduğu belirlenmiştir (Gomez-Merino vd., 2004; Ge vd., 2012; Li vd., 2015, Carther vd., 2019).

4.1.3 Fasulye DGK proteinlerindeki ekzon-intron yapıları ve protein motiflerin tanımlanması

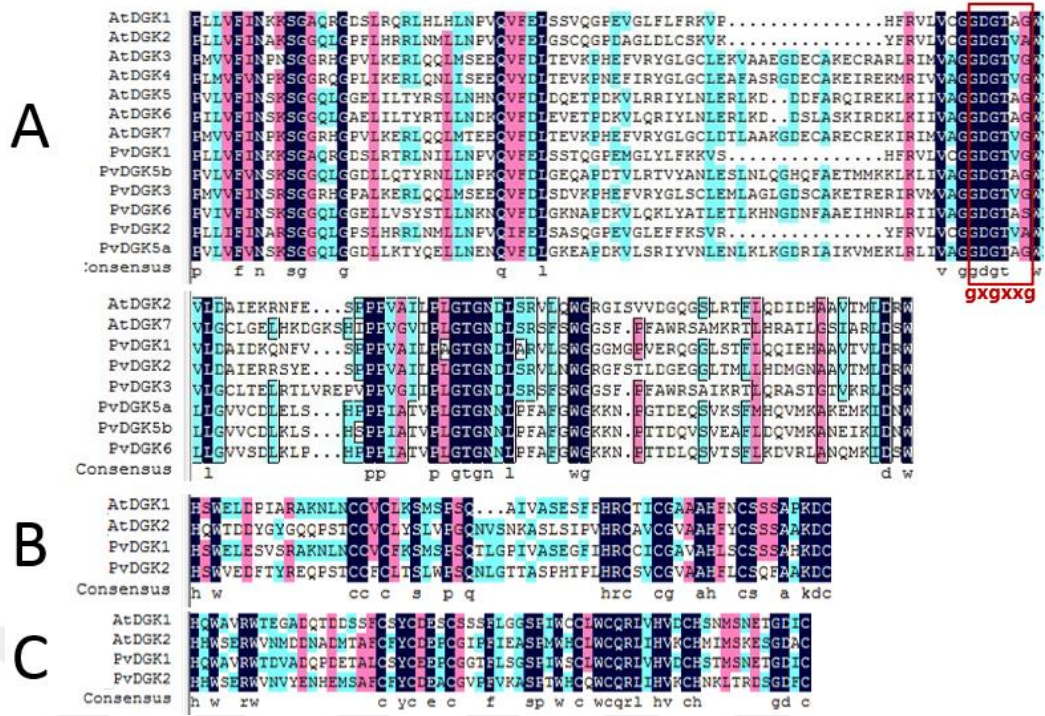
Fasulye DGK genlerinde ilgili her bir genin *Arabidopsis* DGK genlerine kıyasla ekzon-intron yapısı, genom dizilerinin eşleştirilmesiyle belirlenmiştir. Kodlama dizilerinin yapısı, tüm fasulye DGK genlerinin, küme I'de yedi ekzon ve küme II ve III'te *PvDGK6* hariç 12 ekzona sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 5). *PvDGK6* geninin 14 ekzona sahip olduğu belirlenmiştir. Ekzon-intron ilişkileri arasındaki bu yakınlık, geçmişten günümüze fasulye DGK gen ailesinde gen duplikasyonunun meydana geldiğini ileri sürmektedir (Mao vd., 2016; Carther vd., 2019). Şekil 4'te yer alan filogenetik ağaçta *Arabidopsis thaliana*'da küme I'de yer alan *AtDGK1* ve *AtDGK2* genlerinin de 7 ekzona sahip olduğu, küme II'de yer alan *AtDGK3* ile küme III'de yer alan *AtDGK5* ve *AtDGK6*'nın 12 ekzona sahip olduğu görülmektedir (Şekil 5). Farklı bitki türlerinde DGK genlerinin tanımlanmasına yönelik yürütülen çeşitli çalışmalarda da ekzon-intron yapısına dair bilgiler bildirilmiştir. Örneğin; Li vd. (2015) elma bitkisinde *MdDGK* genlerinin ekzon-intron organizasyonu analiz etmişlerdir. Küme III'deki *MdDGK* genlerinin neredeyse tamamının 12 ekzona sahip olduğu (*MdDGK8-14* ekson), küme I'deki genlerin 7 ekzonunun olduğunu, küme II'de ise ekzon sayısının 9 ile 12 arasında değiştiğini bildirmiştir. Gu vd. (2018) mısır bitkisinde 7 *ZmDGK* genlerinin boyutunun ve ekzon/intron sayılarının oldukça farklı olduğunu, küme I'de yer alan *ZmDGK1*, *ZmDGK4* ve *ZmDGK5* genlerinin 6 intron içerdiği, küme II ve küme III'de bulunan *ZmDGK* genlerinde ise daha fazla intronun gözlemlendiğini bildirmiştir. Aynı alt grup içindeki *ZmDGK* genlerinde benzer intron fazı dağılımlarının güçlü bir evrimsel ilişkiye işaret ettiğini vurgulamıştır. Diğer bir çalışmada, Carther vd.

(2019) soya fasulyesinde küme I'in yedi ekzon, diğer kümelerin (II ve III) 12 ekzon içerdiği, küme III'te yer alan *GmDGK9*'un ise 13 ekzona sahip olduğu bildirilmiştir.



Şekil 5. *Arabidopsis* ve fasulye *DGK* genlerinin filogenetik intron/ekzon analizi (Mavi kutular yukarı/aşağı bölgeleri, gri çizgiler intronları ve sarı kutular ekzonları temsil etmektedir)

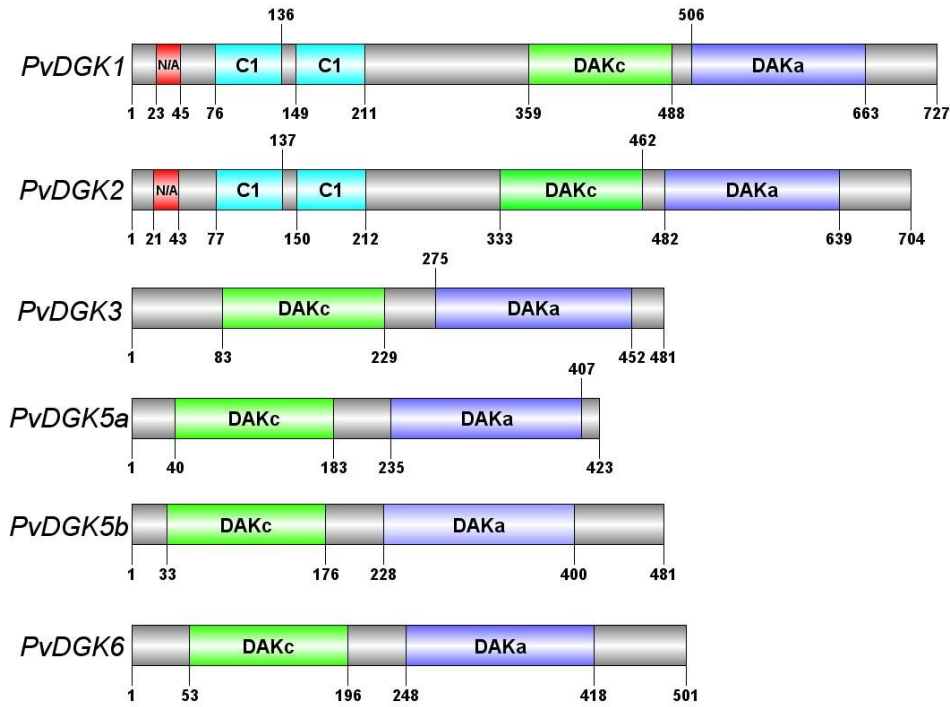
Diaçilgliserol kinaz katalitik alanının (*DGKc*) çoklu küme hizalaması üç fazda Şekil 6'de gösterilmiştir. Şekil (A) DAG/forbol ester (PE)-bağlama alanı 2'yi, (B) DAG/PE-bağlanma alanı 1'i ve (C) diaçilgliserol kinaz aksesuar (*DGKa*) alanını belirtmektedir. Hizalama sonucunda, *PvDGK2* ve *PvDGK6* dışında, hemen hemen tüm *PvDGK*'lerin, Şekil 6A'nın işaretli alanında gösterildiği gibi katalitik alanlarında (*DGKc*) bir GXGXXG dizisi ile temsil edilen ATP-bağlama motifini koruduğunu ortaya çıkarmıştır. Carther vd. (2019) soya fasulyesinde *DGK* genlerinin tanımlanması ile ilgili yürüttüğü araştırmada *DGK* katalitik alanını benzer şekilde 3 fazda göstermiştir. Nitekim, hizalama sonucunda *GmDGK2*, *GmDGK8*, ve *GmDGK9* dışındaki tüm *GmDGKs* genlerinde ATP-bağlanma motifinin korunduğu bildirilmiştir.



Şekil 6. *Phaseolus vulgaris* ve *Arabidopsis thaliana*’da DGK katalitik (DGKc) alanının çoklu hizalamaları (A), diacylglycerol /forbol ester (DAG/PE)-bağlama alanı C1 (b) DAG/PE-bağlama alanı 2 (C).

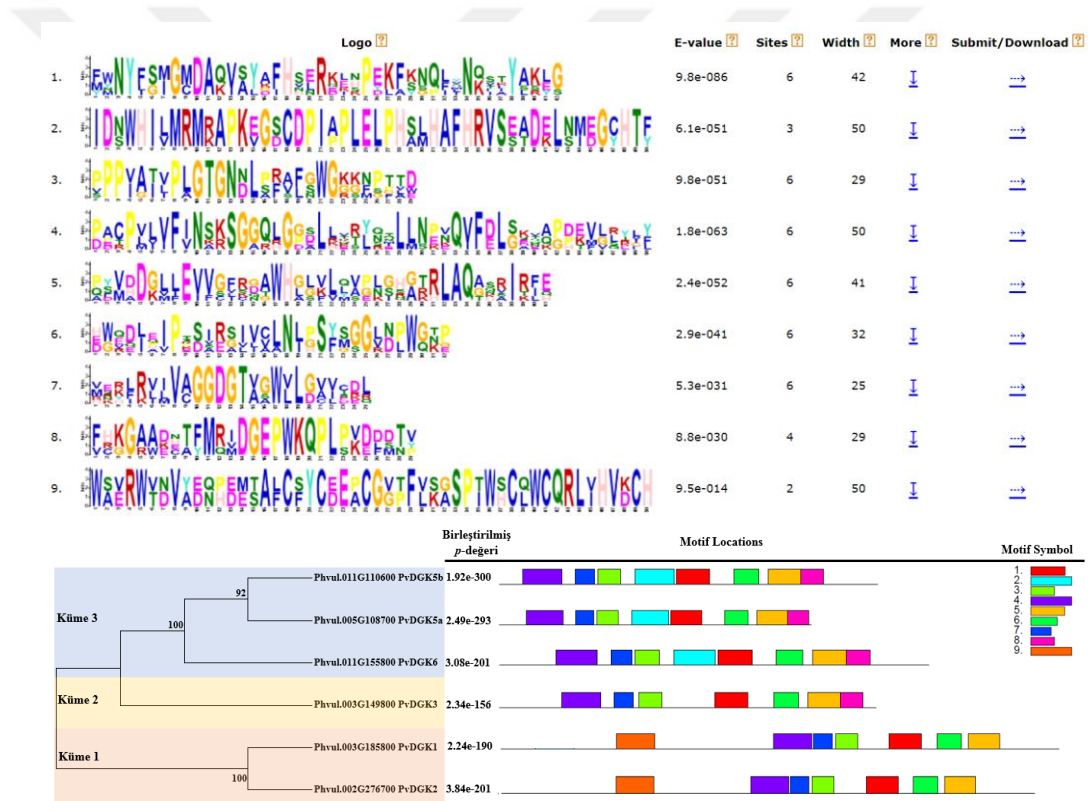
Polifosfoinosititler (PPI’ler), DAG, PA ve belirli lizofosfolipidleri, ökaryotlardaki tipik sinyal lipidleri olarak çeşitli araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır (Meijer ve Munnik, 2003; Munnik ve Testerink, 2009; Munnik ve Vermeer, 2010; Wang, 2004; Xue vd., 2009; Gu vd., 2018). Bir sinyal molekülü olan PA’nın temelde iki biyosentetik yoldan üretildiği; 1) fosfolipaz D (PLD) tarafından katalize edilen fosfatidilkolin (PC) ve fosfatidiletanolaminin (PE) dahil olduğu yapısal gliserofosfolipidlerin hidrolize edilmesiyle, 2) diaçilgliserol kinaz (DGK) ile kombinasyon halinde fosfolipaz C (PLC) yoluyla üretilebildiği bildirilmiştir (Arisz vd., 2009; Munnik ve Testerink, 2009; Gu vd., 2018). Çeşitli bitki türlerindeki çoklu DGK homologları üç kümede sınıflandırılmaktadır. Bitkilerde küme I’de yer alan DGK genlerinin korunmuş katalitik DGK kinaz alanı DGKc ile DGKa ve DAG bağlanması için iki DAG/PE alanı (C1 tipi alan) ve membran hedefleme için bir transmembran alanı içerdiği, küme II ve küme III’de AtDGK’ler DAG/PE alanlarına sahip olmadığı yalnızca DGKc alanına sahip olduğu bildirilmiştir (Munnik ve Testerink, 2009). Colon-Gonzalez ve Kazanietz (2006), C1 tipi alanlarının yokluğunun iki bitki DGK kümesinin enzim aktiviteleri üzerinde hiçbir etki göstermediğini belirtmiştir.

Çalışmada, tüm *PvDGK* protein alanlarının haritalanması, DOG 2.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 7). Diyagram, üç kümenin tümünün gelişim süreçleri boyunca makro protein alanının korunmasına dayalı olarak *PvDGK* proteinlerinin fonksiyonel alanlarının farklı dağılımlarını göstermektedir. Tüm *PvDGK* genleri bir katalitik alan (*DGKc*) ve bir aksesuar alan (*DGKa*) içermesine rağmen, yalnızca küme I'de yer alan *PvDGK1* ve *PvDGK2*'nin DAG/PE bağlama motifine ve transmembran bölgelerine (C1) sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, soya fasulyesinde tanımlanan 12 *GmDGK* genlerinin tümünde *DGKc* ve *DGKa*'nın bulunduğu ancak yalnızca küme I'de yer alan *GmDGK2*, *GmDGK11* ve *GmDGK12* genlerinin DAG/PE bağlama motifine ve C1 bölgelerine sahip olduğu bildirilmiştir (Carther vd., 2019). Aynı kümede yer alan fasulye *DGK*'lerinin fonksiyonel etki alanlarının lokalizasyonunun hemen hemen aynı olduğu görülmektedir (Şekil 7). Örneğin, küme I'de yer alan *PvDGK1* ve *PvDGK2*'nin *DGKc* alanları sırasıyla 359. ve 333. aa'dan başlamaktadır. Benzer şekilde, küme III'de, *PvDGK5a*, *PvDGK5b* ve *PvDGK6*'nin *DGKc* alanları sırasıyla 40, 33 ve 53. aa'da başlarken, küme II'deki *PvDGK3*'ün *DGKc* alanı 83. aa'dan başlamaktadır. Ayrıca, her kümede yer alan *PvDGK* genlerindeki *DGKa* alanının konumunun da *DGKc* alanına benzer olarak birbirine yakın olduğu görülmektedir (Şekil 7).



Şekil 7. *PvDGK* proteinlerinin fonksiyonel alan analizi.
(Rakamlar, proteindeki her amino asidin pozisyonunu göstermektedir)

Fasulye *DGK* proteinlerindeki diğer korunmuş motifleri tanımlamak için Multiple EM For Motif Elicitation Tool (MEME v4.11.1; <http://meme-suite.org/>) kullanılmıştır (Bailey vd., 2009). Yapılan analizde 9 korunmuş motif tespit edilmiştir. Belirlenen motiflerin uzunluğu 25-50 aa aralığında değişmiştir. Genel olarak, aynı filogenetik gruptaki üyelerin benzer motif kompozisyonlarına sahip olduğu görülmektedir. *PvDGK5a*, *PvDGK5b* ve *PvDGK6*'nın 8 motif içerdiği, diğer taraftan *PvDGK1*, *PvDGK2* ve *PvDGK3*'ün ise 7 motif içerdiği belirlenmiştir. Tüm *DGK* proteinlerinin Motif 1, Motif 3, Motif 4, Motif 5, Motif 6, Motif 7 içerdiği görülmektedir (Şekil 8). Diğer taraftan, Motif 9'u sadece *PvDGK1* ve *PvDGK2*'nin içerdiği, Motif 8'i ise *PvDGK3*, *PvDGK5a*, *PvDGK5b* ve *PvDGK6*'nın içerdiği belirlenmiştir.



Şekil 8. Fasulye *DGK* proteinlerindeki korunmuş motifleri.

4.1.4 Fasulye *DGK* gen ailesinin hücre altı lokalizasyonları

Tanımlanan proteinlerin hücre altı lokalizasyonlarının ve oranlarının belirlenebilmesi için CELLO v.2.5: subCELLular LOcalization predictor (<http://cello.life.nctu.edu.tw/>) (Yu vd., 2006) ve TargetP 1.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP-1.1/index.php>) online platformlarından yararlanılmıştır (Emanuelsson vd., 2000). *PvDGK* genlerinin hücre altı lokalizasyonları ve TargetP oranları Tablo 14 'de verilmiştir. Li vd. (2015), *DGK*

aktivitesinin önceki çalışmaları esas olarak plazma zarında bulunduğunu bildirmiştir (Kamada ve Muto, 1991; Wissing ve Wagner, 1992; Wissing vd., 1992). Ancak, ilerleyen süreçte yürütülen araştırmalar *DGK* aktivitesini hücre iskeletinde (Tan ve Boss, 1992), çekirdekte (Hendrix vd., 1989) ve kloroplastlarda da (Muller vd., 2000) bulunduğunu göstermiştir. Nitekim, son zamanlarda WoLF PSORT ve CELLO gibi online platformlar kullanılarak genlerinin hücre altı konumları hakkında daha fazla tahmin gerçekleştirilmektedir. Çalışmada, *PvDGK* genlerinin hücrenin çeşitli lokalizasyonlarda dağılım gösterdiği tahmin edilmiştir. Tablo 14'te de belirtildiği gibi *PvDGK1* geni; çekirdek, kloroplast, hücre iskeleti, sitoplazma, mitokondri, plazmid, hücre dışı endoplazmik retikulum, *PvDGK2* geni; çekirdek, kloroplast, hücre iskeleti, *PvDGK3* geni; çekirdek, sitoplazma, kloroplast, hücre iskeletinde, *PvDGK5a* geni; çekirdek, sitoplazma, kloroplast, mitokondri, peroksizom, *PvDGK5b* geni; çekirdek, sitoplazma, plazmid, hücre iskeleti, *PvDGK6* geninin ise mitokondri, kloroplast, çekirdek ve hücre iskeletinde bulunduğu tahmin edilmiştir. *DGK* genleri ile yürütülen çeşitli araştırmalarda; Vaultier vd. (2008) endoplazmik retikulum membranlarında yer alan *AtDGK1* ve *AtDGK2*'nin proteinleri hücre zarına hedeflemek ve birçok sinyal iletim sürecinde rollerinde önemli rol oynayan amino-terminal hidrofobik segmentlere sahip olduğunu bildirmiştir. Li vd. (2015) *MdDGK1*, *MdDGK3* ve *MdDGK7* genlerinin çekirdekte veya endoplazmik retikulum zarında, *MdDGK4*, *MdDGK5* ve *MdDGK8* genlerinin peroksizomlarda, *MdDGK6*'nın da sitoplazmada yer aldığını bildirmiştir. Diğer bir çalışmada, Gu vd. (2018) yedi *ZmDGK*'nin sitoplazma ve çekirdek boyunca çeşitli lokalizasyonlarda dağılım gösterdiğini, *ZmDGK*'lerin bitki gelişiminin farklı hücresel süreçlerine dâhil olabildiğini belirtmiştir. Tang vd. (2020), *Brassica napus*, *Brassica rapa*, and *Brassica oleracea* bitki türlerinde farklı *DGK* genlerinin endoplazmik retikulum, çekirdek, peroksizom, mitokondri, kloroplast ve sitoplazma'da bulunduğunu bildirmiştir. Çalışmada, *BnaDGK1-2*, *BnaDGK2-1*, *BolDGK1-2* ve *BolDGK2-2* hariç küme I'deki çoğu *DGK* geninin, *AtDGK1* ve *AtDGK2*'ye uygun olarak endoplazmik retikulumda bulunduğunu, küme II'deki *DGK* genlerinin ise farklı kısımlarda (örneğin: *DGK3* ve *DGK7*'nin çoğu peroksizomda, *DGK4*'ler kloroplastta, *BnaDGK3-3* ve *BolDGK3-2* mitokondride) yer aldığını, küme III'teki *DGK5* ve *DGK6*'nın sırasıyla peroksizom ve sitoplazmada bulunduğu tahmin edilmiştir. *PvDGK* genlerinin hücre altı yerleşimleri ile ilgili bulguların literatür ile uyumlu olduğunu ve *DGK*'lerin aynı

kümelerde geniş çapta korunduğunu görülmektedir (Li vd., 2015; Gu vd., 2018; Tang vd., 2020). Ayrıca, bitki *DGK*'lerinin çeşitli lokalizasyonu, bitkilerin gelişim süreçlerinde ve abiyotik stres faktörleri altında farklı hücresel süreçlerde aktif olarak yer alabileceğini göstermektedir.

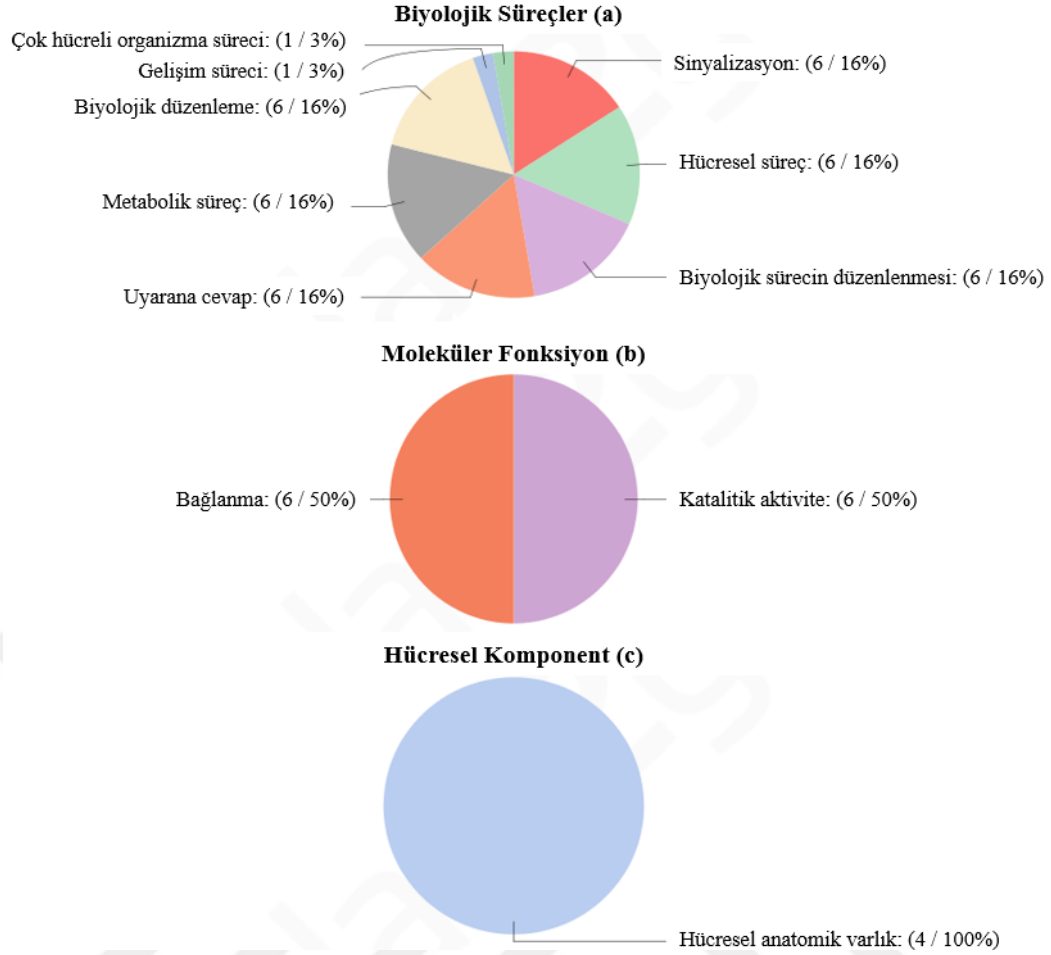
Tablo 14. *PvDGK* genlerinin hücre altı yerleşimleri ve TargetP oranları

Genler	Hücre Altı Lokalizasyon	TargetP
<i>PvDGK1</i>	nucl: 4.5, chlo: 4, cysk_nucl: 3, cyto: 1, mito: 1, plas: 1, extr: 1, E.R.: 1	0,881/2
<i>PvDGK2</i>	chlo: 11, nucl: 2.5, cysk_nucl: 2	0,415/5
<i>PvDGK3</i>	nucl: 8, cyto: 4, chlo: 1, cysk: 1	0,875/3
<i>PvDGK5a</i>	cyto: 8, nucl: 3, chlo: 1, mito: 1, pero: 1	0,827/3
<i>PvDGK5b</i>	nucl: 8, cyto: 3, plas: 2, cysk: 1	0,478/5
<i>PvDGK6</i>	mito: 5, chlo: 4, nucl: 4, cyto: 1	0,801/3

Nucl: çekirdek, *chlo*: kloroplast, *cysk*: hücre iskeleti, *cyto*: sitoplazma, *mito*: mitokondri, *plas*: plasmid, *extr*: hücre dışı, *E.R.*: endoplazmik retikulum, *pero*: peroksizom

4.1.5 Gen ontoloji analizi

PvDGK genlerinin protein dizilerinin fonksiyonel analizi Blast2GO programı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve proteinlerin moleküler fonksiyonları, hücresel bileşenleri ve biyolojik işlevleri belirlenmiştir (Conesa vd., 2005). *PvDGK* proteinlerinin biyolojik süreçleri 8 farklı grupta dağılım göstermiştir. Bunlar; biyolojik düzenlemede, sinyalizasyonda, metabolik ve hücresel süreçlerde, biyolojik sürecin düzenlenmesinde, gelişim sürecinde, biyolojik düzenleme, gelişim süreci ve çok hücreli organizma süreçleridir. Proteinlerin moleküler fonksiyonlarının % 50 bağlanma ve % 50 katalitik aktivite ile ilgili olduğu, hücresel komponent dağılımının ise hücresel anatomik varlık olduğu belirlenmiştir (Şekil 9).



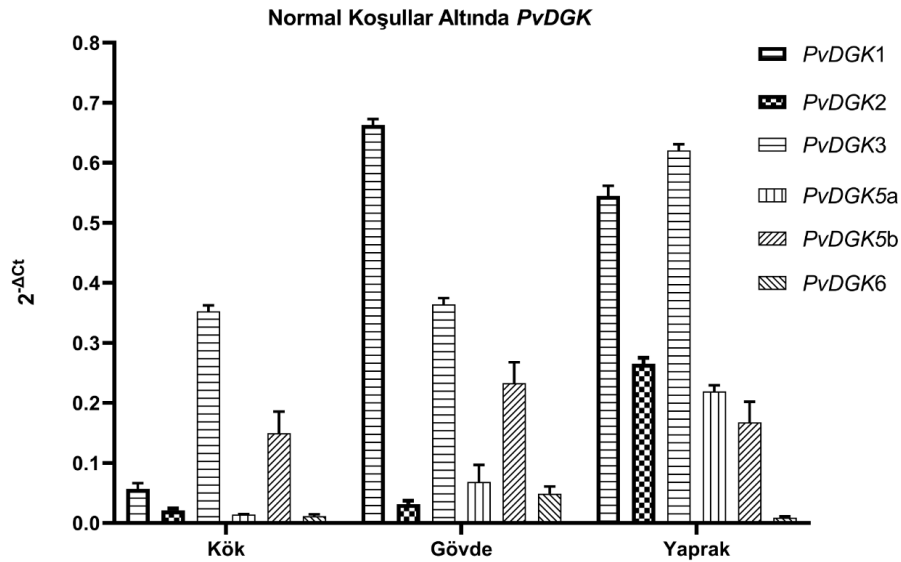
Şekil 9. Fasulye DGK proteinlerinin gen ontoloji analizi sonuçları

4.2 *PvDGK* gen ailesinin normal koşullarda ve tuz stresinde farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi

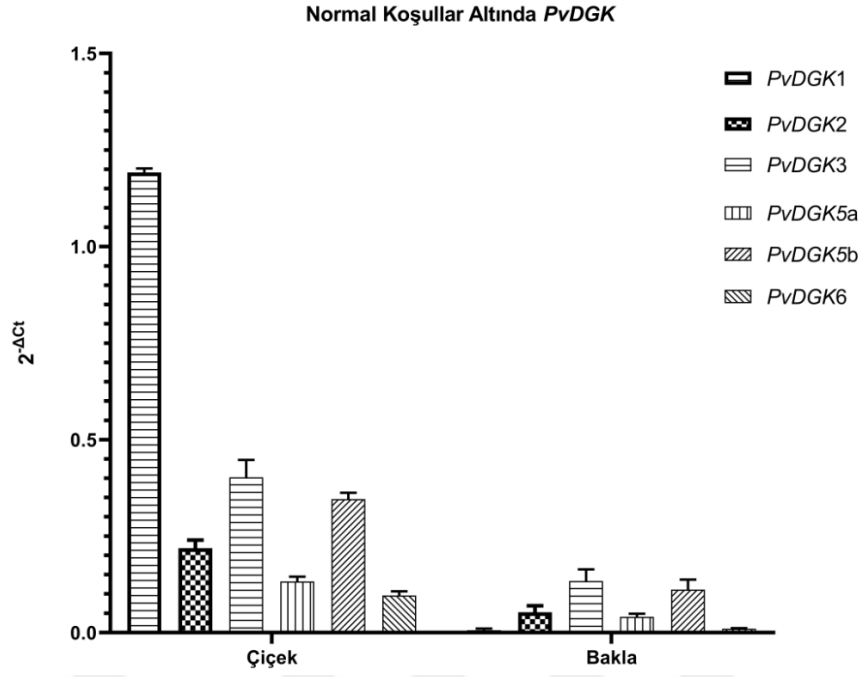
4.2.1 *PvDGK* gen ailesinin normal koşullarda farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi

Fasulyedeki tüm *PvDGKs* genlerinin dokuya özgü ekspresyonunun kök, gövde, yaprak, çiçek ve bakla dokularındaki seviyeleri qRT-PCR ile stres uygulanmamış bitkiler (Çeşit: Zülbiye) üzerinde belirlenmiştir. *PvDGKs* genlerinin normal koşullarda fasulyenin farklı dokularındaki ifade düzeyleri ile ilgili analiz sonuçları Şekil 10 ve Şekil 11’de belirtilmiştir. Analiz sonuçlarına göre tüm genlerin kök, gövde, yaprak, çiçek ve baklada pozitif yönde dikkate değer ifade düzeylerine sahip olduğu belirlenmiştir. Kök dokusunda en fazla ifade düzeyinin *PvDGK3* (0,353 kat) geninden elde edildiği ve bu geni *PvDGK5b* (0,149 kat) ve *PvDGK1* (0,057 kat) genlerinin takip ettiği belirlenmiştir. İstatistiki analizler sonucunda *PvDGK3*’ün *PvDGK1*, *PvDGK2*, *PvDGK5a* ve *PvDGK6* genleri ile arasında % 1 düzeyinde önemli farklılık olduğu belirlenmiştir. Gövde dokusunda

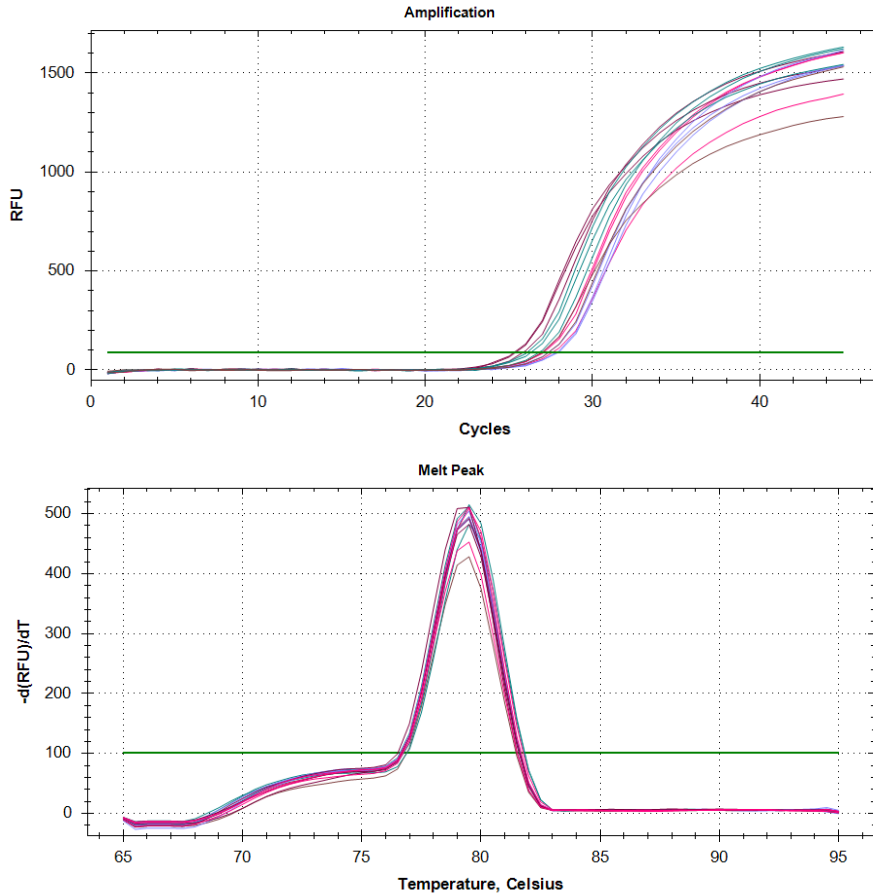
en fazla ifade düzeyine sırasıyla *PvDGK1* (0,663 kat), *PvDGK3* (0,365 kat) ve *PvDGK5b* (0,233 kat) genleri sahip olmuştur. En az ifade düzeyi ise *PvDGK2* geninden elde edilmiştir. *PvDGK* genlerinin yaprak dokusundaki ifade düzeyleri göz önüne alındığı diğer dokulara göre genlerin çoğunun pozitif yönde eksprese olduğu görülmektedir. Yaprak dokusunda en fazla artışın *PvDGK3* (0,621 kat) geninden elde edildiği ve bu geni *PvDGK1* (0,545 kat) geninin takip ettiği ve istatistiksel olarak iki gen arasındaki farkın önemli olmadığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, *PvDGK2* ve *PvDGK5a* genlerinin sırasıyla 0,265 ve 0,219 kat artış gösterdiği, *PvDGK6* geninin ise en az ifade düzeyine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çiçek dokusunda en fazla *PvDGK1* geni (1,192 kat) eksprese olurken en az *PvDGK6* (0,096 kat) geninin eksprese olduğu belirlenmiştir. *PvDGK1* geninin diğer tüm *PvDGKs* genleri ile arasındaki farkın oldukça önemli olduğu (% 1) belirlenmiştir. Bakla dokusunda en fazla ifade düzeyine *PvDGK3* geni (0,134 kat) sahip olurken *PvDGK1* ve *PvDGK6* genlerinin ifade düzeylerindeki artışın oldukça az olduğu belirlenmiştir. Tüm dokular göz önüne alındığında *PvDGK3* geninin ifade düzeyinin yüksek olduğu, *PvDGK6*'nın ise en az ifade düzeyine sahip olduğu görülmektedir. *PvDGK3* ve *PvDGK6* genlerinin farklı dokulardaki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri Şekil 12 ve Şekil 13 'de verilmiştir.



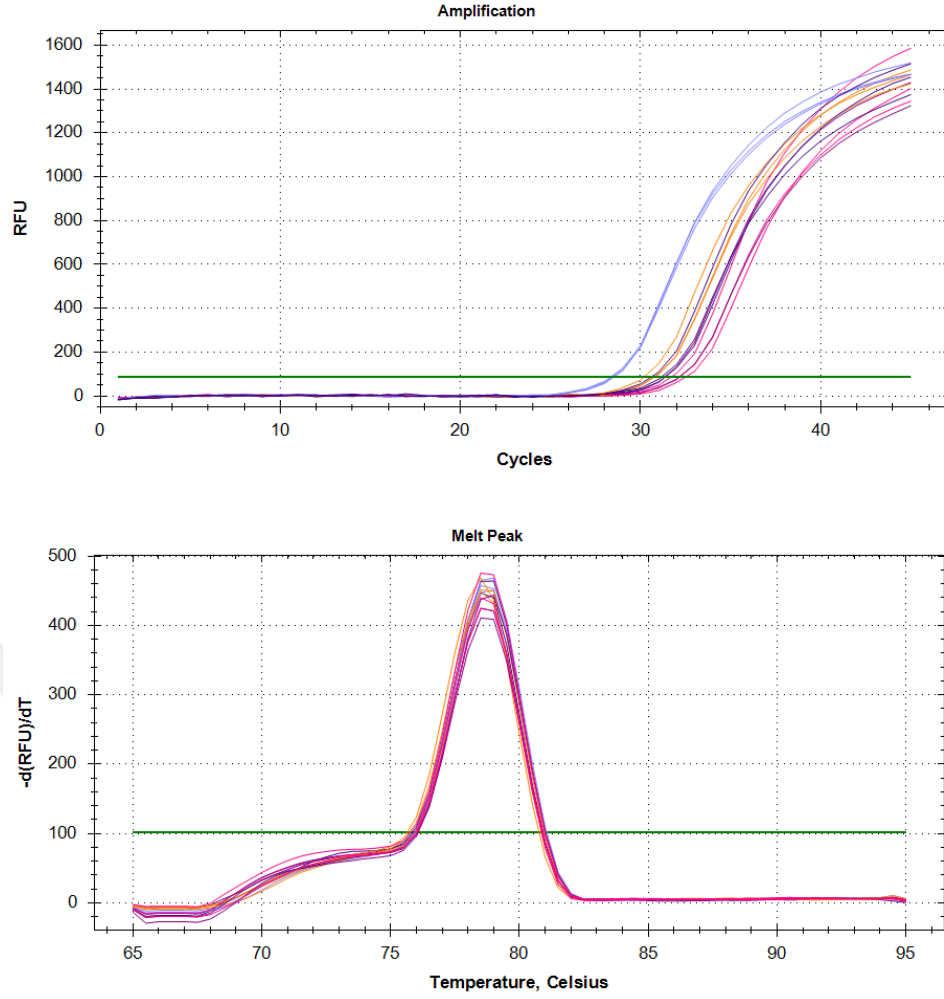
Şekil 10. *PvDGKs* genlerinin kök, gövde ve yaprak dokusundaki ifade düzeyleri.
(Referans gen olarak actin kullanılmıştır)



Şekil 11. *PvDGKs* genlerinin çiçek ve bakla dokusundaki ifade düzeyleri.



Şekil 12. Normal koşullar altında *PvDGK3* geninin kök, gövde, yaprak, çiçek ve bakla dokulardaki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri



Şekil 13. Normal koşullar altında *PvDGK3* geninin kök, gövde, yaprak, çiçek ve bakla dokulardaki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri

Fan vd. (2013) iki doku ifadesi arasındaki benzerlikler ve farklılıklarla ilgili önemli endekslerin, genlerin kök ve yaprak gelişimi sırasında farklı aşamalarda yer almasından kaynaklandığını ileri sürmüştür. Nitekim Li vd. (2015), *MdDGK1*, *MdDGK2*, *MdDGK4*, *MdDGK5*, *MdDGK7* ve *MdDGK8*'in sistematik ifadesini izlemek için qRT-PCR gerçekleştirmişlerdir. Yapraklarda ifade edilmedikleri için hem *MdDGK3* hem de *MdDGK6*'yı analizden çıkarmışlardır. Altı genin tümünün, kök, gövde, yaprak, çiçeklerde ve meyvede bulunduğunu ve eksprese olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada genel olarak tüm genlerin gövde dokusunda yüksek transkript seviyelerine sahip olduğu, en fazla ekspresyonun *MdDGK2* geninden en az ekspresyonun ise *MdDGK7* geninden elde edildiği belirtilmiştir. Altı genin farklı dokulardaki (yaprak, kök, çiçek ve meyve) ifadeleri arasında önemli bir farkın olmadığı, sadece *MdDGK4*'ün meyvedeki transkript seviyesinin diğer dokulardan farklı olduğu bildirilmiştir. *DGK* genleri ile ilgili yürütülen başka bir çalışmada Gu vd. (2018), mısır bitkisinin farklı dokularında *ZmDGK* genlerinin ekspresyon

profillerini bitkinin vejetatif ve generatif gelişim aşamalarında tespit etmişlerdir. Çeşitli dokularda ve gelişim evrelerinde altı *ZmDGK* geninin (*ZmDGK3* hariç) çoğunun eksprese olduğunu belirlemişlerdir. *ZmDGK7*'nin nispi ekspresyonu, test edilen çoğu dokudaki diğer *ZmDGK* genlerinden daha yüksek bulunmuştur. Carther vd. (2019) soya fasulyesinde *GmDGK5* ve *GmDGK6* dışındaki diğer tüm genlerin yaprak ve kök dokularında mevcut olduğunu ve her iki dokuda da önemli ifade düzeyi gösterdiğini bildirmiştir. Bununla birlikte, hem yaprak hem de kök dokularında *DGK* gen ekspresyon seviyeleri arasında önemli bir karşıtlık olmadığı, ancak *GmDGK2*, *GmDGK4*, *GmDGK7* ve *GmDGK11* genlerinin transkript seviyelerinin her iki dokuda da yüksek olduğu belirtilmiştir. *GmDGK2* ve *GmDGK11* ile aynı kümede yer alan *PvDGK1* ve *PvDGK2*' genlerinin de kök ve yaprak dokusunda eksprese olduğu görülmektedir. Diğer taraftan küme III'de yer alan *GmDGK4* geni ile aynı küme içerisinde gruplanan *PvDGK5b*'nin kök dokusunda *PvDGK3* 'den sonra en yüksek ekspresyon seviyesine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 10). Diğer taraftan yaprak dokusunda *PvDGK5a* ve *PvDGK5b* genlerinin *PvDGK1;2;3* genlerinden sonra en yüksek ekspresyon seviyesine sahip olduğu görülmektedir. Filogenetik ağaçta küme II'de gruplanan *PvDGK3* geninin transkript seviyesinin kök ve yaprak dokularında en yüksek olduğu belirlenmiştir. Nitekim, soya fasulyesinde küme II'de *GmDGK7* ile *PvDGK3*'ün aynı grupta kümелendiği ve ifade düzeylerinin kök ve yaprak dokularındaki oldukça yüksek olduğu görülmektedir (Carther vd., 2019; Şekil 10). Dolayısıyla, genlerin kümелendiği gruplar göz önüne alındığında soya fasulyesi ile fasulyede benzer kümede yer alan genlerin kök ve yaprak dokularında eksprese olduğu ve bulguların literatür verileriyle örtüştüğü görülmektedir. Son zamanlarda yürütülen başka bir çalışmada Tang vd. (2020), kolzada *BnaDGK*'lerin ekspresyon modellerini keşfetmek için farklı gelişim aşamalarında 12 farklı dokuda qRT-PCR analizi gerçekleştirmişlerdir. Genel olarak, *BnaDGK*'lerin çeşitli dokularda farklı seviyelerde ifadeye sahip olduğu belirlenmiştir. *DGK*'lerin işlevini daha fazla incelemek için, *B. rapa* ve *B. oleracea*'nın altı dokusunda *DGK* genlerinin ekspresyon seviyeleri analiz edilmiştir. *B. rapa* ve *B. oleracea*'daki *DGK4* ve *DGK6*'nın ortologları, tüm dokularda düşük veya neredeyse hiç ekspresyonu olmayan *B. napus*'unkilerle aynı ekspresyon modelini sergilemiştir. Bu sonuç, onların psödojen olabileceklerini veya yalnızca belirli gelişim aşamalarında veya özel koşullar altında ifade edilebileceklerini göstermektedir. Çalışmada, *PvDGK*

genlerinin kök, gövde, yaprak, çiçek ve baklada ifade düzeyine sahip olması bitki hücrelerindeki geçici aktivitelerini işaret etmiştir. Bu durum, *DGK* enzimlerinin farklı dokularda PA yolundaki düzenleyici rolünü göstermektedir.

4.2.1 *PvDGK* genlerinin tuz stresine karşı farklı bitki dokularındaki ifade düzeylerinin belirlenmesi

Tuz stresi altında 0, 6, 12 ve 24 saatlerde kök ve yaprak dokularındaki *PvDGK* ifade seviyelerini değerlendirmek için kantitatif qRT-PCR analizi yapılmıştır. Analiz sonuçları, tuz stresi altında tüm *PvDGKs* genlerinin (*PvDGK1*, *PvDGK2*, *PvDGK3*, *PvDGK5a*, *PvDGK5b*, *PvDGK6*) kök ve yaprak dokusunda pozitif yönde ifade düzeyine sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 14; Şekil 17).

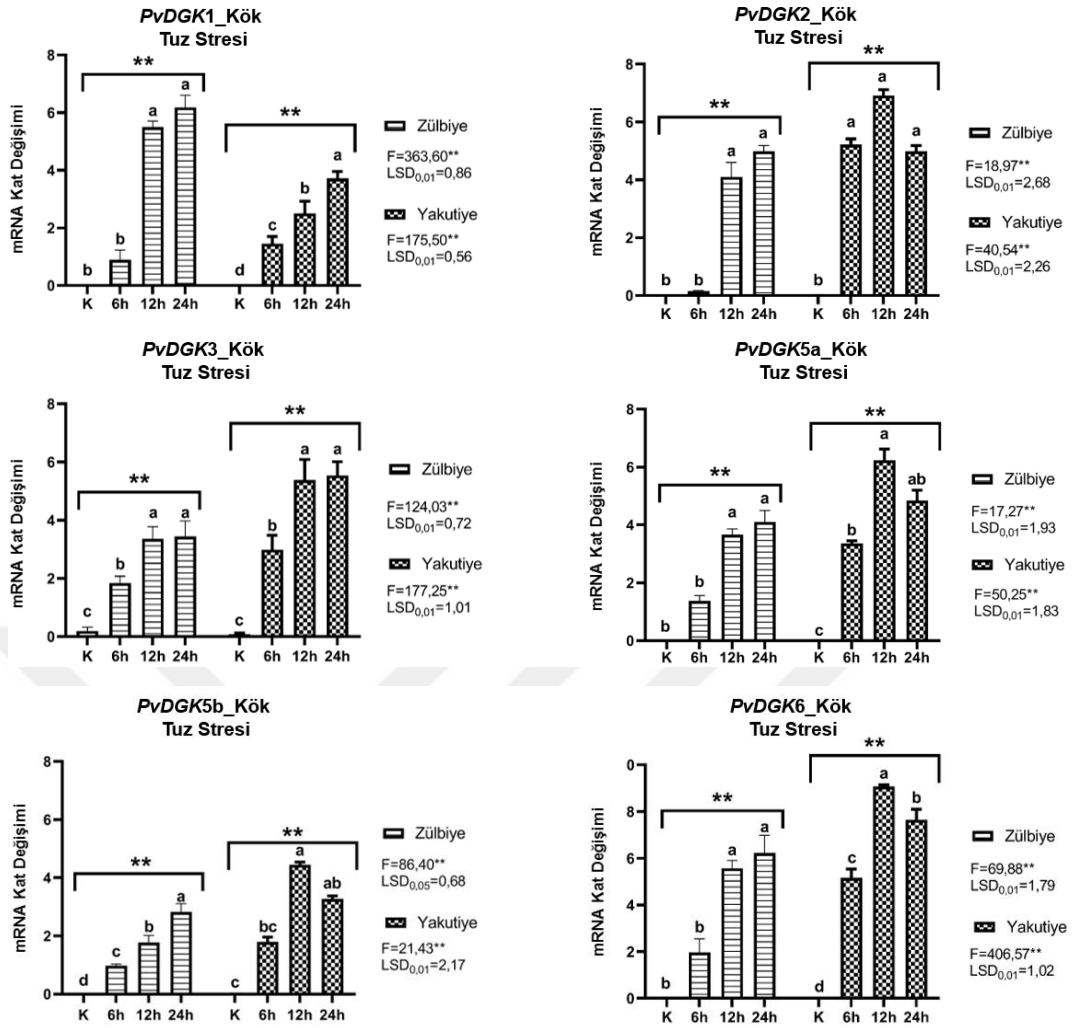
PvDGK1 geninin tuz stresi altında farklı saatlerdeki ifade düzeyleri Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin kök dokusunda istatistiki olarak % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Zülbiye çeşidinde *PvDGK1* geni 12. ve 24. saatlerde sırasıyla 5,50 ve 6,18 katlık ciddi artışlar göstermiştir. Diğer taraftan, Yakutiye çeşidinin 12. ve 24. saatlerinde 2,51 ve 3,72 katlık pozitif yönde artışına sahip olduğu görülmektedir (Şekil 14).

Tuz stresi altındaki fasulye çeşitlerinin kök dokularında, *PvDGK2* geninin kat değişimleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar ($p<0.01$) belirlenmiştir (Şekil 14). Zülbiye çeşidinde *PvDGK2* geni 6, 12 ve 24. saatlerde 0,15, 4,11 ve 4,99 kat yukarı yönde eksprese olmuştur. Kontrol gruba göre 12. ve 24. saatlerdeki kat artışlarının istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı görülmektedir (Şekil 14). Diğer taraftan *PvDGK2* geni Yakutiye çeşidinde 6, 12 ve 24. saatlerde sırasıyla 5,22, 6,91 ve 4,99 katlık artış göstermiştir. $LSD_{0,01}$ testi sonucuna göre Yakutiye çeşidinde 6, 12 ve 24. saatlerdeki kat artışlarının aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 14).

PvDGK3 genine ait mRNA kat değişimlerinde kontrole göre tuz stresi altındaki Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinde istatistiki olarak önemli farklılıklar ($p<0.01$) meydana gelmiştir (Şekil 14; Şekil 15; Şekil 16). Her iki çeşitte de *PvDGK3* geni 6, 12 ve 24. saatlerde yukarı yönlü regülasyon göstermiştir. Tuz muamalesinden 24 saat sonra Zülbiye çeşidinde 3,44 kat Yakutiye çeşidinde ise 5,54 kat pozitif yönde bir regülasyonun olduğu belirlenmiştir. Yapılan çoklu karşılaştırma testi sonucunda her iki çeşidin 12. ve 24. saatlerindeki ifade düzeylerinin aynı gruplarda yer aldığı görülmektedir (Şekil 14).

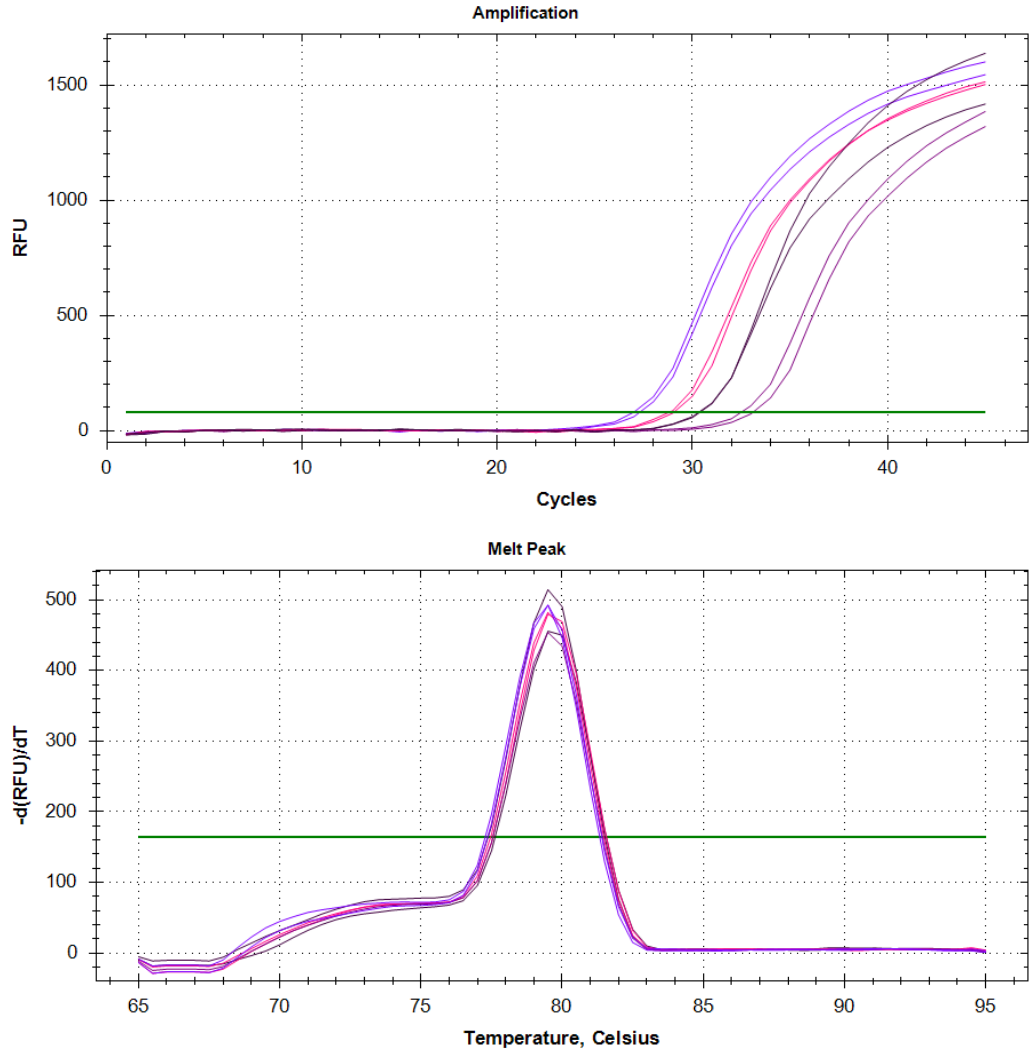
PvDGK5a geninin Zülbiye çeşidine ait kök örneğinde mRNA kat değişimi 6, 12 ve 24. saatlerde sırasıyla, 1,37, 3,66 ve 4,11 kat yukarı yönlü artış göstermiş ve istatistiki olarak önemli ($p<0.01$) bulunmuştur (Şekil 14). Diğer taraftan, Yakutiye çeşidinde *PvDGK5a* geni 6. saatte 3,34 kat pozitif yönde artış göstermiştir. Daha sonra 12. saatte 6,24 katlık artış ile en fazla ifade düzeyine sahip olmuş ve 24. saatte de ifade düzeyinin 4,84 kat seviyesine düştüğü belirlenmiştir. $LSD_{0,01}$ çoklu karşılaştırma testine göre Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin 12. ve 24. saatlerdeki artışın istatistiki olarak anlamlı olduğu ve her çeşit için yapılan analizlerde aynı gruplarda yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 14).

Tuz stresi altında Zülbiye çeşidine ait kök örneğinde *PvDGK5b* geninin mRNA kat değişimleri arasındaki fark % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 14). *PvDGK5b* geninin kat değişimleri 6. saatten itibaren kademeli olarak artış göstermiş ve en yüksek gen ifade düzeyi 2,82 kat artış ile 24. saatte gerçekleşmiştir. Diğer taraftan, Yakutiye çeşidinde regülasyonun önemli ölçüde yukarı yönlü olduğu ve en yüksek ifade düzeyine 12. saatte 4,44 katlık artış ile sahip olduğu, daha sonra 24. saatteki artış miktarının 3,27 kat seviyesine düştüğü tespit edilmiştir. $LSD_{0,01}$ testi gruplandırmasına göre Zülbiye çeşidinde en yüksek regülasyonun görüldüğü 24. saat en önemli grupta yer alırken, Yakutiye çeşidinde ise 12. ve 24. saatlerde ifade düzeylerinin aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 14).

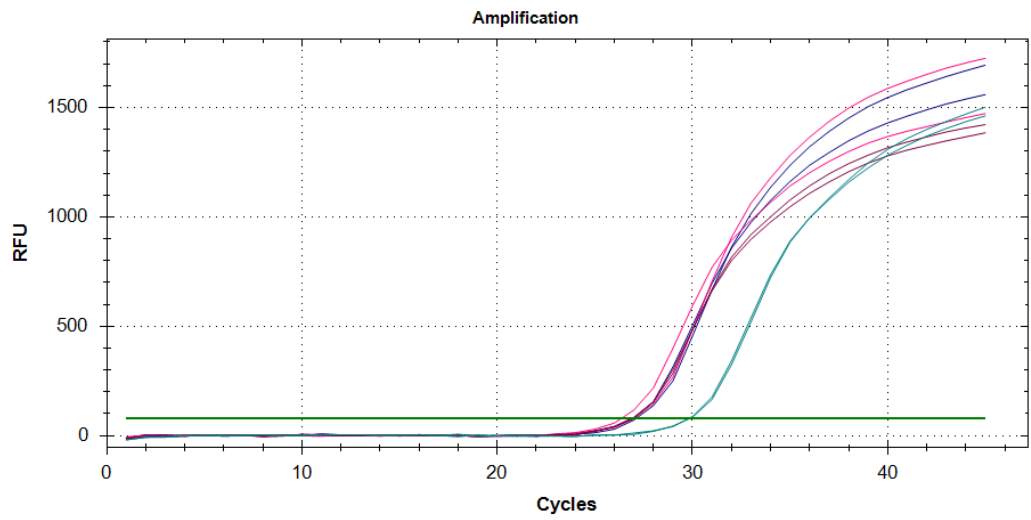


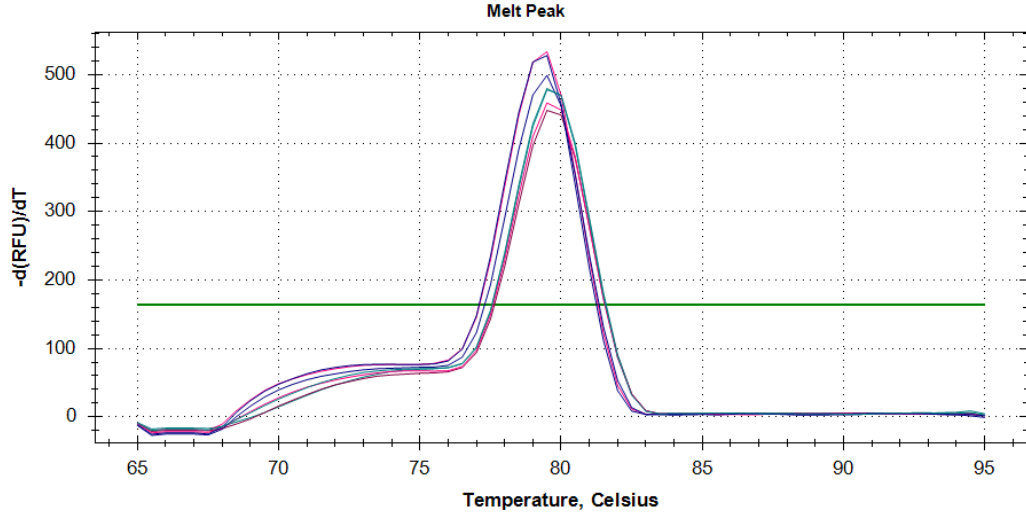
Şekil 14. *PvDGK* genlerinin tuz stresi altında Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin kök dokusundaki ifade düzeyleri.
(Referans gen olarak actin kullanılmış ve analizler log₂ tabanında gerçekleştirilmiştir)

PvDGK6 geninin her iki çeşide ait örneklerde kontrole göre mRNA kat değişimleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar (% 1) meydana gelmiştir (Şekil 14). Zülbiye çeşidinde 6, 12 ve 24. saatlerde *PvDGK6* geninin ifade düzeyinin kontrole göre kademeli olarak sırasıyla 1,97, 5,57 ve 6,22 kat arttığı ve birbirleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan Yakutiye çeşidinde, 12. saatte ifade düzeyinin en yüksek seviyeye (9,08 kat) ulaştığı görülmektedir. LSD_{0,01} çoklu karşılaştırma testine göre Zülbiye çeşidinin 12. ve 24. Saatlerindeki artışın istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 14).



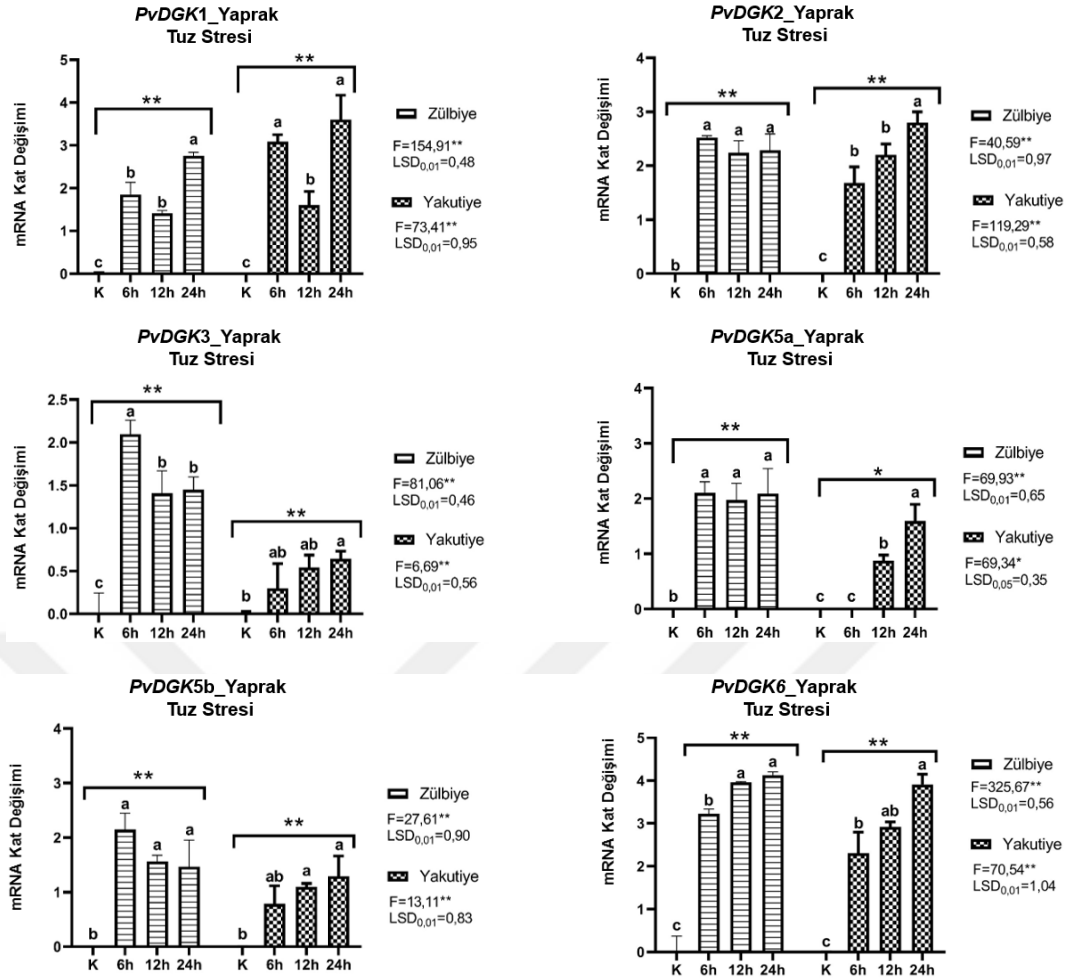
Şekil 15. Tuz stresi altında Zülbiye çeşidinin kök dokusunda *PvDGK3* geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri





Şekil 16. Tuz stresi altında Yakutiye çeşidinin kök dokusunda *PvDGK3* geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri

PvDGK1 geninin tuz stresi altında farklı saatlerdeki ifade düzeyleri Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin yaprak dokusunda istatistiki olarak % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Zülbiye çeşidinde *PvDGK1* geni kontrole göre 6, 12 ve 24. saatlerde sırasıyla 1,85, 1,41 ve 2,76 katlık artışlar göstermiştir. Diğer taraftan, Yakutiye çeşidinin 6, 12 ve 24. saatlerinde 3,09, 1,61 ve 3,60 katlık yukari yönlü ifade düzeyine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 17). Her iki bitki çeşidinde *PvDGK1* geninin ekspresyonunda 12. saatte hafif düşüş görülse de 24. saatte ciddi artışlar gösterdiği belirlenmiştir. Zülbiye çeşidinde 24. saatteki kat artışının istatistiki olarak ön plana çıktığı, 6. ve 12. saatlerdeki kat artışlarının ise aynı grupta bulunduğu belirlenmiştir. Yakutiye çeşidinde ise *PvDGK1* geninin 6. ve 24. saatlerdeki kat artışlarının aynı grupta bulunduğu tespit edilmiştir. *PvDGK1* geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri Şekil 18 ve Şekil 19’da verilmiştir.



Şekil 17. *PvDGK* genlerinin tuz stresi altında Zülbiye ve Yakutiye çeşitlerinin yaprak dokusundaki ifade düzeyleri.

(Referans gen olarak actin kullanılmış ve analizler log₂ tabanında gerçekleştirilmiştir)

Fasulye çeşitlerinin tuz stresi altındaki yaprak dokularında *PvDGK2* geninin ifade düzeyleri arasında önemli farklılıklar ($p < 0.01$) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 17). Zülbiye çeşidinde *PvDGK2* geni 6. saatte 2,52 kat artış ile en yüksek ifade düzeyine sahip olurken, 12. ve 24. saatlerde ise 2,24 ve 2,29 kat yukarı yönde artış göstermiştir. Kontrol gruba göre farklı saatlerdeki kat artışlarının istatistiki olarak önemli olduğu ve aynı grupta yer aldığı görülmektedir (Şekil 15). Diğer taraftan Yakutiye çeşidinin 6, 12 ve 24. saatlerde sırasıyla 1,68, 2,21 ve 2,8 katlık kademeli artışlar gösterdiği belirlenmiştir. $LSD_{0,01}$ testi sonucuna göre Yakutiye çeşidinde 24. saatteki kat artışı en önemli grupta yer alırken 6. ve 12 saatlerdeki kat artış miktarlarının önemli ($p < 0.01$) olduğu ve aynı grupta yer aldığı görülmektedir (Şekil 17).

Tuz stresi altında Zülbiye çeşidine ait yaprak örneğinde *PvDGK3* geninin mRNA kat değişimleri arasındaki fark % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 17). En yüksek gen ifade düzeyi 2,10 kat artış ile 6. saatte gerçekleşmiş, 12 ve 24.

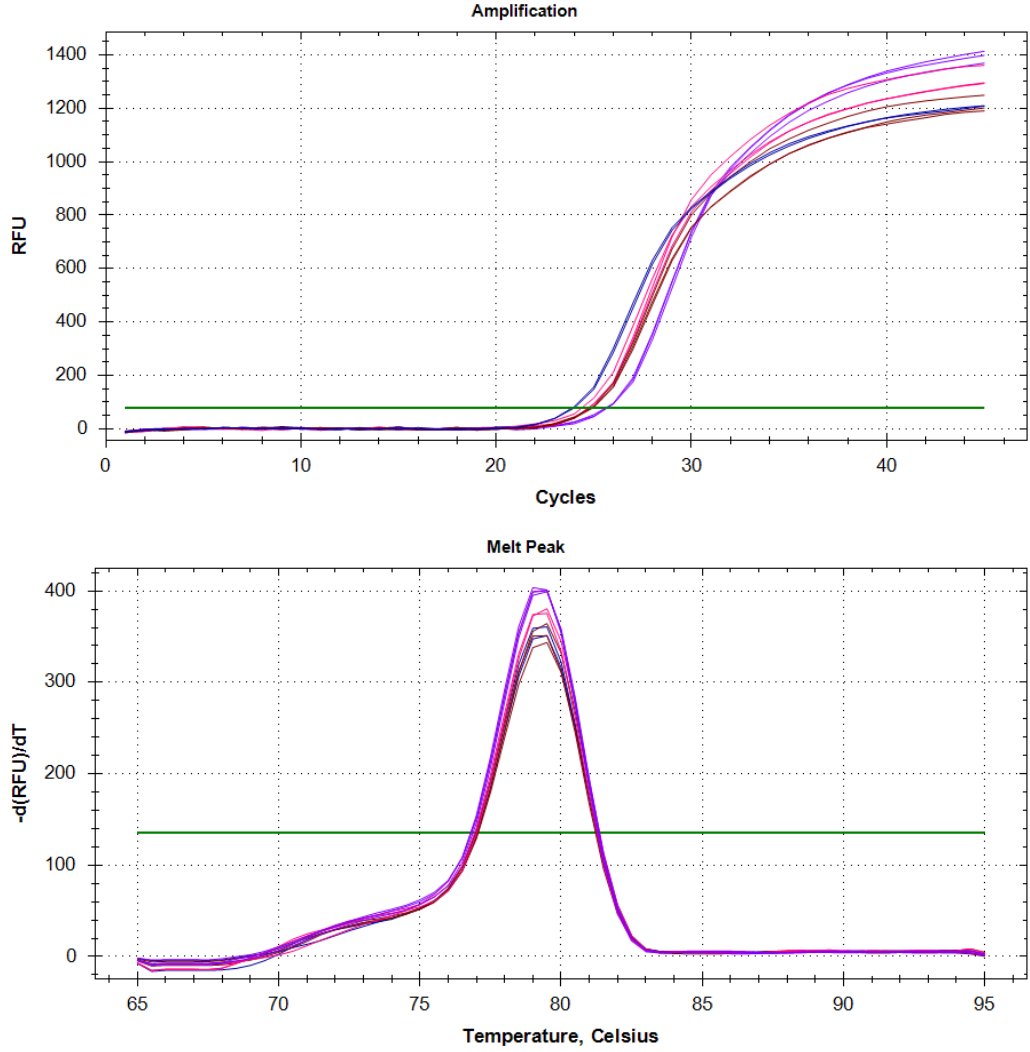
saatlerdeki kat artış miktarlarının ise 1,41 ve 1,45 olduğu ve istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, Yakutiye çeşidinde regülasyonun kademeli olarak yukarı yönde arttığı, en yüksek ifade düzeyinin 1,45 katlık artış ile 24. saatte olduğu, 6, 12 ve 24. saatlerdeki ifade düzeylerinin istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir (Şekil 17). *PvDGK3* geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri Şekil 20 ve Şekil 21’de verilmiştir.

PvDGK5a geninin Zülbiye çeşidine ait yaprak örneklerinde kontrole göre mRNA kat değişimleri arasında istatistiki olarak önemli farklılıkların (% 1) bulunduğu belirlenmiştir. Zülbiye çeşidinde 6, 12 ve 24. saatlerde *PvDGK5a* geninin ifade düzeylerinin sırasıyla 2,10, 1,98 ve 2,09 kat arttığı ve istatistiki olarak aynı grupta yer aldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan Yakutiye çeşidinde, kontrole göre farklı saatlerde *PvDGK5a* geninin ifade düzeyleri arasında % 5 düzeyinde önemli farklılıklar bulunmaktadır. *PvDGK5a* geninin 6. saatte ekspresyon seviyesinin kontrol ile aynı grupta yer aldığı, 12. saatte 0,88 katlık bir artış gösterdiği ve en yüksek kat artışının 1,59 ile 24. saatte olduğu belirlenmiştir. (Şekil 17).

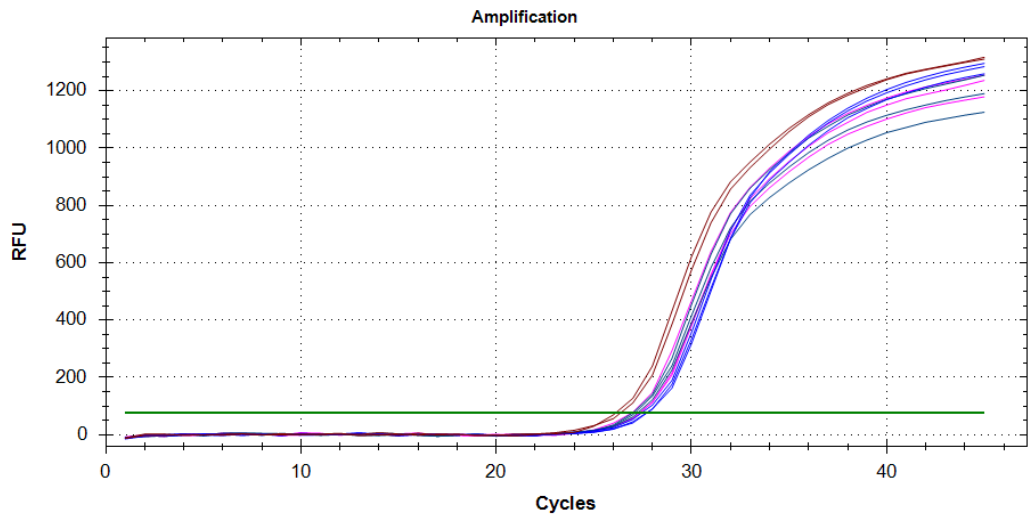
PvDGK5b geninin fasulye çeşitlerinin tuz stresi altındaki yaprak dokularındaki kat değişimleri arasında önemli farklılıklar ($p<0.01$) olduğu belirlenmiştir (Şekil 17). Zülbiye çeşidinde, 6. saatte 2,15 kat ile en yüksek ifade düzeyine sahip olduğu, 12. ve 24. saatlerde ise *PvDGK5b* geninin sırasıyla 1,56 ve 1,47 kat yukarı yönlü regüle olduğu belirlenmiştir. Çoklu karşılaştırma testine göre kontrol grunu dışında farklı saatlerde elde edilen kat artışlarının aynı grupta yer aldığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde, Yakutiye çeşidinde 6 (0,79 kat), 12 (1,09 kat) ve 24. (1,29 kat) saatlerde *PvDGK5b* geninin kat artış miktarları yukarı yönde gerçekleşmiş ve istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır (Şekil 17).

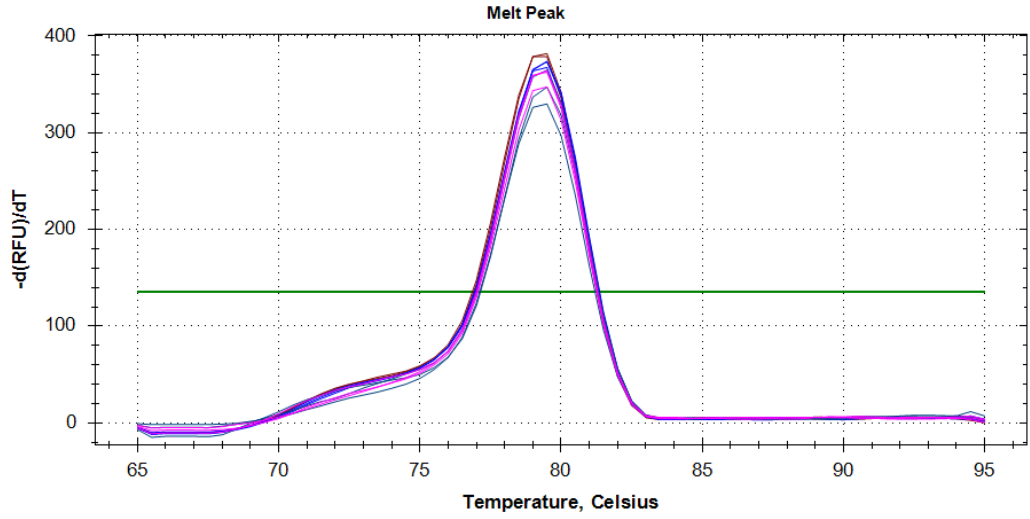
PvDGK6 geninin ekspresyon seviyeleri arasında her iki fasulye çeşidinde de istatistiki olarak % 1 düzeyinde önemli farklılıkların bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 17). Her iki fasulye çeşidinde kat artış miktarının 6, 12 ve 24. saatlerde kademeli olarak arttığı belirlenmiştir. Zülbiye çeşidinde *PvDGK6* geninin ifade düzeyi 6. saatte 3,23 kat, 12. saatte 3,96 kat, 24. saatte ise 4,13 kat yukarı yönde arttığı belirlenmiştir. Diğer taraftan Yakutiye çeşidinde ise *PvDGK6* geni 6. saatte 2,31, 12. saatte 2,92, 24. saatte ise 3,91 kat yukarı yönlü artış göstermiştir. Her iki

fasulye çeşidinde 24. saatte *PvDGK6* geninin kat artış miktarının en yüksek seviyeye ulaştığı belirlenmiştir.

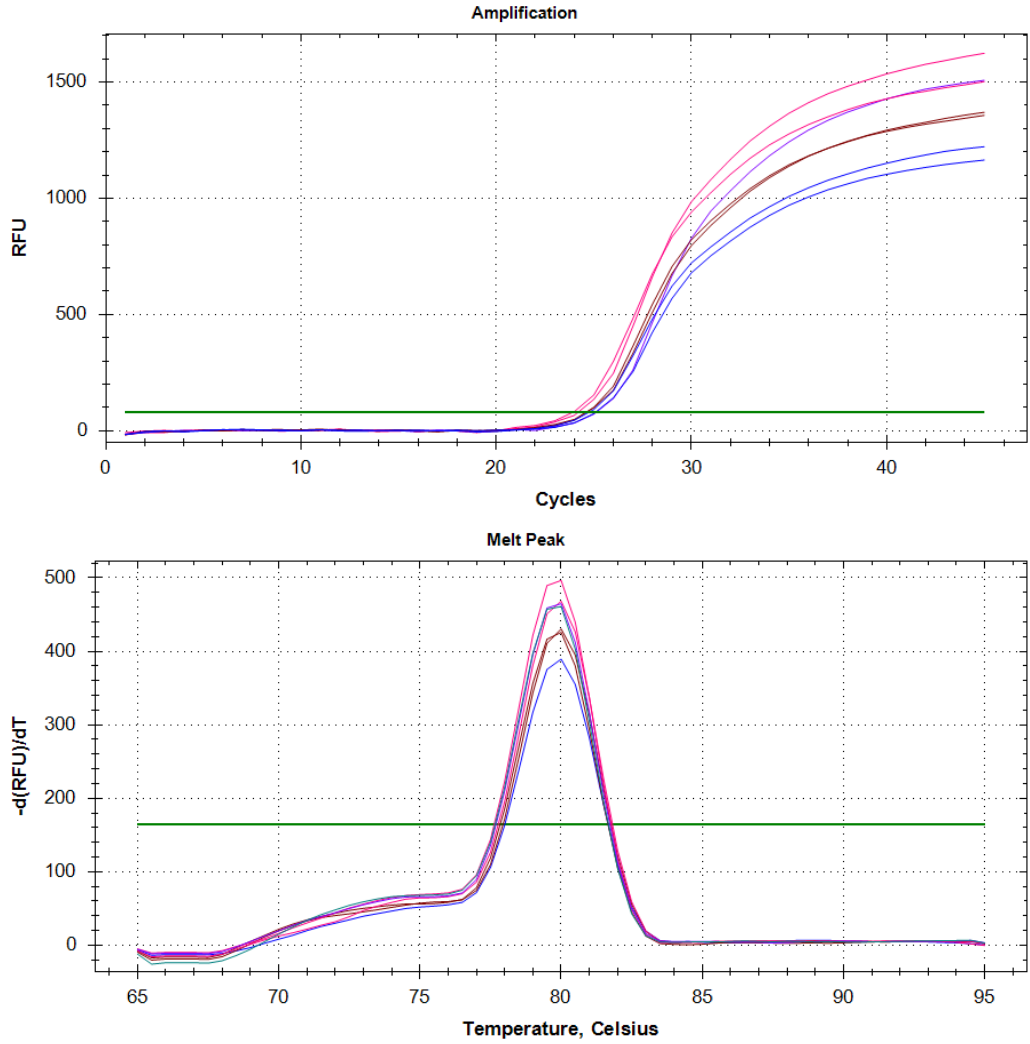


Şekil 18. Tuz stresi altında Zülbiye çeşidinin yaprak dokusunda *PvDGK1* geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri

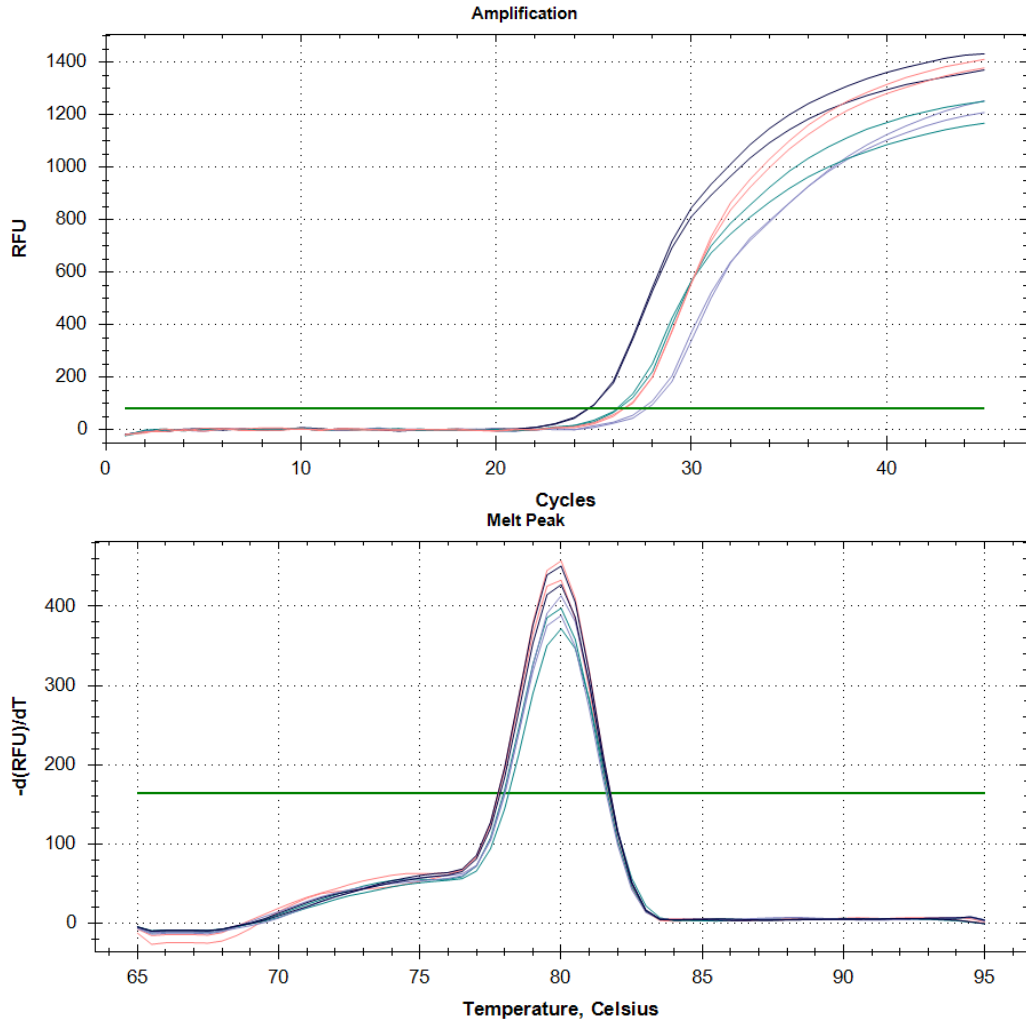




Şekil 19. Tuz stresi altında Yakutiye çeşidinin yaprak dokusunda *PvDGK1* geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri



Şekil 20. Tuz stresi altında Zülbiye çeşidinin yaprak dokusunda *PvDGK3* geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri



Şekil 21. Tuz stresi altında Yakutiye çeşidinin yaprak dokusunda *PvDGK3* geninin 0, 6, 12 ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri

Bitkilerin gelişim süreçleri boyunca çevresel zorluklara karşı savunmasız durumda olduğu bildirilmiştir (Nadeem vd., 2021). Önemli bir lipid sinyal molekülü olan PA, bitki hücre zarlarında düşük olmasına rağmen biyotik ve abiyotik stres yanıtlarında önemli rol oynamaktadır (Walti vd., 2002; Arisz vd., 2009; Gu vd., 2018). Bitkilerde, protein fosfataz ABI1, protein kinazlar CTR1 ve PDK1 ve mitojenle aktive olan protein kinaz MPK6 dahil olmak üzere bir dizi PA bağlayıcı protein tanımlanmıştır (Arisz vd., 2009; Hou vd., 2016). PA-ABI bağlanmasının, ABA aracılı sinyalleme yoluyla abiyotik strese karşı stoma kapanma tepkisinde yer aldığı öne sürülmüştür (Hou vd., 2016; Zhang vd., 2004). Bazı PA türleri, tuza yanıt olarak MPK6'yı bağlayabilir ve aktive edebildiği ve mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) kaskadlarının Na kanalı SOS1 aktivitesi ile birleştirilmesinde PA türlerinin rol oynadığını göstermektedir (Yu vd., 2010). PLD'ler ve PLC'ler dahil olmak üzere PA üretim yollarında yer alan genler,

Arabidopsis ve diğ er bazı bitki türlerinde karakterize edilmiş ve abiyotik stres tepkilerine katılımları araştırılmıştır (Hong vd., 2016). Ayrıca, DGK yolundan türetilen PA'in yağ asidi bileşimi ve farklı 32Pi-etiketleme özelliklerine dayalı olarak PLD'den türetilen PA'dan ayırt edilebildiği Arisz vd. (2009) tarafından bildirilmiştir. Ancak, belirli stresler altında hangi yolun izlendiğinin belirsizliğini koruduğu belirtilmiştir (Li vd., 2015). Hızlı ve geçici PA oluşumuna ozmotik stresin yol açabildiği açıklanmıştır (Arisz vd., 2009). Günümüzde PA işlevine artan odaklanma nedeniyle, birçok PI-PLC, NPC, DGK ve PLD enzimi artık karakterize edilmiş ve bireysel izoformlara belirli fizyolojik fonksiyonlar atanmıştır. Escobar-Sepulveda vd. (2017), bazı *DGK* genlerinin *Arabidopsis*, buğday ve arpada NaCl tarafından baskılandığını ve tuz stresi ile PLC/DGK yolu arasında önerilen bağlantının daha fazla araştırılması gerektiğini belirtmiştir. Bununla birlikte, farklı bitki gruplarındaki *DGK* gen ailesinin tanımlanması, farklı dokulardaki ekspresyon seviyeleri ve işleyişi hakkındaki araştırmalar günümüzde hala yetersiz durumdadır. Bu kapsamda, abiyotik stres faktörlerinden tuz ve soğuk stresine karşı fasulye *DGK* genlerinin ekspresyon seviyeleri ilk kez bu çalışma ile incelenmiştir. Çalışmada, tuz stresi altındaki Zülbiye ve Yakutiye  eşitlerinin kök dokusunda tüm *PvDGK* genlerinin stres uygulanmasından sonraki saatlerde yukarı yönlü eksprese olduğu belirlenmiştir. Zülbiye  eşidinde, kök dokusunda tüm *PvDGK* genlerinin tuz stresi altında ifade düzeyinin kademeli olarak arttığı ve 24. saatte en yüksek gen ekspresyon seviyesine sahip olduğu görülmektedir. Diğ er taraftan, Yakutiye  eşidinin kök dokusunda; *PvDGK2*, *PvDGK5a*, *PvDGK5b*, *PvDGK6* genleri 12. saatte, *PvDGK1* ve *PvDGK3* genleri ise en yüksek ifade düzeyine 24. saatte sahip olmuşlardır. Carther vd. (2019), 110 mM tuz stresi altında soya fasulyesindeki tüm *GmDGK*'lerin (*GmDGK2* hariç) köklerde muamelenin sonunda (9 saat ve 12 saat)  nemli ölçüde yukarı regüle olduğunu ve *GmDGK10*'un 6. saatteki ekspresyonunda 5,3 katlık rekor artışın olduğunu bildirmiştir. Diğ er taraftan, yaprak dokularında, küme III'teki *GmDGK8* ve *GmDGK9* genlerinin, tuz muamelesinden 1 saat sonra sırasıyla 6,6 ve 9,8 kat daha yüksek ifadelere sahip olduğu belirtilmiştir. Tuz stresi altındaki Zülbiye ve Yakutiye  eşitlerinin yaprak dokusunda tüm *PvDGK* genlerinin stres uygulanmasından sonraki saatlerde yukarı yönlü eksprese olduğu belirlenmiştir. Tuz stresi altında Zülbiye  eşidinin yaprak dokusunda en yüksek gen ekspresyon seviyesine 6. saatte *PvDGK2*, *PvDGK3*, *PvDGK5a*, *PvDGK5b* genlerinin sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *PvDGK1* ve *PvDGK6* genlerinin de

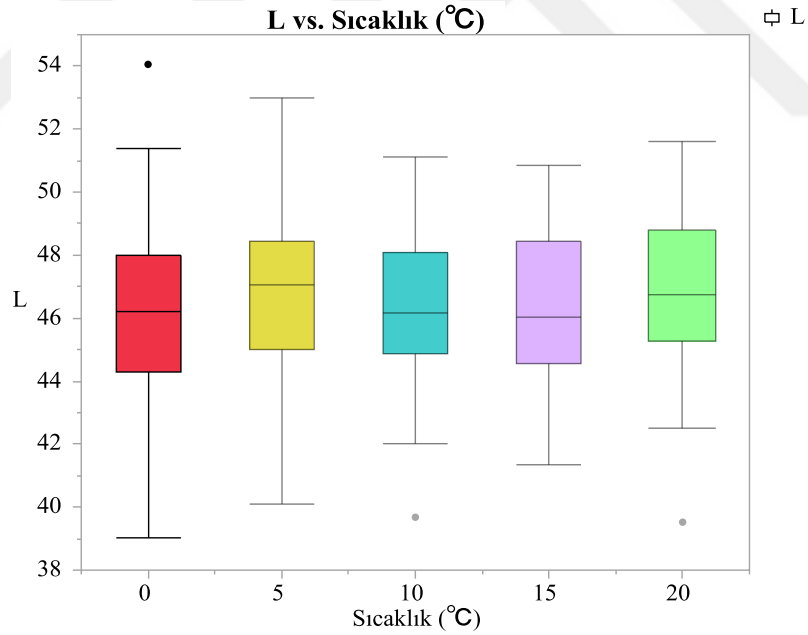
24. saatte yaprak dokusunda en fazla eksprese olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, Yakutiye çeşidinde; tüm *PvDGK* genleri 24. saatte yaprak dokusunda en yüksek ifade düzeyine sahip olmuşlardır. Yaprak dokusunda, *PvDGK3*, *PvDGK5a*, *PvDGK5b* ve *PvDGK6* genlerinin Zülbiye çeşidinde Yakutiye çeşidine göre daha fazla gen ekspresyon seviyesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Tuz stresi altında mısır bitkisinde küme I'de yer alan *ZmDGK1* ve *ZmDGK5* genlerinin sırasıyla 12. saatte ve 24. saatte yukarı yönlü eksprese olduğu, *ZmDGK2*, *ZmDGK3* ve *ZmDGK4*'ün ise tüm örneklem zamanlarında aşağı yönlü eksprese olduğu bildirilmiştir (Gu vd., 2018). Carther vd. (2019), 110 mM tuz stresi altında soya fasulyesindeki yaprak dokularında, küme III'teki *GmDGK8* ve *GmDGK9* genlerinin, tuz muamelesinden 1 saat sonra sırasıyla 6,6 ve 9,8 kat daha yüksek ifadelere sahip olduğunu belirtmiştir. *PvDGK* genlerinin tuz stresine karşı göstermiş olduğu ekspresyon seviyeleri arasındaki varyasyon, genlerin hem yapraklarda hem de köklerdeki metabolik aktivitelerini ve potansiyel rollerini yansıtmaktadır. Ayrıca, tuz stresine yanıt olarak kök dokularındaki tüm *PvDGK*'lerin yukarı regülasyonu, fasulyede tuz stresi altında yanıl kök gelişimindeki destekleyici rollerini ortaya koymaktadır (Peters vd., 2014).

4.3 Yerel kuru fasulye genotiplerinin soğuk stresine tolerans durumlarının fenotipik düzeyde belirlenmesi

Ülkemizin Batı Anadolu Bölgesi'nden toplanan yerel fasulye populasyonlarından 2016 yılında 115R042 nolu TÜBİTAK projesi kapsamında morfolojik karakterizasyonu yapılan ve teksel seleksiyon yöntemi ile selekte fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde yaprak rengi ölçümleri (*L*, *a*, *b*, *chroma* ve *Hue*) klorofil ölçümleri (*SPAD*), klorofil floresan ölçümleri (F_v/F_m ve PI_{abs}), nisbi elektrolit sızıntı testinin (*NES*) ve soğuk zararının görsel değerlendirmesi gerçekleştirilmiştir. Yaprak rengi ölçümleri, klorofil ölçümleri (*SPAD*) ve klorofil floresan ölçümleri (F_v/F_m ve PI_{abs}), 0 °C, 5 °C, 10 °C, 15 °C ve kontrol grubundaki fasulye genotiplerinde gerçekleştirilirken, nisbi elektrolit sızıntı (*NES*) ise 0 °C, 5 °C ve kontrol grubundaki fasulye genotiplerinde belirlenmiştir. Soğuk zararının görsel değerlendirmesi ise 0 °C ve 5 °C'deki fasulye genotiplerinde kontrol grubu ile karşılaştırılarak yapılmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda fasulye genotiplerinden her özellik için elde edilen değerler (*a* özelliği hariç) genotip x çevre (sıcaklık) interaksyonuna tabi tutulmuştur. Bununla birlikte, elde edilen tüm değerler her sıcaklık için kendi içerisinde varyans analizine tabi

tutulmuş ve ortalamalar arasındaki fark $LSD_{0,01}$ çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Ayrıca, özelliklerin birbirleri arasındaki ilişkilerin seviyesini belirlemek için 0 °C, 5 °C ve kontrol gruplarından elde edilen data lar kullanılarak korelasyon analizi yapılmıştır. Fasulye genotiplerinde soğuk stresine karşı genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde incelenen özelliklerin veri seti kullanılarak bir boyut indirgeme yöntemi olan temel bileşenler analizi (TBA) yapılmıştır. Ayrıca, çok değişkenli bir veri kümesinin detaylı olarak tanımlamasının yanında değişkenler arasındaki ilişkilerin tespiti ve gözlem birimlerinin sınıflandırılmasına olanak sağlayan biplot analizi gerçekleştirilmiştir.

Yerel fasulye genotiplerinde farklı sıcaklarda ölçülen *L* (lightness) değerlerinin box plot analizi ve genotip x çevre interaks iyonuna ait sonuçlar sırasıyla Şekil 22 ve Tablo 15’te belirtilmiştir. Bununla birlikte, farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinde elde edilen *L* değerlerinin varyans analizleri Ek 4’te, *F* değerleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve $LSD_{0,01}$ çoklu karşılaştırma testlerine ait sonuçlar ise Tablo 16’da verilmiştir.



Şekil 22. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki *L* değerlerinin box plot analizi

Tablo 15. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *L* değerlerinin genotip x çevre interaksyonu

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	16,26	1,83	0,62
Çevre	4	10,09	1,14	0,80
Genotip	60	56,46	6,36	2,81
Gen*Çevre	240	11,22	1,26**	6,28
Hata	608	8,87		
Toplam	914			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinde belirlenen *L* değerleri arasındaki genotip x çevre interaksyonu % 1 düzeyinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($F=1,26^{**}$, $LSD_{0,01}=6,28$). Her sıcaklık derecesi için yapılan varyans analizlerinde fasulye genotipleri arasında istatistiki olarak oldukça önemli (% 1) farklılıklar tespit edilmiştir (Tablo 16). Kontrol grubunda; ortalama, minimum ve maksimum *L* değerleri sırasıyla 46,85, 39,52 (BLCK-4) ve 51,59 (DZC-2) olarak belirlenmiştir. Soğuk uygulamasında, 5 °C’de en yüksek *L* değeri BLCK-7 genotipinde elde edilirken, en düşük *L* değeri ise BLKSR-21 genotipinden elde edilmiştir. 0 °C’deki en yüksek *L* değeri 54,06 ile ÇNK-8 genotipinde, en düşük *L* değeri ise 39,02 ile YLV-14 genotipinde tespit edilmiştir. Ayrıca, 23 fasulye genotipinin 0 °C’de soğuk stresine toleranslı olduğu belirlenen kontrol genotiplerinden (HK-26 ve HK-57) yüksek olduğu ve ÇNK-2,8,9; BRS-8,10,21; BLKSR-4,8,22,30; DZC-2;9 ve YLV-27 genotiplerinin 0 °C’de tescilli çeşitlerden ve kontrol genotiplerden daha yüksek *L* değerine, DZC-3,4,7; BRS-20,23, ve YLV-14 genotipinin ise daha düşük *L* değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla, yüksek *L* değerine sahip bu genotiplerin yapraklarındaki koyu renk oranının soğuk stresine bağlı olarak ciddi oranda azaldığı görülmektedir.

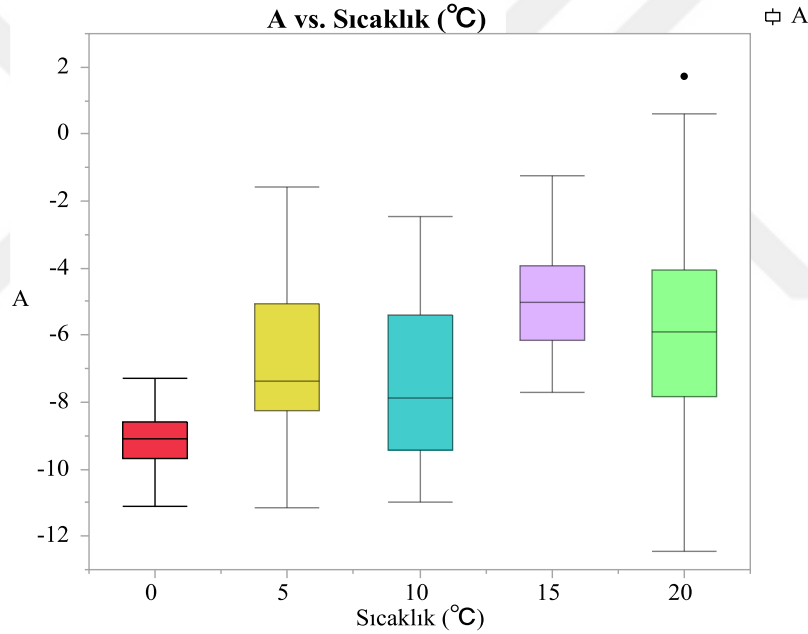
Tablo 16. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *L* değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması

Genotip	0°C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
YL V-9	48,15 a-g	49,28 a-f	46,29 a-j	43,48 ghı	49,88 a-f
YL V-14	39,02 ı	45,06 c-ı	42,53 ıjk	44,11 d-ı	46,17 a-j
YL V-16	46,50 b-ı	47,07 a-ı	45,53 a-j	43,23 ghı	47,34 a-j
YL V-20	44,56 c-ı	40,62 hı	43,93 e-k	45,43 a-ı	45,53 b-j
YL V-22	43,36 b-ı	47,73 a-h	48,42 a-h	45,81 a-ı	49,44 a-g
YL V-23	46,99 a-g	46,28 a-ı	44,08 e-k	48,34 a-h	49,41 a-g
YL V-27	44,97 abc	49,10 a-f	48,67 a-g	49,78 a-e	51,00 ab
YL V-28	45,42 b-ı	47,16 a-ı	45,78 a-j	44,62 b-ı	47,38 a-j
YL V-31	43,75 c-ı	47,05 a-ı	47,58 a-j	47,45 a-h	49,30 a-h
YL V-32	44,27 b-ı	46,04 a-ı	44,88 c-k	44,23 b-ı	48,00 a-j
DZC-2	44,27 a-e	48,99 a-g	48,30 a-h	49,96 abc	51,59 a

Tablo 16. Devam.

Genotip	0°C	5°C	10°C	15°C	Kontrol
DZC-3	39,45 h-ı	42,23 f-ı	46,47 a-j	43,85 f-ı	45,82 b-j
DZC-4	42,62 d-ı	46,68 a-ı	43,84 e-k	45,08 a-ı	47,81 a-j
DZC-7	40,86 ghı	43,15 e-ı	45,83 a-j	43,86 f-ı	42,51 jk
DZC-9	49,11 a-e	49,31 a-f	50,20 a-d	48,96 a-g	45,34 c-j
BRS-3	46,34 b-ı	48,22 a-g	50,11 a-d	47,40 a-h	48,94 a-ı
BRS-4	46,00 b-ı	49,77 a-e	50,44 abc	49,86 a-d	50,83 abc
BRS-5	46,53 b-ı	47,63 a-h	46,41 a-j	44,03 e-ı	44,57 f-k
BRS-8	50,10 a-d	52,58 ab	51,13 a	50,62 a	51,02 ab
BRS-9	45,33 b-ı	48,39 a-g	48,48 a-g	49,53 a-f	50,30 a-e
BRS-10	50,50 abc	51,04 a-d	50,91 ab	50,85 a	50,48 a-d
BRS-14	46,04 b-ı	49,54 a-e	51,13 a	50,04 ab	49,88 a-f
BRS-19	45,80 b-ı	48,02 a-g	49,36 a-e	44,21 c-ı	46,25 a-j
BRS-20	41,15 f-ı	44,38 c-ı	47,01 a-j	46,85 a-ı	47,80 a-j
BRS-21	51,39 ab	48,42 a-g	51,11 a	48,60 a-g	47,34 a-j
BRS-22	48,28 a-g	49,57 a-e	47,30 a-j	44,53 b-ı	44,97 d-k
BRS-23	41,95 e-ı	47,28 a-h	45,71 a-j	45,79 a-ı	47,02 a-j
BRS-24	47,75 a-g	51,25 abc	50,18 a-d	49,32 a-f	49,32 a-h
BRS-27	43,42 c-ı	40,65 hı	46,20 a-j	42,61 h-ı	43,43 ijk
BLCK-3	47,76 a-g	46,17 a-ı	46,77 a-j	44,80 b-ı	43,87 h-k
BLCK-4	44,09 b-ı	46,44 a-ı	45,30 b-k	43,28 ghı	39,52 k
BLCK-5	47,34 a-g	52,99 a	47,17 a-j	46,04 a-ı	46,57 a-j
BLCK-7	45,92 b-ı	47,66 a-h	45,12 c-k	41,36 ı	44,01 g-k
ÇNK-1	46,05 b-ı	46,37 a-ı	43,31 f-k	46,38 a-ı	45,21 d-j
ÇNK-2	48,82 a-e	47,04 a-ı	43,22 g-k	46,02 a-ı	44,03 g-k
ÇNK-4	44,34 b-ı	46,49 a-ı	44,60 d-k	44,57 b-ı	43,49 ijk
ÇNK-6	46,20 b-ı	41,92 ghı	46,09 a-j	45,36 a-ı	48,20 a-ı
ÇNK-7	43,70 c-ı	42,85 e-ı	42,04 jk	42,66 h-ı	45,31 c-j
ÇNK-8	54,06 a	52,29 ab	43,76 e-k	50,79 a	46,49 a-j
ÇNK-9	49,49 a-d	49,38 a-f	42,74 h-k	49,52 a-f	48,88 a-ı
ÇNK-10	44,15 b-ı	45,94 a-ı	45,52 a-j	46,78 a-ı	45,79 b-j
BLKSR-3	46,55 a-h	47,24 a-ı	48,57 a-g	48,37 a-h	48,69 a-ı
BLKSR-4	49,38 a-e	45,49 b-ı	47,84 a-ı	49,32 a-f	45,71 b-j
BLKSR-6	47,71 a-g	45,49 b-ı	46,16 a-j	45,60 a-ı	44,85 e-k
BLKSR-7	47,81 a-g	43,43 e-ı	49,00 a-f	48,51 a-g	48,59 a-ı
BLKSR-8	49,68 a-d	45,55 b-ı	46,06 a-j	48,97 a-g	49,15 a-h
BLKSR-9	49,68 b-ı	43,95 d-ı	45,97 a-j	44,58 b-ı	45,76 b-j
BLKSR-11	45,37 b-ı	47,27 a-h	47,49 a-j	48,30 a-h	46,74 a-j
BLKSR-16	46,22 b-ı	44,40 c-ı	45,24 b-k	46,61 a-ı	47,06 a-j
BLKSR-17	47,35 a-g	44,96 c-ı	45,79 a-j	45,19 a-ı	45,97 b-j
BLKSR-18	46,93 a-h	48,49 a-g	39,68 k	46,96 a-ı	44,74 f-k
BLKSR-21	46,90 a-h	40,10 ı	45,71 a-j	48,18 a-h	48,17 a-ı
BLKSR-22	49,10 a-e	49,56 a-e	46,50 a-j	48,38 a-h	47,50 a-j
BLKSR-30	49,62 a-d	47,11 a-ı	46,65 a-j	44,68 b-ı	43,96 g-k
ZÜLBİYE	48,51 a-f	48,13 a-g	44,25 e-k	43,50 ghı	47,62 a-j
YAKUTİYE	46,03 b-ı	44,76 c-ı	44,89 c-k	47,51 a-h	46,59 a-j
HK-26	42,79 d-ı	44,51 c-ı	43,77 e-k	43,98 e-ı	44,53 f-k
EL-37	45,11 b-ı	45,51 b-ı	45,04 c-k	45,68 a-ı	46,83 a-j
HK-57	46,66 a-h	46,40 a-ı	46,47 a-j	44,71 b-ı	45,66 b-j
58	45,86 b-ı	43,72 e-ı	44,15 e-k	46,16 a-ı	45,59 b-j
115	45,47 b-ı	46,58 a-ı	46,76 a-j	47,49 a-h	44,36 f-k
Minimum	39,02	40,10	39,68	41,36	39,52
Maksimum	54,06	52,99	51,13	50,85	51,59
Ortalama	46,21	46,73	46,38	46,44	46,85
F değeri	2,00**	2,13**	2,55**	2,35**	2,59**
LSD _{0,01}	7,51	7,15	5,70	5,81	5,53

Yerel fasulye genotiplerinde farklı sıcaklarda ölçülen *a* (kırmızılık/yeşillik) değerlerinin box plot analizi, ortalama, minimum ve maksimum değerlerine ait sonuçlar Şekil 23 ve Tablo 17’de verilmiştir. Box plot analizi sonucuna göre fasulye genotiplerinden elde edilen *a* özellik değerlerinin 20 °C ‘den 0 °C’ye doğru kademeli olarak düştüğü ve fasulye genotiplerinin 0 °C’deki *a* özelliği arasındaki varyasyonun düştüğü görülmektedir (Şekil 23). Tanımlayıcı değerler göz önüne alındığında 20 °C, 5 °C ve 0 °C ‘deki *a* değerleri sırasıyla 1,73 ile -12,44, -1,58 ile -11,16 ve -7,30 ile -11,10 arasında değişmektedir. Ortalama *a* değerlerinin kontrol grubunda -6,02’den 5 °C’de -6,67’ye daha sonra da 0 °C’de -9,14’e düştüğü belirlenmiştir. 5 °C ve 0 °C’lerdeki en yüksek *a* değerleri ÇNK-7 ve BLKS-11 genotiplerinde, en düşük *a* değerleri ise ÇNK-9 ve BRS-10 genotiplerinden elde edilmiştir.



Şekil 23. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki *a* değerlerinin box plot analizi

Tablo 17. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *a* değerlerinin ortalama, minimum ve maksimum değerleri

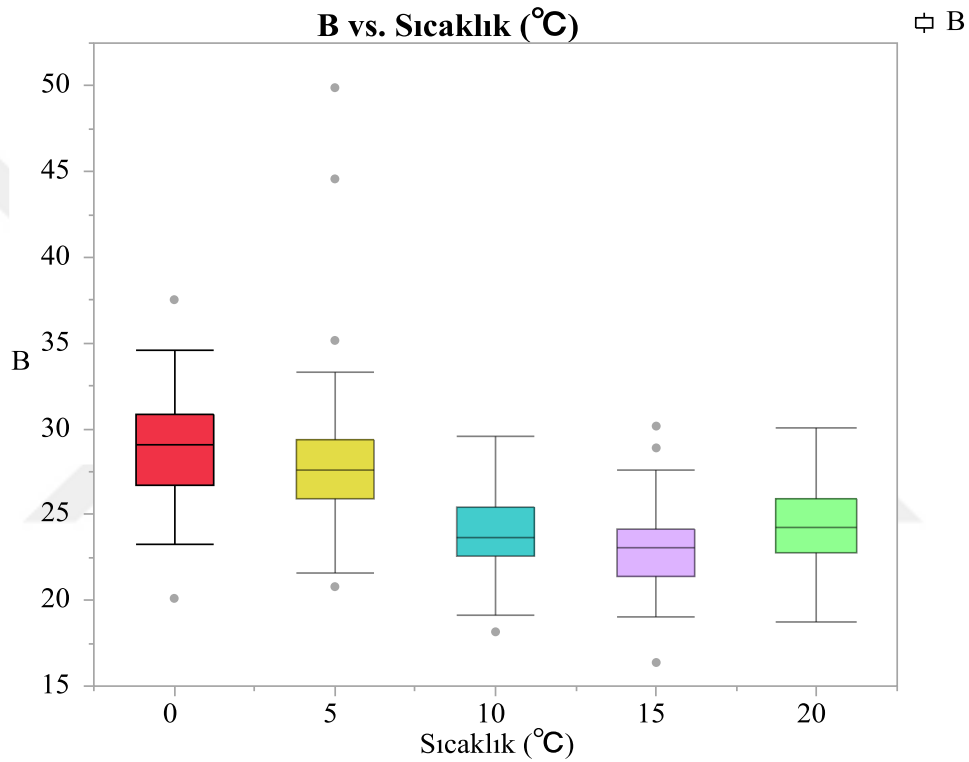
Genotip	0°C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
YLV-9	-10,46	-6,52	-7,87	-5,03	-6,49
YLV-14	-8,29	-6,17	-2,46	-3,37	-8,79
YLV-16	-9,88	-5,35	-7,82	-4,29	-12,41
YLV-20	-9,54	-1,96	-5,89	-6,34	-10,13
YLV-22	-9,24	-3,91	-7,13	-4,44	-11,87
YLV-23	-8,38	-3,79	-5,67	-4,19	-10,12
YLV-27	-9,05	-3,46	-8,19	-4,67	-12,44
YLV-28	-8,78	-5,05	-6,63	-6,12	-10,83
YLV-31	-8,96	-4,33	-6,50	-5,04	-1,58
YLV-32	-8,46	-4,94	-7,46	-5,86	-11,08
DZC-2	-8,46	-4,79	-4,12	-2,58	0,59

Tablo 17. Devam.

Genotip	0°C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
DZC-3	-7,35	-2,12	-2,45	-2,68	-1,80
DZC-4	-9,03	-3,33	-4,28	-1,66	-2,38
DZC-7	-8,11	-2,42	-4,07	-3,83	-3,18
DZC-9	-9,13	-5,48	-6,43	-7,04	-3,37
BRS-3	-9,01	-5,04	-3,68	-3,36	-2,61
BRS-4	-9,43	-5,63	-4,11	-1,86	-2,64
BRS-5	-7,80	-4,51	-6,36	-2,20	-3,13
BRS-8	-9,73	-6,58	-6,86	-6,23	-5,84
BRS-9	-9,31	-4,16	-2,63	-3,83	-2,57
BRS-10	-11,10	-7,79	-8,63	-5,31	-4,37
BRS-14	-8,07	-7,74	-3,66	-1,33	1,73
BRS-19	-8,67	-7,40	-5,07	-4,63	-5,32
BRS-20	-8,75	-7,26	-5,13	-5,13	-1,82
BRS-21	-10,95	-8,29	-5,08	-6,90	-6,50
BRS-22	-8,58	-9,02	-6,19	-5,00	-6,05
BRS-23	-8,79	-8,12	-3,28	-4,57	-3,61
BRS-24	-10,11	-9,25	-6,33	-5,49	-4,20
BRS-27	-8,73	-2,67	-3,23	-1,24	-4,80
BLCK-3	-10,15	-7,74	-6,55	-6,26	-4,83
BLCK-4	-7,83	-5,97	-2,56	-2,28	-3,10
BLCK-5	-9,62	-5,51	-6,94	-4,08	-6,61
BLCK-7	-7,99	-5,81	-7,24	-5,48	-8,43
ÇNK-1	-9,30	-8,23	-7,97	-3,85	-6,55
ÇNK-2	-9,27	-8,52	-8,46	-4,18	-5,85
ÇNK-4	-8,50	-8,43	-9,04	-4,82	-7,90
ÇNK-6	-9,10	-6,77	-9,96	-6,60	-9,47
ÇNK-7	-8,82	-1,58	-9,48	-3,92	-5,30
ÇNK-8	-10,05	-8,20	-9,26	-7,71	-5,57
ÇNK-9	-10,82	-11,16	-10,06	-6,21	-5,87
ÇNK-10	-9,43	-8,73	-9,80	-5,49	-8,23
BLKSR-3	-10,29	-9,39	-10,87	-5,87	-9,32
BLKSR-4	-9,31	-7,36	-9,91	-3,95	-5,91
BLKSR-6	-9,56	-7,88	-9,09	-6,24	-5,99
BLKSR-7	-9,14	-7,37	-10,99	-6,95	-8,53
BLKSR-8	-8,82	-6,88	-8,49	-3,42	-6,91
BLKSR-9	-8,82	-8,36	-10,07	-5,34	-7,23
BLKSR-11	-7,30	-7,17	-8,57	-4,04	-4,41
BLKSR-16	-9,29	-8,03	-9,30	-4,23	-5,89
BLKSR-17	-9,73	-8,50	-9,47	-5,56	-3,91
BLKSR-18	-9,54	-9,33	-9,30	-6,33	-7,05
BLKSR-21	-9,45	-7,69	-10,18	-5,88	-5,44
BLKSR-22	-9,96	-10,19	-8,62	-4,70	-6,40
BLKSR-30	-10,37	-8,84	-9,39	-5,22	-4,99
ZÜLBİYE	-9,72	-10,28	-9,75	-6,47	-8,52
YAKUTİYE	-8,88	-6,15	-9,85	-6,01	-5,58
HK-26	-7,96	-8,25	-8,93	-5,27	-7,44
EL-37	-8,56	-7,78	-10,22	-5,76	-7,80
HK-57	-8,59	-7,81	-9,54	-6,46	-6,48
58	-9,92	-8,31	-9,16	-6,56	-6,81
115	-9,00	-7,47	-9,92	-6,66	-7,46
Minimum	-11,10	-11,16	-10,99	-7,71	-12,44
Maksimum	-7,30	-1,58	-2,45	-1,24	1,73
Ortalama	-9,14	-6,67	-7,31	-4,85	-6,02

Yerel fasulye genotiplerinden farklı sıcaklarda ölçülen *b* (sarılık/mavilik) değerlerinin box plot analizi ve genotip x çevre interaksyonuna ait sonuçlar

sırasıyla Şekil 24 ve Tablo 18’de belirtilmiştir. Bununla birlikte, farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *b* değerlerinin varyans analizleri (Ek 5), F değerleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve $LSD_{0,01}$ çoklu karşılaştırma testlerine ait sonuçlar Tablo 19’da verilmiştir. Farklı sıcaklık koşullarında fasulye genotiplerinde ölçülen *b* değerleri arasındaki genotip x çevre etkileşimini % 1 düzeyinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($F=0,83^{**}$, $LSD_{0,01}=8,47$). Her sıcaklık derecesi için yapılan varyans analizlerinde fasulye genotipleri arasında istatistiki olarak oldukça önemli (% 1) farklılıklar tespit edilmiştir (Tablo 19).



Şekil 24. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki *b* değerlerinin box plot analizi

Tablo 18. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *b* değerlerinin genotip x çevre etkileşimi

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	$LSD_{0,01}$
Tekerrür	2	4,70	0,29	0,84
Çevre	4	1413,55	87,70	1,08
Genotip	60	89,08	5,53	3,79
Gen*Çevre	240	13,32	0,83**	8,47
Hata	608	16,12		
Toplam	914			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Tablo 19’da da görüldüğü gibi 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C ’deki *b* değerlerinin sırasıyla 18,72-30,05 ($F=2,42^{**}$, $LSD_{0,01}=5,18$), 16,38-30,16 ($F=2,88^{**}$, $LSD_{0,01}=5,56$), 18,17-29,54 ($F=2,04^{**}$, $LSD_{0,01}=6,14$), 20,80-49,90

($F=1,30^{**}$, $LSD_{0,01}=14,91$) ve 20,12-37,54 ($F=2,53^{**}$, $LSD_{0,01}=7,16$) arasında değiştiği ve soğuk stresi bakımından fasulye genotipleri arasında istatistiki olarak önemli varyasyonun olduğu görölmektedir (Tablo 19). Ortalama *b* değerlerinin kontrol grubunda 24,24'den 5 °C'de 28,19'a daha sonra da 0 °C'de 29,21'e yükseldiği belirlenmiştir. Kontrol grubunda, minimum ve maksimum *b* değerleri sırasıyla BLCK-4 ve YLV-27 genotiplerinde tespit edilmiştir. Soğuk uygulamasında 5 °C'de en yüksek *b* değerleri BLKSR-3 (49,90) genotipinde elde edilirken, en düşük *b* değerleri ise BRS-27 (20,80) genotipinden elde edilmiştir. Fasulye genotipinde 0 °C'deki en yüksek *b* değerleri 37,54 ile ÇNK-8 genotipinde, en düşük *b* değerleri ise 20,12 ile DZC-3 genotipinde tespit edilmiştir. Ayrıca, 9 fasulye genotipinin (ÇNK-8,9; BRS-8,10,21,22; BLKSR-4; DZC-9; YLV-27) 0 °C'de soğuk stresine toleranslı olduğu belirlenen kontrol genotiplerinden (HK-26 ve HK-57) ve tescilli çeşitlerden daha yüksek *b* değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla bu genotiplerin yapraklarının 0 °C'de soğuktan etkilendiği ve sararmanın göröldüğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, YLV-23, DZC-3,7, BLCK-4, YLV-20, ve BRS-27 genotiplerinin soğuk toleranslı kontrol grubu genotiplerden ve tescilli çeşitlerden daha düşük *b* değerine sahip olduğu görölmüştür.

Tablo 19. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *b* değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması

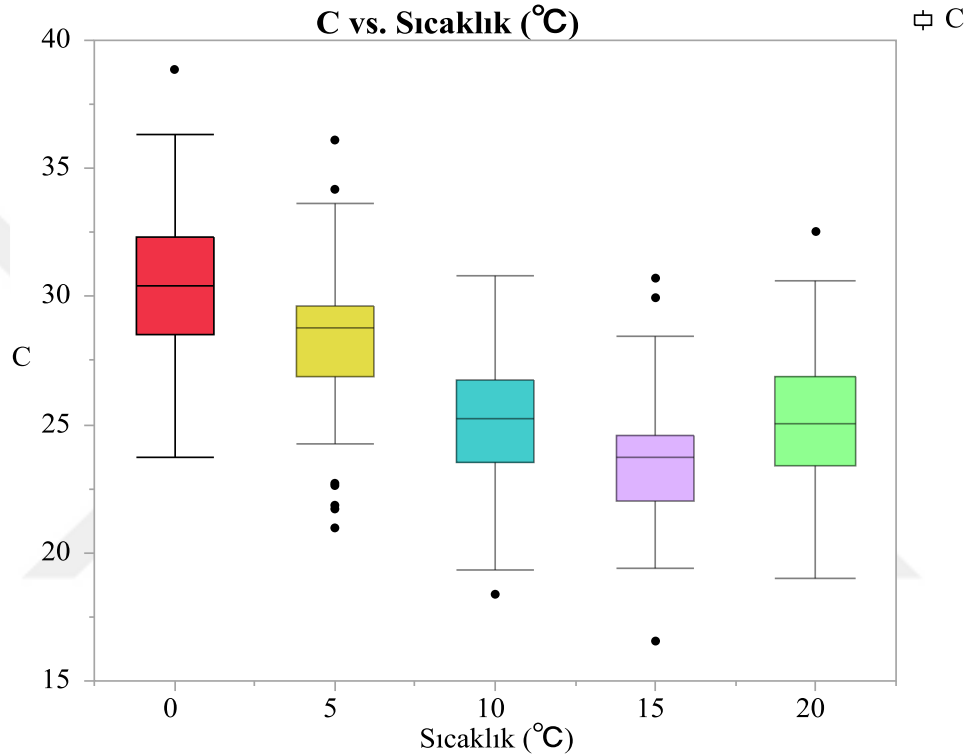
Genotip	0°C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
YLV-9	28,93 b-k	28,05 c	24,78 a-ı	21,98 d-k	27,71 abc
YLV-14	23,26 kl	24,98 c	19,15 ij	19,01 kl	23,05 b-m
YLV-16	25,40 e-l	25,32 c	22,85 b-j	20,83 g-l	26,42 a-ı
YLV-20	31,40 a-ı	21,58 c	21,32 e-j	23,14 c-k	26,13 a-j
YLV-22	30,02 b-k	27,00 c	25,54 a-h	23,94 b-k	26,27 a-j
YLV-23	26,45 d-l	24,19 c	20,07 hij	21,34 f-l	24,01 b-l
YLV-27	32,27 a-f	28,87 c	26,95 a-f	26,03 a-h	30,05 a
YLV-28	29,02 b-k	26,77 c	22,56 b-j	20,64 h-l	23,52 b-m
YLV-31	26,95 d-l	26,11 c	23,67 a-j	22,48 c-k	25,66 a-k
YLV-32	29,17 b-k	27,78 c	23,46 a-j	21,74 e-l	26,56 a-h
DZC-2	31,91 a-g	27,18 c	23,83 a-j	24,13 b-k	26,18 a-j
DZC-3	20,12 l	22,46 c	21,78 c-j	20,00 ı-l	24,83 b-k
DZC-4	25,05 g-l	24,72 c	20,51 g-j	22,30 c-k	23,34 b-m
DZC-7	24,07 jkl	21,71 c	20,65 g-j	20,09 ı-l	19,20 lm
DZC-9	32,34 a-e	29,11 c	26,17 a-h	25,32 a-ı	22,75 c-m
BRS-3	29,11 b-k	28,66 c	26,25 a-g	24,36 b-k	24,91 a-k
BRS-4	28,25 b-k	26,95 c	22,78 b-j	21,13 f-l	23,92 b-l
BRS-5	31,63 a-g	28,47 c	24,87 a-ı	22,26 c-k	21,21 j-m
BRS-8	32,86 a-d	32,00 bc	27,33 a-e	26,92 a-e	27,43 a-d
BRS-9	27,57 b-k	26,38 c	23,09 b-j	22,21 c-k	24,76 b-k
BRS-10	34,62 ab	33,28 bc	29,54 a	30,16 a	28,07 ab
BRS-14	30,67 a-j	31,29 bc	28,23 ab	27,30 a-d	24,79 b-k
BRS-19	29,33 b-k	29,25 c	25,79 a-h	23,74 b-k	26,27 a-j

Tablo 19. Devam.

Genotip	0°C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
BRS-20	25,16 f-l	25,08 c	23,10 b-j	23,75 b-k	22,92 b-m
BRS-21	34,43 abc	31,31 bc	28,03 ab	27,58 abc	25,43 a-k
BRS-22	33,10 a-d	32,41 bc	26,19 a-h	22,34 c-k	23,54 b-m
BRS-23	26,51 d-l	28,14 c	21,02 f-j	20,66 h-l	21,63 g-m
BRS-24	30,79 a-j	31,26 bc	24,77 a-i	23,95 b-k	26,85 a-f
BRS-27	24,92 g-l	20,80 c	22,73 b-j	19,50 jkl	22,81 c-m
BLCK-3	30,48 a-j	29,79 bc	22,71 b-j	22,46 c-k	25,43 a-k
BLCK-4	24,43 h-l	21,90 c	18,17 j	16,38 l	18,72 m
BLCK-5	29,30 b-k	28,34 c	23,48 a-j	23,91 b-k	24,49 b-k
BLCK-7	28,72 b-k	26,48 c	22,54 b-j	19,18 kl	22,44 d-m
ÇNK-1	28,95 b-k	27,64 c	22,96 b-j	26,41 a-f	24,98 a-k
ÇNK-2	31,37 a-i	27,99 c	23,41 a-j	24,18 b-k	22,48 d-m
ÇNK-4	28,82 b-k	28,75 c	24,21 a-j	21,93 d-l	22,74 c-m
ÇNK-6	28,43 b-k	25,49 c	24,30 a-i	23,03 c-k	25,22 a-k
ÇNK-7	28,00 b-k	26,22 c	21,52 d-j	20,07 ı-l	21,94 f-m
ÇNK-8	37,54 a	35,16 abc	27,90 abc	28,89 ab	26,28 a-j
ÇNK-9	33,24 a-d	32,30 bc	24,15 a-j	26,53 a-f	27,13 a-e
ÇNK-10	28,54 b-k	44,58 ab	25,24 a-i	23,91 b-k	24,23 b-l
BLKSR-3	29,92 b-k	49,90 a	27,48 a-d	26,48 a-f	26,21 a-j
BLKSR-4	33,01 a-d	29,32 c	27,09 a-f	26,30 a-g	24,66 b-k
BLKSR-6	29,82 b-k	27,28 c	22,41 b-j	21,45 e-l	21,99 e-m
BLKSR-7	30,87 a-j	26,76 c	26,97 a-f	24,03 b-k	24,65 b-k
BLKSR-8	31,49 a-h	28,24 c	24,38 a-i	23,45 b-k	25,56 a-k
BLKSR-9	27,07 d-l	25,59 c	22,37 b-j	22,30 c-k	23,80 b-m
BLKSR-11	28,82 b-k	28,80 c	25,30 a-h	23,64 b-k	23,90 b-l
BLKSR-16	30,55 a-j	30,04 bc	24,29 a-j	23,70 b-k	25,47 a-k
BLKSR-17	30,21 b-k	27,58 c	24,09 a-j	21,90 d-l	24,20 b-l
BLKSR-18	30,34 b-k	31,43 bc	21,89 c-j	24,11 b-k	23,23 b-m
BLKSR-21	29,39 b-k	26,22 c	25,99 a-h	24,84 a-j	26,66 a-g
BLKSR-22	31,60 a-g	30,38 bc	25,30 a-h	23,98 b-k	23,90 b-l
BLKSR-30	29,50 b-k	27,01 c	22,89 b-j	21,95 d-k	21,41 h-m
ZÜLBİYE	32,00 a-g	29,33 c	24,35 a-i	22,60 c-k	24,90 a-k
YAKUTİYE	28,65 b-k	27,02 c	22,91 b-j	22,71 c-k	22,70 c-m
HK-26	24,31 ı-l	24,42 c	20,23 g-j	19,59 jkl	21,35 ı-m
EL-37	30,24 b-k	27,74 c	24,98 a-i	23,51 b-k	23,47 b-m
HK-57	27,31 c-k	25,83 c	22,86 b-j	20,52 h-l	20,86 klm
58	27,13 d-l	24,62 c	21,00 f-j	20,41 ı-l	21,44 h-m
115	26,44 d-l	26,56 c	23,49 a-j	23,40 b-k	21,68 f-m
Minimum	20,12	20,80	18,17	16,38	18,72
Maksimum	37,54	49,90	29,54	30,16	30,05
Ortalama	29,21	28,19	23,90	23,06	24,24
F değeri	2,53**	1,30**	2,04**	2,88**	2,42**
LSD _{0,01}	7,16	14,91	6,14	5,56	5,18

Fasulye genotiplerinden farklı sıcaklarda ölçülen *c* (*Chroma*) değerlerinin box plot analizi ve genotip x çevre interaksyonuna ait sonuçlar sırasıyla Şekil 25 ve Tablo 20’de belirtilmiştir. Bununla birlikte, farklı sıcak derecelerinde fasulye genotiplerinden elde edilen *c* değerlerinin varyans analizleri Ek 6’da, F değerleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD_{0,01} çoklu karşılaştırma testlerine ait sonuçlar ise Tablo 21’de verilmiştir. Farklı sıcaklık koşullarında fasulye genotiplerinde belirlenen *c* değerleri arasındaki genotip x çevre interaksyonu % 1 düzeyinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur (F=0,89**, LSD_{0,01}=6,35). Şekil

25'teki box plot analizinde *c* değerin 0 °C ve 5 °C'deki değerlerinin kontrol gruba göre yükseldiği ve görülmektedir. Nitekim, fasulye genotiplerinin 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C'deki *c* değerleri sırasıyla 18,98-32,54 ($F=2,65^{**}$, $LSD_{0,01}=5,74$), 16,56-30,72 ($F=2,76^{**}$, $LSD_{0,01}=5,81$), 18,38-30,81 ($F=2,16^{**}$, $LSD_{0,01}=6,47$), 20,97-36,11 ($F=2,37^{**}$, $LSD_{0,01}=7,20$) ve 23,73-38,86 ($F=2,64^{**}$, $LSD_{0,01}=6,86$) arasında değiştiği ve soğuk stresi bakımından genotipler arasında istatistiki olarak önemli varyasyonun olduğu tespit edilmiştir. (Tablo 19).



Şekil 25. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki *c* (chroma) değerlerinin box plot analizi

Tablo 20. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *c* (chroma) değerlerinin genotip x çevre interaksyonu

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	2,45	0,27	0,63
Çevre	4	1450,19	160,16	0,81
Genotip	60	81,37	8,99	2,84
Gen*Çevre	240	8,02	0,89**	6,35
Hata	608	9,05		
Toplam	914			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Ortalama *c* değeri kontrol grubunda 25,25, 5 °C'de 28,35 ve 0 °C'de de 30,57 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda minimum ve maksimum *c* değerleri sırasıyla BLCK-4 (18,98) ve YLV-27 (32,54) genotiplerinde tespit edilmiştir.

Soğuk uygulamasında 5 °C’de en yüksek c değeri ÇNK-8 genotipinde, en düşük c değeri ise BRS-27 genotipinden elde edilmiştir. Fasulye genotiplerinde 0 °C’deki en yüksek c değeri ÇNK-8 genotipinde, en düşük c değeri ise DZC-3 genotipinde tespit edilmiştir. Ayrıca, 9 fasulye genotipinin (ÇNK-8,9; BRS-8,10,21,22; BLKSR-4; DZC-9; YLV-27) 0°C’de soğuk stresine toleranslı olduğu belirlenen kontrol genotiplerinden ve tescilli çeşitlerden daha yüksek c değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla bu genotiplerin yapraklarının 0 °C’de soğuktan etkilendiği ve yapraklardaki canlılık özelliğinin azaldığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan, DZC-3,7 ve YLV-14 genotiplerinin soğuk toleranslı kontrol grubu genotiplerden ve tescilli çeşitlerden daha düşük c değerine sahip olduğu belirlenmiş ve bu genotipleri BRS-27, BLCK-4, YLV-20 genotipleri takip etmiştir.

Tablo 21. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen c değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması

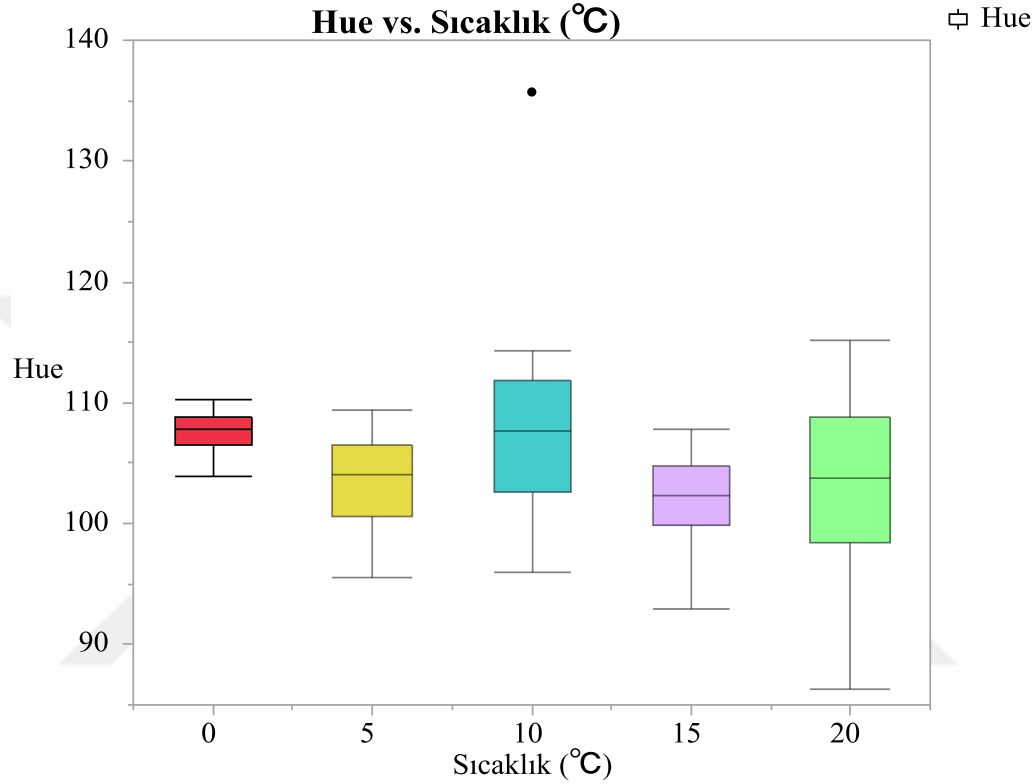
Genotip	0°C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
YLV-9	30,77 b-j	28,80 b-ı	25,90 a-g	22,22 d-k	30,64 ab
YLV-14	24,56 jk	25,75 d-j	19,32 hı	19,37 jk	25,03 b-ı
YLV-16	28,85 d-k	26,22 d-j	24,18 b-ı	21,31 h-k	29,19 abc
YLV-20	25,64 h-k	21,71 ij	22,12 e-ı	24,00 c-j	28,06 a-f
YLV-22	31,46 b-ı	28,32 b-ı	26,54 a-g	24,37 b-j	28,83 a-d
YLV-23	27,75 e-k	24,22 f-j	20,86 ghı	21,76 e-k	26,06 b-h
YLV-27	33,95 a-e	29,10 a-g	28,21 a-f	26,51 a-h	32,54 a
YLV-28	30,33 b-k	27,25 b-j	23,56 b-ı	21,54 f-k	25,90 b-h
YLV-31	28,40 d-k	26,55 c-j	24,57 a-ı	23,07 c-j	25,75 b-h
YLV-32	30,39 b-k	28,23 b-ı	24,62 a-ı	22,57 d-j	28,79 a-d
DZC-2	32,97 a-g	27,57 b-j	24,21 b-ı	24,29 b-j	28,46 a-e
DZC-3	23,73 k	22,63 g-j	22,14 e-ı	20,44 ijk	25,07 b-ı
DZC-4	26,63 f-k	24,95 e-j	20,96 ghı	22,37 d-j	23,52 c-j
DZC-7	25,41 ijk	21,86 hıj	21,11 ghı	20,47 ijk	19,58 ij
DZC-9	33,61 a-e	29,62 a-g	27,01 a-g	26,30 a-h	23,15 d-j
BRS-3	30,48 b-k	29,10 a-g	26,57 a-g	24,34 b-j	25,37 b-h
BRS-4	29,79 b-k	27,56 b-j	23,15 b-ı	21,23 h-k	24,16 c-j
BRS-5	32,59 a-g	28,84 b-ı	25,67 a-h	22,41 d-j	21,55 hij
BRS-8	34,27 a-e	32,74 a-d	28,21 a-f	27,69 a-d	28,05 a-f
BRS-9	29,11 d-k	26,80 c-j	23,26 b-ı	22,53 d-j	24,90 c-ı
BRS-10	36,36 ab	34,19 ab	30,81 a	30,72 a	28,50 a-e
BRS-14	31,72 b-ı	28,91 b-ı	28,48 a-e	27,49 a-e	24,99 b-ı
BRS-19	30,59 b-j	31,16 a-f	26,35 a-g	24,20 b-j	26,82 a-h
BRS-20	26,64 f-k	26,13 d-j	22,35 e-ı	24,34 b-j	23,01 e-j
BRS-21	36,14 abc	32,41 a-d	28,51 a-e	28,45 abc	26,32 b-h
BRS-22	34,21 a-e	33,65 abc	27,03 a-g	22,93 c-j	24,32 c-j
BRS-23	27,96 e-k	29,30 a-g	21,34 ghı	21,27 h-k	22,05 hij
BRS-24	32,42 a-h	32,59 a-d	25,58 a-h	24,60 b-j	27,27 a-h
BRS-27	26,41 g-k	20,97 j	22,98 c-ı	19,55 jk	23,36 d-j
BLCK-3	32,15 a-ı	30,78 a-f	23,64 b-ı	23,37 c-j	26,08 b-h
BLCK-4	25,67 h-k	22,71 g-j	18,38 ı	16,56 k	18,98 j
BLCK-5	30,84 b-j	28,94 a-h	24,49 a-ı	24,33 b-j	25,39 b-h
BLCK-7	29,81 b-k	27,14 b-j	23,68 b-ı	19,98 ijk	23,97 c-j
ÇNK-1	30,41 b-k	28,85 b-ı	24,31 b-ı	26,84 a-h	26,31 b-h
ÇNK-2	32,72 a-g	29,26 a-g	24,91 a-h	24,55 b-j	23,27 d-j

Tablo 21. Devam.

Genotip	0°C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
ÇNK-4	30,05 b-k	29,97 a-f	25,84 a-g	22,45 d-j	24,08 c-j
ÇNK-6	29,85 b-k	26,39 d-j	26,27 a-g	23,73 c-j	26,96 a-h
ÇNK-7	29,36 c-k	27,46 b-j	23,52 b-ı	20,45 ijk	22,57 f-j
ÇNK-8	38,86 a	36,11 a	29,40 abc	29,96 ab	26,99 a-h
ÇNK-9	34,96 a-d	30,84 a-f	26,17 a-g	27,26 a-f	27,91 a-g
ÇNK-10	30,05 b-k	29,26 a-g	27,09 a-g	24,60 b-j	25,60 b-h
BLKSR-3	31,65 b-ı	31,35 a-f	29,54 ab	27,16 a-g	27,82 a-g
BLKSR-4	34,29 a-e	30,23 a-f	28,84 a-d	26,66 a-h	25,37 b-h
BLKSR-6	31,32 b-j	28,08 b-j	25,25 a-h	22,35 d-k	22,87 e-j
BLKSR-7	32,19 a-ı	27,76 b-j	29,12 a-d	25,02 a-j	26,12 b-h
BLKSR-8	32,71 a-g	29,07 a-g	25,84 a-g	23,71 c-j	26,48 b-h
BLKSR-9	28,63 d-k	26,99 c-j	24,53 a-ı	22,95 c-j	24,57 c-j
BLKSR-11	29,73 b-k	29,68 a-g	26,72 a-g	24,02 c-j	24,32 c-j
BLKSR-16	31,93 b-ı	29,44 a-g	26,02 a-g	24,10 c-j	26,14 b-h
BLKSR-17	31,74 b-ı	28,86 b-ı	25,94 a-g	22,70 c-j	24,56 c-j
BLKSR-18	31,83 b-ı	32,81 a-d	23,79 b-ı	24,95 a-j	24,30 c-j
BLKSR-21	30,88 b-j	27,35 b-j	27,93 a-f	25,53 a-ı	27,28 a-h
BLKSR-22	33,13 a-g	32,05 a-e	26,78 a-g	24,56 b-j	24,76 c-ı
BLKSR-30	31,27 b-j	28,10 b-j	24,74 a-ı	22,67 c-j	22,08 hij
ZÜLBİYE	33,46 a-f	29,43 a-g	26,24 a-g	23,52 c-j	26,33 b-h
YAKUTİYE	30,00 b-k	27,92 b-j	24,61 a-ı	23,51 c-j	23,42 d-j
HK-26	25,59 h-k	25,78 d-j	21,85 f-ı	20,30 ijk	22,69 f-j
EL-37	31,44 b-ı	28,79 b-ı	26,98 a-g	24,27 b-j	24,74 c-ı
HK-57	28,63 d-k	26,99 b-j	24,77 a-ı	21,51 f-k	21,85 hij
58	28,73 d-k	26,02 d-j	22,91 d-ı	21,44 g-k	22,19 g-j
115	27,94 e-k	27,60 b-j	25,51 a-h	24,36 b-j	22,93 e-j
Minimum	23,73	20,97	18,38	16,56	18,98
Maksimum	38,86	36,11	30,81	30,72	32,54
Ortalama	30,57	28,35	25,10	23,63	25,25
F değeri	2,64**	2,37**	2,16**	2,76**	2,65**
LSD _{0,01}	6,86	7,20	6,47	5,81	5,74

Farklı sıcaklık koşullarında fasulye genotiplerinde belirlenen *Hue* değerleri arasındaki genotip x çevre etkileşimini % 1 düzeyinde istatistik olarak önemli bulunmuştur ($F=2,04^{**}$, $LSD_{0,01}=10,26$). Fasulye genotiplerinde farklı sıcaklarda ölçülen *Hue* değerlerinin box plot analizi Şekil 26’da, ortalama, minimum ve maksimum değerlerine ait sonuçlar ise Tablo 22’de verilmiştir. Box plot analizi sonucuna göre fasulye genotipleri arasında *Hue* özellik değerleri arasındaki varyasyon 20 °C’de yüksek iken, 0 °C’de genotipler arasındaki varyasyon oldukça düştüğü görülmektedir (Şekil 26). Diğer taraftan, 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C’deki *Hue* değerleri arasında istatistik olarak % 1 düzeyinde önemli varyasyonların olduğu belirlenmiştir. Tablo 22’de de görüldüğü gibi 20 °C, 15 °C, 10°C, 5 °C ve 0 °C’deki minimum ve maksimum *Hue* değerleri sırasıyla 86,23-115,13 ($F=2,69^{**}$, $LSD_{0,01}=15,42$), 92,92-107,78 ($F=2,38^{**}$, $LSD_{0,01}=8,59$), 95,93-135,72 ($F=3,22^{**}$, $LSD_{0,01}=13,29$), 95,57-109,47 ($F=5,31^{**}$, $LSD_{0,01}=5,97$) ve 103,93-110,23 ($F=2,82^{**}$, $LSD_{0,01}=3,24$) arasında değişmiştir (Ek 7). Ortalama *Hue* değeri kontrol grubunda 103,33 olarak belirlenirken, 5 °C’de 103,62, 0 °C’de

ise 107,58 olarak belirlenmiştir. Fasulye genotipleri arasında en yüksek *Hue* değeri 5°C’de ÇNK-9 (109,07) genotipinde, 0 °C’de ise YLV-9 (109,88) genotipinden elde edilmiştir. Diğer taraftan, en düşük *Hue* değeri 5 °C’de DZC-3 (95,57) genotipinde, 0 °C’de ise BRS-5 (103,93) genotipinden elde edilmiştir. BRS-5 fasulye genotipini BRS-14,22 ve BLKSR-11 genotipleri takip etmiştir.



Şekil 26. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki *Hue* değerlerinin box plot analizi

Tablo 22. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *Hue* değerlerinin genotip x çevre interaksyonu

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	36,56	1,55	1,02
Çevre	4	1169,56	49,48	1,31
Genotip	60	157,65	6,67	4,59
Gen*Çevre	240	48,30	2,04**	10,26
Hata	608	23,64		
Toplam	914			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Tablo 23. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *Hue* değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması

Genotip	0 °C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
YL V-9	109,88 ab	103,08 c-n	107,68 b-l	102,84 a-g	114,89 a
YL V-14	109,62 abc	103,92 a-m	97,15 jkl	100,32 a-j	112,30 abc

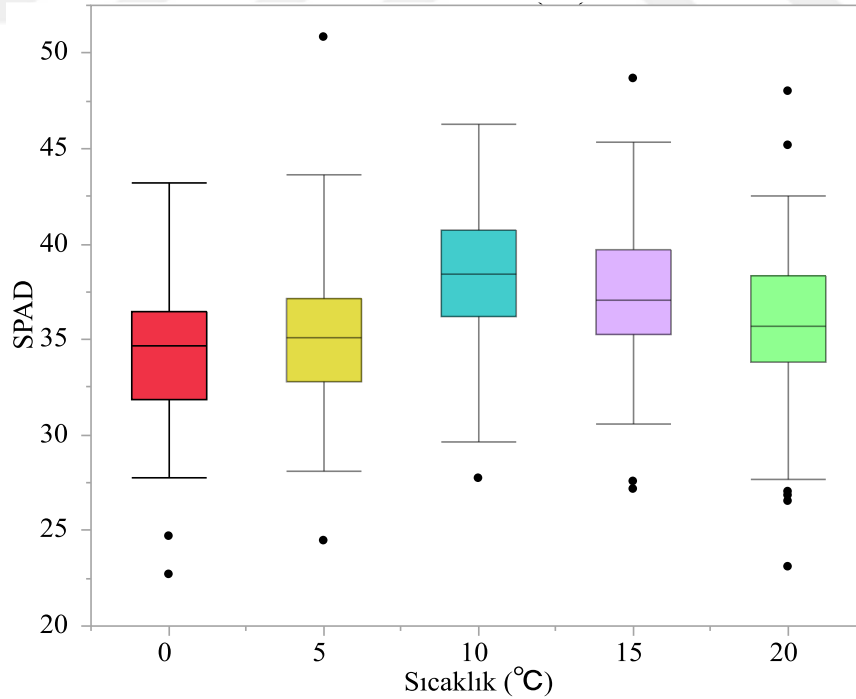
Tablo 23. Devam

Genotip	0 °C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
YLV-16	109,62 abc	101,65 e-p	108,99 b-l	101,37 a-j	115,13 a
YLV-20	108,17 a-ı	96,26 pq	105,26 b-l	105,65 abc	110,77 a-d
YLV-22	107,37 a-l	97,97 m-q	105,72 b-l	100,56 a-j	114,30 ab
YLV-23	107,73 a-j	98,55 l-q	105,62 b-l	101,24 a-j	112,86 abc
YLV-27	109,49 a-d	96,99 opq	106,45 b-l	100,03 a-j	112,36 abc
YLV-28	106,89 b-m	100,65 g-q	106,27 b-l	106,57 ab	114,71 a
YLV-31	107,74 a-j	98,93 k-q	105,43 b-l	102,40 a-h	93,50 h-k
YLV-32	106,35 d-m	99,95 i-q	107,73 b-l	104,71 a-e	96,21 d-k
DZC-2	107,70 a-k	100,56 h-q	100,16 e-l	96,17 e-j	89,88 jk
DZC-3	108,94 a-f	95,57 q	96,19 kl	96,88 d-j	94,82 f-k
DZC-4	109,79 ab	97,51 n-q	101,54 b-l	94,02 hij	96,07 d-k
DZC-7	108,79 a-h	96,29 pq	100,93 c-l	100,77 a-j	97,98 c-k
DZC-9	105,81 e-m	100,66 g-q	103,66 b-l	105,48 abc	98,30 c-k
BRS-3	107,14 a-m	99,95 i-q	97,84 h-l	97,65 c-j	95,17 e-k
BRS-4	108,40 a-h	101,56 e-p	100,23 e-l	94,88 g-j	96,46 d-k
BRS-5	103,93 m	99,00 k-q	104,29 b-l	95,64 f-j	98,46 c-k
BRS-8	106,46 c-m	101,52 e-q	104,03 b-l	103,07 a-g	102,06 a-j
BRS-9	108,93 a-f	99,57 j-q	95,93 l	99,86 a-j	95,96 d-k
BRS-10	107,77 a-j	103,19 b-n	106,37 b-l	100,23 a-j	98,70 c-k
BRS-14	104,64 j-m	103,83 a-m	97,56 ı-l	92,92 j	86,23 k
BRS-19	106,50 c-m	103,76 a-m	100,88 c-l	100,94 a-j	94,69 f-k
BRS-20	109,13 a-d	106,12 a-h	102,37 b-l	102,31 a-h	94,52 f-k
BRS-21	107,69 a-k	104,82 a-k	100,28 d-l	104,08 a-f	104,09 a-j
BRS-22	104,47 klm	105,65 a-ı	102,78 b-l	102,34 a-h	104,25 a-j
BRS-23	108,65 a-h	106,02 a-h	98,72 f-l	102,54 a-h	99,10 b-k
BRS-24	108,22 a-ı	106,36 a-h	104,51 b-l	102,86 a-g	98,47 c-k
BRS-27	109,33 a-d	97,29 n-q	98,10 g-l	93,43ij	90,42 ijk
BLCK-3	108,38 a-h	104,55 a-k	106,03 b-l	105,18 a-d	101,12 a-k
BLCK-4	107,71 a-j	105,26 a-j	98,06 g-l	97,84 c-j	99,21 b-k
BLCK-5	108,21 a-ı	101,14 f-q	106,45 b-l	99,56 a-j	105,17 a-j
BLCK-7	105,58 h-m	102,59 d-o	108,04 b-l	105,91 abc	110,58 a-e
ÇNK-1	107,82 a-j	106,55 a-g	109,04 b-l	97,67 c-j	107,73 a-h
ÇNK-2	106,48 c-m	106,92 a-f	109,80 b-j	99,74 a-j	104,76 a-j
ÇNK-4	106,40 c-m	106,38 a-h	110,46 b-ı	102,08 a-h	109,31 a-f
ÇNK-6	107,76 a-j	104,74 a-k	112,26 b-e	106,17 abc	110,54 a-e
ÇNK-7	107,52 a-k	107,13 a-e	113,75 bc	101,02 a-j	103,67 a-j
ÇNK-8	105,01 ı-m	103,07 c-n	108,36 b-l	104,90 a-d	101,78 a-j
ÇNK-9	108,06 a-ı	109,07 ab	112,53 b-e	103,16 a-g	101,77 a-j
ÇNK-10	108,27 a-h	107,31 a-e	111,18 b-g	102,00 a-h	108,76 a-h
BLKSR-3	108,95 a-f	107,47 a-e	135,72 a	102,41 a-h	109,37 a-f
BLKSR-4	105,73 f-m	104,01 a-l	108,08 b-l	98,30 b-j	103,52 a-j
BLKSR-6	107,85 a-j	106,35 a-h	109,16 b-l	106,11 abc	105,45 a-h
BLKSR-7	106,49 c-m	105,54 a-ı	112,22 b-e	106,04 abc	108,98 a-g
BLKSR-8	105,68 g-m	103,63 a-m	109,26 b-k	98,31 b-j	105,06 a-j
BLKSR-9	109,04 a-e	108,08 a-d	114,23 b	103,52 a-f	106,93 a-h
BLKSR-11	104,23 lm	103,98 a-l	108,70 b-l	99,80 a-j	93,66 g-k
BLKSR-16	106,91 b-m	105,67 a-ı	110,94 b-h	100,12 a-j	103,10 a-j
BLKSR-17	107,88 a-j	107,16 a-e	111,61 b-f	104,29 a-e	99,07 b-k
BLKSR-18	107,58 a-k	106,56 a-g	113,24 b-e	104,66 a-e	106,69 a-h
BLKSR-21	107,79 a-j	106,13 a-h	111,42 b-f	103,24 a-g	101,42 a-k
BLKSR-22	107,48 a-k	108,54 a-d	108,92 b-l	101,21 a-j	105,05 a-j
BLKSR-30	109,37 a-d	108,25 a-d	112,36 b-e	103,29 a-g	103,70 a-j
ZÜLBİYE	106,92 b-m	109,47 a	111,95 b-f	106,07 abc	108,95 a-g
YAKUTİYE	107,20 a-l	102,66 d-o	113,28 b-e	104,74 a-e	103,71 a-j
HK-26	108,29 a-h	108,71 abc	112,17 b-e	104,95 a-d	108,82 a-h
EL-37	105,84 e-m	105,65 a-ı	112,18 b-e	103,96 a-f	108,35 a-h
HK-57	107,52 a-k	106,84 a-f	112,63 b-e	107,42 a	107,23 a-h

Tablo 23. Devam.

Genotip	0 °C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
58	110,23 a	108,71 abc	113,57 bcd	107,78 a	107,80 a-h
115	108,83 a-g	105,74 a-i	112,85 b-e	105,81 abc	108,91 a-h
Minimum	103,93	95,57	95,93	92,92	86,23
Maksimum	110,23	109,47	135,72	107,78	115,13
Ortalama	107,58	103,62	107,10	101,79	103,33
F değeri	2,82**	5,31**	3,22**	2,38**	2,69**
LSD _{0,01}	3,24	5,97	13,29	8,59	15,42

Soğuk stresi uygulamasında fasulye genotiplerinden farklı sıcaklarda ölçülen *SPAD* değerlerinin box plot analizi ve genotip x çevre interaksiyonuna ait sonuçlar sırasıyla Şekil 27 ve Tablo 24’de belirtilmiştir. Bununla birlikte, farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *SPAD* değerlerinin varyans analizleri Ek 8’de, F değerleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD_{0,01} çoklu karşılaştırma testlerine ait sonuçlar ise Tablo 25’de verilmiştir. Farklı sıcaklık koşullarında fasulye genotiplerinde ölçülen *SPAD* değerleri arasındaki genotip x çevre interaksiyonu % 1 düzeyinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur (F=0,78**, LSD_{0,01}=7,60). Her sıcaklık derecesi için yapılan varyans analizlerinde fasulye genotipleri arasında istatistiki olarak önemli varyasyonların olduğu tespit edilmiştir (Tablo 25).

**Şekil 27.** Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki *SPAD* değerlerinin box plot analizi

Tablo 24. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *SPAD* değerlerinin genotip x çevre interaksyonu

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	18,32	1,41	0,75
Çevre	4	556,65	42,95	0,97
Genotip	60	212,75	16,41	3,40
Gen*Çevre	240	10,13	0,78**	7,60
Hata	608	12,96		
Toplam	914			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Box plot analizine göre soğuk stresi uygulamasında sıcaklığın düşmesi ile fasulye genotiplerinin 5 °C ve 0 °C'deki *SPAD* değerlerinin kontrol grubuna göre düştüğü belirlenmiştir. Nitekim, Tablo 25'de de görüldüğü gibi kontrol grubunda ortalama *SPAD* değeri 35,63 iken, 5 °C'de 35,30, 0 °C'de 33,93 olarak ölçülmüştür. Ayrıca, minimum ve maksimum *SPAD* değerleri kontrol grubu, 5 °C ve 0 °C'de sırasıyla 23,13 (DZC-3) - 48,03 (BRS-23), 24,50 (ÇNK-8) - 50,87 (BRS-23), 22,73 (ÇNK-8) - 43,17 (BRS-23) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, Tablo 25'de de görüldüğü gibi, BRS-4,5,9,20,23,24,27; BLKSR-7,9,16,22; YLV-14 ve DZC-4 genotiplerinin 0 °C'de soğuk stresine toleranslı olduğu belirlenen kontrol genotiplerinden (HK-26 ve HK-57) ve tescilli çeşitlerden daha yüksek *SPAD* değerine sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 25).

Tablo 25. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *SPAD* değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması

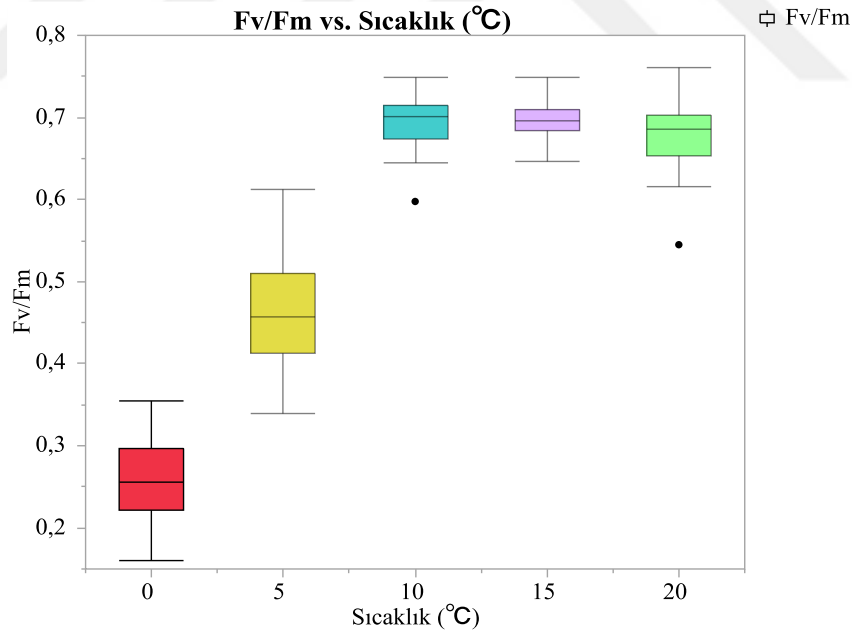
Genotip	0°C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
YL V-9	31,00 f-l	31,27 g-k	33,53 i-n	33,07 f-j	27,70 n-r
YL V-14	42,83 ab	39,73 b-f	43,73 a-e	45,27 ab	38,47 b-j
YL V-16	32,97 d-k	32,40 d-k	35,90 f-m	36,23 d-i	27,67 n-r
YL V-20	32,97 d-k	33,17 c-j	35,17 h-n	33,23 f-j	27,07 o-r
YL V-22	31,90 e-l	32,57 c-k	36,20 e-m	35,93 d-i	29,13 l-r
YL V-23	32,77 d-l	35,53 b-j	37,07 e-m	37,57 c-i	30,23 k-q
YL V-27	31,30 e-l	32,00 d-k	32,47 k-n	32,07 g-j	26,57 qr
YL V-28	32,73 d-l	35,50 b-j	38,40 b-l	38,77 b-h	32,80 h-q
YL V-31	35,93 a-j	36,57 b-i	43,00 a-g	39,73 b-f	34,93 d-m
YL V-32	34,67 c-k	38,00 b-i	39,73 a-k	36,27 d-i	34,23 f-n
DZC-2	29,67 h-m	32,03 d-k	31,63 lmn	33,47 f-j	26,87 pqr
DZC-3	28,80 i-m	28,07 jk	29,60 mn	27,20 j	23,13 r
DZC-4	39,07 a-e	36,47 b-i	39,87 a-k	42,10 a-d	41,63 a-e
DZC-7	33,17 d-k	35,63 b-j	38,33 b-l	37,63 c-i	36,77 c-k
DZC-9	34,80 b-k	36,43 b-i	43,37 a-f	41,57 a-e	41,20 a-f
BRS-3	29,87 h-m	30,37 h-k	33,07 j-n	33,57 f-j	34,00 g-o
BRS-4	40,53 a-d	36,60 b-i	39,57 a-k	41,87 a-e	39,23 b-h
BRS-5	38,60 a-f	38,53 b-h	44,77 a-d	42,43 a-d	42,53 abc
BRS-8	32,70 d-l	32,97 c-j	37,73 b-l	36,03 d-i	35,40 d-m
BRS-9	38,23 a-g	39,97 bcd	44,87 abc	41,37 a-e	39,47 b-h
BRS-10	31,57 e-l	33,90 c-j	38,10 b-l	35,50 d-i	37,07 c-k

Tablo 25. Devam.

Genotip	0°C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
BRS-14	24,73 lm	31,73 e-k	31,40 lmn	31,43 hij	31,57 j-q
BRS-19	30,83 f-l	31,33 g-k	31,63 lmn	30,60 ij	31,77 i-q
BRS-20	37,37 a-h	37,87 b-i	39,37 a-k	39,10 b-g	36,40 c-k
BRS-21	30,37 g-m	33,53 c-j	37,43 c-l	33,87 f-j	35,20 d-m
BRS-22	31,93 e-l	33,80 c-j	37,10 e-m	36,73 c-i	35,83 c-m
BRS-23	43,17 a	50,87 a	45,23 ab	48,70 a	48,03 a
BRS-24	37,47 a-h	37,70 b-i	40,03 a-k	38,73 b-h	37,93 c-j
BRS-27	38,67 a-f	39,33 b-g	43,27 a-f	39,73 b-f	35,53 c-m
BLCK-3	33,87 d-k	33,00 c-j	36,87 e-m	33,67 f-j	34,33 f-n
BLCK-4	35,43 a-k	35,83 b-j	38,70 a-l	38,67 b-h	36,97 c-k
BLCK-5	33,37 d-k	34,37 c-j	37,13 d-m	37,00 c-i	34,00 g-o
BLCK-7	36,23 a-j	35,60 b-j	37,70 b-l	35,23 d-i	33,03 h-q
ÇNK-1	35,04 b-k	36,63 b-i	37,60 b-l	37,97 b-i	37,33 c-j
ÇNK-2	33,13 d-k	34,23 c-j	40,47 a-i	39,73 b-f	38,93 b-h
ÇNK-4	29,80 h-m	32,40 d-k	34,77 h-n	34,57 e-j	35,63 c-m
ÇNK-6	30,13 h-m	33,30 c-j	35,93 f-m	34,57 e-j	33,33 h-q
ÇNK-7	36,57 a-i	43,57 ab	46,30 a	42,17 a-d	41,73 a-d
ÇNK-8	22,73 m	24,50 k	27,77 n	27,60 j	29,03 m-r
ÇNK-9	28,30 j-m	30,03 ijk	36,47 e-m	36,20 d-i	36,20 c-l
ÇNK-10	33,30 d-k	34,13 c-j	36,53 e-m	36,63 c-i	35,57 c-m
BLKSR-3	29,50 h-m	31,47 g-k	35,60 g-m	35,33 d-i	33,90 g-p
BLKSR-4	31,83 e-l	35,30 c-j	38,63 b-l	37,50 c-i	38,77 b-i
BLKSR-6	35,93 a-j	36,63 b-i	43,53 a-f	41,80 a-e	37,80 c-j
BLKSR-7	36,87 a-h	38,77 b-g	39,97 a-k	37,47 c-i	37,47 c-j
BLKSR-8	34,80 b-k	32,60 c-k	39,57 a-k	35,97 d-i	35,37 d-m
BLKSR-9	37,33 a-h	39,87 b-e	40,37 a-j	36,70 c-i	35,73 c-m
BLKSR-11	29,93 h-m	33,37 c-j	36,20 e-m	37,33 c-i	34,90 d-m
BLKSR-16	42,13 abc	43,67 ab	42,10 a-h	43,93 abc	45,20 ab
BLKSR-17	36,30 a-j	35,87 b-j	41,07 a-i	41,93 a-e	37,60 c-j
BLKSR-18	35,13 a-k	34,67 c-j	41,07 a-i	41,43 a-e	40,63 b-g
BLKSR-21	27,73 klm	31,57 f-k	33,50 i-n	33,07 f-j	33,80 g-p
BLKSR-22	37,10 a-h	38,30 b-h	42,17 a-h	39,03 b-g	38,57 b-j
BLKSR-30	35,53 a-k	34,50 c-j	40,40 a-j	39,60 b-f	38,27 b-j
ZÜLBİYE	31,97 e-l	35,57 b-j	39,93 a-k	38,10 b-h	34,60 e-n
YAKUTİYE	32,80 d-k	35,07 c-j	36,97 e-m	35,57 d-i	37,23 c-k
HK-26	34,60 c-k	35,07 c-j	36,13 e-m	36,03 d-i	34,60 e-n
EL-37	34,80 b-k	34,53 c-j	38,57 b-l	37,43 c-i	41,10 a-f
HK-57	36,60 a-i	40,77 bc	41,73 a-h	45,30 ab	38,87 b-h
58	33,83 d-k	36,67 b-i	39,77 a-k	36,53 c-i	36,80 c-k
115	36,27 a-j	37,83 b-i	42,30 a-h	37,07 c-i	37,60 c-j
Minimum	22,73	24,50	27,77	27,20	23,13
Maksimum	43,17	50,87	46,30	48,70	48,03
Ortalama	33,93	35,30	38,32	37,39	35,63
F değeri	3,33**	3,18**	3,65**	4,00**	5,75**
LSD _{0,01}	8,05	8,23	7,64	7,46	7,10

Fasulye genotiplerinden çevresel strese tepkisini incelemek için farklı sıcaklık koşullarında belirlenen fotosistem II'nin (*PSII*) maksimum kuantum verimi (F_v/F_m) değerleri arasındaki genotip x çevre interaksyonu % 1 düzeyinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($F=1,28^{**}$, $LSD_{0,01}=0,120$) (Tablo 26). Fasulye genotiplerinden farklı sıcaklarda ölçülen F_v/F_m değerlerinin box plot analizi Şekil 28'de, ortalama, minimum ve maksimum değerlerine ait sonuçlar ise Tablo 27'de verilmiştir. Box plot analizi sonucuna göre fasulye genotipleri arasında F_v/F_m

değerleri arasındaki varyasyon 20 °C, 15 °C ve 10 °C’de düşük iken, sıcaklığın düşmesi ile genotiplerin F_v/F_m değerleri arasındaki farklılıklarda önemli artışların olduğu görülmektedir (Şekil 28). Diğer taraftan, 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C’deki F_v/F_m değerleri arasında istatistiki olarak % 1 düzeyinde önemli varyasyonların olduğu belirlenmiştir. Tablo 27’de de görüldüğü gibi 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C’deki minimum ve maksimum F_v/F_m değerleri sırasıyla 0,545-0,760 ($F=3,90^{**}$, $LSD_{0,01}=0,07$), 0,647-0,749 ($F=4,25^{**}$, $LSD_{0,01}=0,04$), 0,598-0,749 ($F=2,03^{**}$, $LSD_{0,01}=0,07$), 0,340-0,613 ($F=1,70^{**}$, $LSD_{0,01}=0,18$) ve 0,161-0,355 ($F=1,13^{**}$, $LSD_{0,01}=0,17$) arasında değişmiştir (Ek 9). Ortalama F_v/F_m değeri kontrol grubunda 0,678 olarak belirlenirken, 5 °C’de 0,464, 0 °C’de ise 0,262 olarak belirlenmiştir. Fasulye genotipleri arasında en yüksek F_v/F_m değeri 5 °C’de ÇNK-9 (109,07) genotipinde, 0 °C’de ise BLKSR-3 genotipinden elde edilmiştir. BLKSR-3 genotipini 0,350 ve 0,347 değerleri ile BRS-27 ve BRS-3 genotipleri takip etmiştir. Diğer taraftan, en düşük F_v/F_m değeri 5 °C’de BRS-5 genotipinde, 0 °C’de ise DZC-9 genotipinden elde edilmiştir. DZC-9 fasulye genotipini BRS-5 ve BRS-14 genotipleri takip etmiştir.



Şekil 28. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki F_v/F_m değerlerinin box plot analizi

Tablo 26. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen F_v/F_m değerlerinin genotip x çevre interaksyonu

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,003	0,87	0,012
Çevre	4	6,845	2109,47	0,015
Genotip	60	0,011	3,42	0,054
Gen*Çevre	240	0,004	1,28**	0,120
Hata	608	0,003		
Toplam	914			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

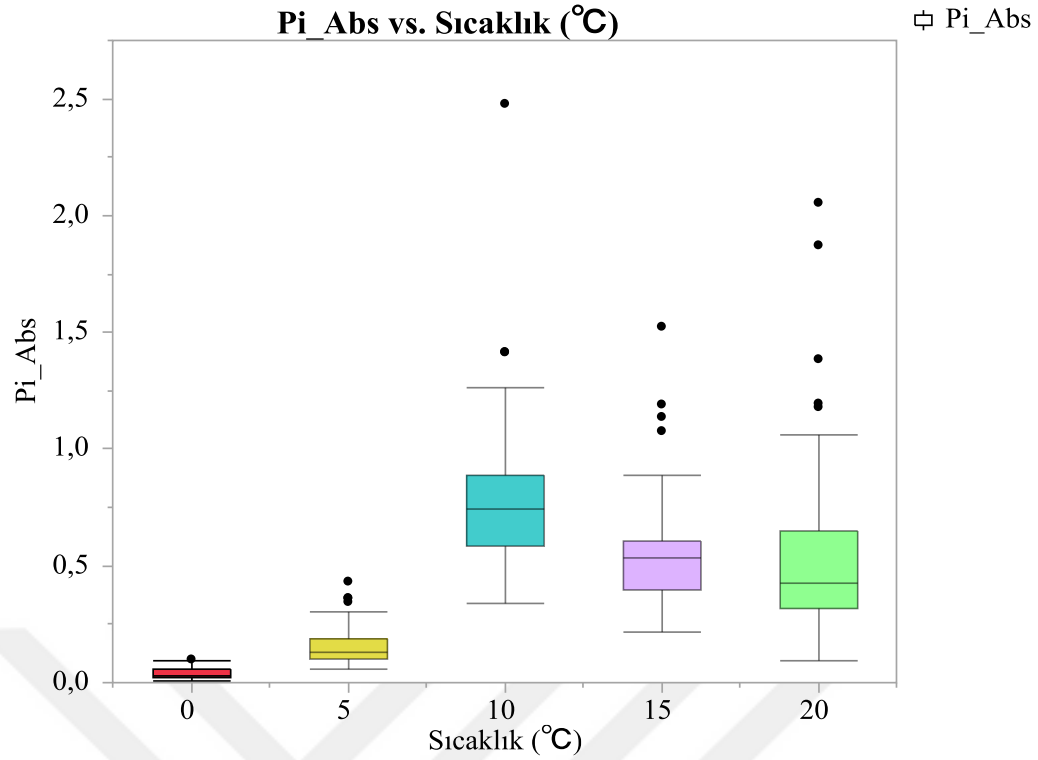
Tablo 27. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen F_v/F_m değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması

Genotip	0 °C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
YLV-9	0,266 abc	0,492 a-i	0,738 a-d	0,732 a-d	0,703 a-j
YLV-14	0,265 abc	0,451 a-i	0,712 a-f	0,699 c-k	0,647 i-n
YLV-16	0,265 abc	0,528 a-h	0,704 a-f	0,685 g-n	0,645 i-n
YLV-20	0,213 abc	0,516 a-i	0,713 a-f	0,704 b-k	0,653 f-n
YLV-22	0,226 abc	0,528 a-h	0,749 a	0,705 b-k	0,651 g-n
YLV-23	0,233 abc	0,532 a-g	0,690 a-f	0,680 h-n	0,641 i-n
YLV-27	0,231 abc	0,444 a-i	0,733 a-d	0,692 e-k	0,629 k-n
YLV-28	0,217 abc	0,409 c-i	0,720 a-e	0,696 d-k	0,655 e-n
YLV-31	0,309 abc	0,440 a-i	0,739 a-d	0,680 h-n	0,618 mn
YLV-32	0,211 abc	0,451 a-i	0,734 a-d	0,681 h-n	0,640 j-n
DZC-2	0,280 abc	0,401 c-i	0,598 g	0,647 n	0,545 o
DZC-3	0,231 abc	0,584 abc	0,656 efg	0,692 f-k	0,659 e-n
DZC-4	0,278 abc	0,599 ab	0,737 a-d	0,686 g-m	0,663 d-n
DZC-7	0,196 abc	0,383 e-i	0,702 a-f	0,702 b-k	0,689 b-l
DZC-9	0,161 c	0,348 h-i	0,712 a-f	0,704 b-k	0,706 a-j
BRS-3	0,347 ab	0,507 a-i	0,697 a-f	0,669 j-n	0,652 g-n
BRS-4	0,345 ab	0,613 a	0,694 a-f	0,695 d-k	0,669 c-n
BRS-5	0,178 bc	0,340 i	0,667 c-g	0,667 k-n	0,667 c-n
BRS-8	0,230 abc	0,458 a-i	0,687 a-f	0,683 g-n	0,652 g-n
BRS-9	0,309 abc	0,414 c-i	0,685 a-f	0,690 f-k	0,690 b-l
BRS-10	0,275 abc	0,475 a-i	0,726 a-e	0,700 b-k	0,701 a-j
BRS-14	0,191 abc	0,368 gh-i	0,645 fg	0,683 g-n	0,663 d-n
BRS-19	0,204 abc	0,431 a-i	0,656 efg	0,652 lmn	0,623 lmn
BRS-20	0,223 abc	0,492 a-i	0,718 a-f	0,695 d-k	0,722 a-f
BRS-21	0,239 abc	0,482 a-i	0,675 b-f	0,686 g-l	0,692 a-l
BRS-22	0,252 abc	0,487 a-i	0,672 b-f	0,676 i-n	0,689 b-l
BRS-23	0,220 abc	0,439 a-i	0,694 a-f	0,667 k-n	0,644 i-n
BRS-24	0,231 abc	0,491 a-i	0,698 a-f	0,693 e-k	0,735 abc
BRS-27	0,350 a	0,566 a-e	0,667 d-g	0,667 k-n	0,654 f-n
BLCK-3	0,222 abc	0,400 d-i	0,702 a-f	0,688 f-l	0,648 h-n
BLCK-4	0,304 abc	0,536 a-g	0,720 a-e	0,685 g-n	0,686 b-m
BLCK-5	0,319 abc	0,510 a-i	0,701 a-f	0,701 b-k	0,703 a-j
BLCK-7	0,281 abc	0,407 c-i	0,712 a-f	0,700 b-k	0,680 c-n
ÇNK-1	0,206 abc	0,383 f-i	0,716 a-f	0,712 a-i	0,694 a-k
ÇNK-2	0,220 abc	0,413 c-i	0,705 a-f	0,700 b-k	0,702 a-j
ÇNK-4	0,256 abc	0,390 e-i	0,694 a-f	0,707 b-j	0,694 a-k
ÇNK-6	0,237 abc	0,380 gh-i	0,694 a-f	0,707 b-j	0,694 a-k
ÇNK-7	0,297 abc	0,416 b-i	0,671 b-g	0,683 g-n	0,657 e-n
ÇNK-8	0,206 abc	0,411 c-i	0,654 efg	0,684 g-n	0,617 mn
ÇNK-9	0,335 ab	0,530 a-h	0,740 abc	0,713 a-i	0,705 a-j
ÇNK-10	0,316 abc	0,485 a-i	0,691 a-f	0,726 a-f	0,672 c-n
BLKSR-3	0,355 a	0,400 d-i	0,699 a-f	0,684 g-n	0,719 a-g

Tablo 27. Devam.

Genotip	0 °C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
BLKSR-4	0,253 abc	0,427 b-ı	0,669 b-g	0,684 g-n	0,694 a-k
BLKSR-6	0,293 abc	0,503 a-ı	0,705 a-f	0,697 d-k	0,718 a-h
BLKSR-7	0,204 abc	0,389 e-ı	0,670 b-g	0,648 mn	0,616 n
BLKSR-8	0,271 abc	0,449 a-ı	0,669 b-g	0,691 f-k	0,665 d-n
BLKSR-9	0,328 abc	0,565 a-f	0,704 a-f	0,689 f-l	0,677 c-n
BLKSR-11	0,246 abc	0,450 a-ı	0,713 a-f	0,697 d-k	0,676 c-n
BLKSR-16	0,341 ab	0,575 a-d	0,718 a-e	0,689 f-l	0,724 a-e
BLKSR-17	0,243 abc	0,466 a-ı	0,715 a-f	0,738 ab	0,694 a-k
BLKSR-18	0,295 abc	0,533 a-g	0,721 a-e	0,718 a-h	0,710 a-ı
BLKSR-21	0,331abc	0,464 a-ı	0,669 b-g	0,713 a-ı	0,703 a-j
BLKSR-22	0,244 abc	0,443 a-ı	0,657 efg	0,708 b-ı	0,686 b-m
BLKSR-30	0,270 abc	0,471 a-ı	0,713 a-f	0,714 a-ı	0,670 c-n
ZÜLBİYE	0,234 abc	0,488 a-ı	0,673 b-f	0,717 a-h	0,689 b-l
YAKUTİYE	0,262 abc	0,495 a-ı	0,708 a-f	0,730 a-e	0,729 a-d
HK-26	0,338 ab	0,510 a-ı	0,680 a-f	0,749 a	0,760 a
EL-37	0,234 abc	0,431 a-ı	0,711 a-f	0,737 abc	0,751 ab
HK-57	0,214 abc	0,424 b-ı	0,687 a-f	0,721 a-g	0,686 b-m
58	0,337 ab	0,533 a-g	0,741 ab	0,737 abc	0,731 a-d
115	0,287 abc	0,371 ghı	0,704 a-f	0,715 a-ı	0,692 a-l
Minimum	0,161	0,340	0,598	0,647	0,545
Maksimum	0,355	0,613	0,749	0,749	0,760
Ortalama	0,262	0,464	0,697	0,697	0,678
F değeri	1,13**	1,70**	2,03**	4,25**	3,90**
LSD _{0,01}	0,17	0,18	0,07	0,04	0,07

Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklık derecelerinde bitkinin genel fotosentetik performansını araştırmak için çok etkili ve güçlü bir parametre olan absorpsiyon bazında fotosentetik performans indeksi (PI_{abs}) değerleri ölçülmüştür. PI_{abs} değerleri kullanılarak yapılan varyans analizinde genotip x çevre interaksiyonu % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur ($F=1,95^{**}$, $LSD_{0,01}=0,120$) (Tablo 28). Fasulye genotiplerinden farklı sıcaklarda ölçülen PI_{abs} değerlerinin box plot analizi Şekil 29’da, ortalama, minimum ve maksimum değerlerine ait sonuçlar ise Tablo 29’da verilmiştir. Box plot analizi sonucuna göre 0 °C ve 5 °C’deki PI_{abs} değerlerinin kontrol grununa göre oldukça düştüğü belirlenmiştir. Diğer taraftan, her sıcaklıkta (20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C) gerçekleştirilen PI_{abs} ölçümleri arasında istatistiki olarak % 1 düzeyinde önemli varyasyonların olduğu belirlenmiştir (Ek 10).



Şekil 29. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki PI_{abs} değerlerinin box plot analizi

Tablo 28. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen PI_{abs} değerlerinin genotip x çevre interaksyonu

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,09	1,31	0,012
Çevre	4	17,38	249,88	0,015
Genotip	60	0,40	5,79	0,054
Gen*Çevre	240	0,14	1,95**	0,120
Hata	608	0,07		
Toplam	914			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Tablo 29’da da görüldüğü gibi 20 °C, 15 °C, 10 °C, 5 °C ve 0 °C’deki minimum ve maksimum PI_{abs} değerleri sırasıyla 0,092-2,057 ($F=4,29^{**}$, $LSD_{0,01}=0,67$), 0,213-1,526 ($F=2,69^{**}$, $LSD_{0,01}=0,56$), 0,342-2,481 ($F=1,99^{**}$, $LSD_{0,01}=0,85$), 0,058-0,435 ($F=1,44^{**}$, $LSD_{0,01}=0,25$) ve 0,007-0,102 ($F=1,05^{**}$, $LSD_{0,01}=0,08$) arasında değişmiştir. Ortalama PI_{abs} değeri kontrol grubunda 0,531 olarak belirlenirken, 5 °C’de 0,160, 0 °C’de ise 0,039 olarak belirlenmiştir. Fasulye genotipleri arasında en yüksek PI_{abs} değeri 5 °C’de DZC-4 genotipinde, 0 °C’de ise HK-26 kontrol genotipinden elde edilmiştir. HK-26 kontrol genotipini, BLCK-4 (0,094), BRS-27 (0,085) ve BLKSR-3 (0,071) genotipleri takip etmiştir. Diğer taraftan, en düşük PI_{abs} değeri 5 °C’de DZC-2 genotipinde, 0 °C’de ise DZC-9

genotipinden elde edilmiştir. DZC-9 fasulye genotipini BRS-5, ÇNK-8 ve BRS-14 genotipleri takip etmiştir.

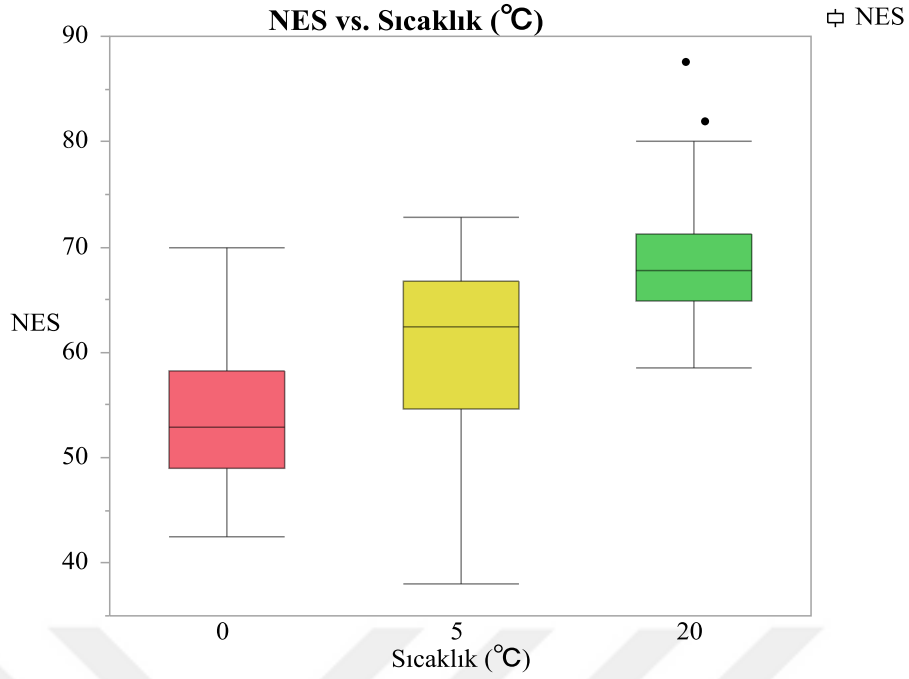
Tablo 29. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen PI_{abs} değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması

Genotip	0 °C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
YLV-9	0,029 a-d	0,188 bcd	1,112 bcd	0,833 b-f	0,603 c-f
YLV-14	0,025 a-d	0,140 bcd	0,832 bcd	0,585 c-h	0,400 def
YLV-16	0,032 a-d	0,183 bcd	0,741 bcd	0,438 e-h	0,270 ef
YLV-20	0,020 bcd	0,364 ab	0,890 bcd	0,574 d-h	0,378 ef
YLV-22	0,020 bcd	0,193 a-d	1,417 b	0,534 d-h	0,278 ef
YLV-23	0,026 a-d	0,218 a-d	0,740 bcd	0,499 e-h	0,320 ef
YLV-27	0,029 a-d	0,171 bcd	1,221 bc	0,528 d-h	0,309 ef
YLV-28	0,017 cd	0,091 d	0,889 bcd	0,431 e-h	0,140 f
YLV-31	0,032 a-d	0,125 bcd	0,841 bcd	0,223 h	0,142 f
YLV-32	0,015 cd	0,122 bcd	1,204 bc	0,244 gh	0,102 f
DZC-2	0,031 a-d	0,058 d	0,475 cd	0,323 fgh	0,115 f
DZC-3	0,038 a-d	0,301 a-d	0,653 bcd	0,652 b-h	0,481 def
DZC-4	0,037 a-d	0,435 a	1,267 bc	0,438 e-h	0,409 def
DZC-7	0,018 bcd	0,104 cd	0,836 bcd	0,534 d-h	0,676 c-f
DZC-9	0,007 d	0,079 d	0,660 bcd	0,532 d-h	0,661 c-f
BRS-3	0,059 a-d	0,207 a-d	0,659 bcd	0,227 h	0,251 ef
BRS-4	0,055 a-d	0,363 ab	0,598 bcd	0,531 d-h	0,481 def
BRS-5	0,014 cd	0,077 d	0,428 cd	0,299 fgh	0,316 ef
BRS-8	0,028 a-d	0,155 bcd	0,741 bcd	0,585 c-h	0,339 ef
BRS-9	0,060 a-d	0,101 d	0,611 bcd	0,604 c-h	0,613 c-f
BRS-10	0,022 bcd	0,162 bcd	0,850 bcd	0,569 d-h	0,649 c-f
BRS-14	0,015 cd	0,077 d	0,342 d	0,599 c-h	0,316 ef
BRS-19	0,021 bcd	0,132 bcd	0,508 cd	0,300 fgh	0,212 ef
BRS-20	0,024 bcd	0,235 a-d	0,798 bcd	0,508 e-h	1,064 bcd
BRS-21	0,026 a-d	0,249 a-d	0,484 cd	0,514 e-h	0,576 c-f
BRS-22	0,028 a-d	0,185 bcd	0,528 cd	0,366 e-h	0,572 c-f
BRS-23	0,020 bcd	0,108 cd	0,630 bcd	0,262 gh	0,092 f
BRS-24	0,022 bcd	0,159 bcd	0,802 bcd	0,533 d-h	1,182 bc
BRS-27	0,085 abc	0,348 abc	0,902 bcd	0,396 e-h	0,455 def
BLCK-3	0,031 a-d	0,096 d	1,009 bcd	0,614 c-h	0,299 ef
BLCK-4	0,094 ab	0,270 a-d	1,418 b	0,745 b-h	0,649 c-f
BLCK-5	0,060 a-d	0,216 a-d	0,718 bcd	0,788 b-g	0,635 c-f
BLCK-7	0,069 a-d	0,103 cd	0,921 bcd	0,504 e-h	0,448 def
ÇNK-1	0,024 bcd	0,112 cd	0,653 bcd	0,403 e-h	0,356 ef
ÇNK-2	0,025 bcd	0,106 cd	0,698 bcd	0,316 fgh	0,568 c-f
ÇNK-4	0,043 a-d	0,098 d	0,488 cd	0,567 d-h	0,422 def
ÇNK-6	0,034 a-d	0,094 d	0,772 bcd	0,430 e-h	0,369 ef
ÇNK-7	0,054 a-d	0,107 cd	0,574 bcd	0,299 fgh	0,378 ef
ÇNK-8	0,014 cd	0,098 d	0,450 cd	0,484 e-h	0,269 ef
ÇNK-9	0,054 a-d	0,169 bcd	1,147 bcd	0,548 d-h	0,644 c-f
ÇNK-10	0,068 a-d	0,168 bcd	0,543 cd	0,734 b-h	0,236 ef
BLKSR-3	0,071 a-d	0,108 cd	0,609 bcd	0,213 h	0,732 b-f
BLKSR-4	0,038 a-d	0,133 bcd	0,612 bcd	0,303 fgh	0,592 c-f
BLKSR-6	0,054 a-d	0,163 bcd	0,694 bcd	0,441 e-h	0,816 b-e
BLKSR-7	0,018 bcd	0,094 d	0,491 cd	0,229 h	0,122 f
BLKSR-8	0,037 a-d	0,100 d	0,502 cd	0,559 d-h	0,372 ef
BLKSR-9	0,058 a-d	0,204 a-d	0,827 bcd	0,566 d-h	0,359 ef
BLKSR-11	0,030 a-d	0,126 bcd	0,858 bcd	0,432 e-h	0,357 ef
BLKSR-16	0,064 a-d	0,269 a-d	0,831 bcd	0,342 e-h	0,819 ef
BLKSR-17	0,022 bcd	0,110 cd	0,766 bcd	0,886 b-e	0,335 ef

Tablo 29. Devam.

Genotip	0 °C	5 °C	10 °C	15 °C	Kontrol
BLKSR-18	0,055 a-d	0,227 a-d	0,947 bcd	0,512 e-h	0,682 c-f
BLKSR-21	0,069 a-d	0,126 bcd	0,576 bcd	0,642 b-h	0,559 c-f
BLKSR-22	0,052 a-d	0,117 cd	0,512 cd	0,659 b-h	0,533 c-f
BLKSR-30	0,061 a-d	0,120 bcd	0,799 bcd	1,193 ab	0,663 c-f
ZÜLBİYE	0,025 a-d	0,143 bcd	0,619 bcd	0,599 c-h	0,456 def
YAKUTİYE	0,042 a-d	0,144 bcd	0,863 bcd	1,079 a-d	1,197 bc
HK-26	0,102 a	0,184 bcd	2,481 a	1,526 a	2,057 a
EL-37	0,025 a-d	0,120 bcd	0,949 bcd	0,847 b-f	1,875 a
HK-57	0,026 a-d	0,095 d	0,575 bcd	0,702 b-h	0,428 def
58	0,064 a-d	0,158 bcd	1,091 bcd	1,140 abc	1,387 ab
115	0,052 a-d	0,071 d	0,695 bcd	0,508 e-h	0,362 ef
Minimum	0,007	0,058	0,342	0,213	0,092
Maksimum	0,102	0,435	2,481	1,526	2,057
Ortalama	0,039	0,160	0,793	0,549	0,531
F değeri	1,05**	1,44**	1,99**	2,69**	4,29**
LSD _{0,01}	0,08	0,25	0,85	0,56	0,67

Farklı sıcaklık derecelerine maruz kalmış bitkilerden alınan yaprak dokuları üzerinde nisbi elektrolit sızıntı testi (*NES*) gerçekleştirilmiştir. 20 °C, 5 °C ve 0 °C'deki bitki gruplarındaki *NES* ölçüm değerleri kullanılarak yapılan varyans analizinde genotip x çevre interaksiyonu % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur ($F=2,63^{**}$, $LSD_{0,01}=12,13$) (Tablo 30). Fasulye genotiplerinde farklı sıcaklarda belirlenen *NES* değerlerinin box plot analizi Şekil 30'da, ortalama, minimum ve maksimum değerlerine ait sonuçlar ise Tablo 31'de verilmiştir. Box plot analizi sonucuna göre 0 °C ve 5 °C'deki *NES* değerlerinin kontrol grununa göre oldukça düştüğü belirlenmiştir. Diğer taraftan, her sıcaklıkta (20 °C, 5 °C ve 0 °C) gerçekleştirilen *NES* ölçümleri arasında da istatistiki olarak % 1 düzeyinde önemli varyasyonların olduğu belirlenmiştir (Ek 11).



Şekil 30. Fasulye genotiplerinin farklı sıcaklardaki *NES* değerlerinin box plot analizi

Tablo 30. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *NES* değerlerinin genotip x çevre etkileşimi

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	6,18	0,19	1,55
Çevre	2	10122,66	307,56	1,55
Genotip	60	276,25	8,39	7,00
Gen*Çevre	120	86,40	2,63**	12,13
Hata	364	32,91		
Toplam	548			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Tablo 31’de de görüldüğü gibi 20 °C, 5 °C ve 0 °C’deki minimum ve maksimum *NES* değerleri sırasıyla 58,56-87,57 ($F=1,74^{**}$, $LSD_{0,01}=15,72$), 38,05-72,75 ($F=8,93^{**}$, $LSD_{0,01}=10,68$) ve 42,12-69,89 ($F=6,35^{**}$, $LSD_{0,01}=9,73$) olarak tespit edilmiştir. Ortalama *NES* değeri kontrol grubunda 68,43 olarak belirlenirken, 5 °C’de 60,95, 0 °C’de ise 53,55 olarak belirlenmiştir. Fasulye genotipleri arasında en yüksek *NES* değeri 5 °C’de ÇNK-1 genotipinde, 0 °C’de ise 58 nolu kontrol genotipinde belirlenmiştir. Kontrol genotipini, HK-57 (65,87), Zülbiye çeşidi (64,09) ve BLKSR-7 (64,06) genotipi takip etmiştir. Diğer taraftan, en düşük *NES* değeri 5 °C’de YLV-20 genotipinde, 0 °C’de ise YLV-22 genotipinden elde edilmiştir. YLV-22 fasulye genotipini, 42,47 *NES* değeri ile YLV-14 fasulye genotipi takip etmiştir.

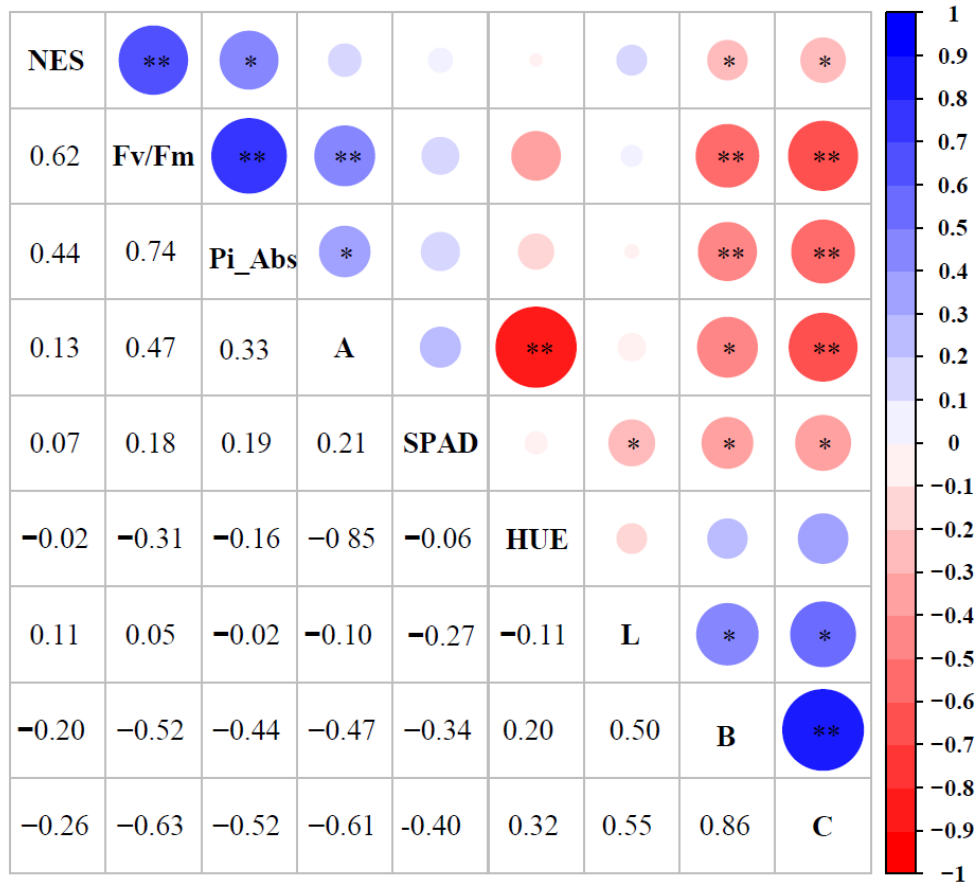
Tablo 31. Farklı sıcaklarda fasulye genotiplerinden elde edilen *NES* değerlerinin varyans analizleri, ortalama, minimum, maksimum değerleri ve LSD gruplandırması

Genotip	0 °C	5 °C	Kontrol
YLV-9	50,16 j-s	53,50 m-t	71,70 b-g
YLV-14	42,47 rs	43,71 tuv	73,11 a-g
YLV-16	46,73 m-s	46,35 s-v	66,80 b-g
YLV-20	45,62 n-s	38,05 v	71,17 b-g
YLV-22	42,12 s	38,93 v	64,04 d-g
YLV-23	44,02 p-s	42,34 uv	60,09 efg
YLV-27	46,43 m-s	49,88 p-u	62,47 d-g
YLV-28	49,10 k-s	49,70 q-u	68,45 b-g
YLV-31	53,81 e-o	51,72 n-u	69,58 b-g
YLV-32	56,89 b-l	50,35 o-u	67,78 b-g
DZC-2	53,87 e-o	60,51 e-p	70,96 b-g
DZC-3	49,59 j-s	54,24 l-t	65,38 c-g
DZC-4	54,12 d-o	65,06 a-k	63,36 d-g
DZC-7	50,30 j-s	52,37 n-u	62,93 d-g
DZC-9	53,29 f-p	61,05 d-n	66,79 b-g
BRS-3	43,43 qrs	47,73 r-v	60,02 fg
BRS-4	54,44 c-o	57,94 h-r	68,51 b-g
BRS-5	48,80 k-s	58,75 g-q	65,08 c-g
BRS-8	51,96 g-r	54,46 k-s	64,05 d-g
BRS-9	57,11 b-l	62,39 a-n	69,40 b-g
BRS-10	63,95 abc	70,15 a-e	67,74 b-g
BRS-14	57,31 b-l	61,24 c-n	66,01 c-g
BRS-19	63,43 a-e	70,53 a-e	71,97 a-g
BRS-20	52,67 f-q	71,82 abc	65,15 c-g
BRS-21	45,59 n-s	68,45 a-h	61,19 efg
BRS-22	44,89 o-s	66,15 a-i	65,59 c-g
BRS-23	48,03 k-s	66,63 a-i	65,13 c-g
BRS-24	43,71 p-s	66,78 a-i	63,29 d-g
BRS-27	50,09 j-s	58,75 g-q	58,56 g
BLCK-3	48,33 k-s	63,53 a-m	64,57 c-g
BLCK-4	48,74 k-s	66,73 a-i	74,48 a-f
BLCK-5	53,15 f-q	65,46 a-j	67,89 b-g
BLCK-7	59,08 b-j	70,29 a-e	75,81 a-e
ÇNK-1	54,73 c-n	72,75 a	87,57 a
ÇNK-2	52,95 f-q	67,51 a-i	73,92 a-g
ÇNK-4	53,26 f-p	65,56 a-i	77,71 a-d
ÇNK-6	56,11 c-m	71,56 a-d	75,21 a-f
ÇNK-7	52,23 g-q	70,90 a-e	61,32 efg
ÇNK-8	59,16 b-j	69,46 a-f	81,93 ab
ÇNK-9	60,34 a-i	72,62 a	80,02 abc
ÇNK-10	60,98 a-h	58,63 g-q	71,35 b-g
BLKSR-3	61,37 a-g	64,43 a-l	73,92 a-g
BLKSR-4	57,41 b-k	59,29 f-q	64,10 d-g
BLKSR-6	63,76 a-d	61,92 b-n	65,19 c-g
BLKSR-7	64,06 abc	54,82 j-s	63,68 d-g
BLKSR-8	51,17 i-s	54,25 l-t	68,21 b-g
BLKSR-9	47,82 k-s	57,75 i-r	66,06 c-g
BLKSR-11	49,74 j-s	60,97 d-o	66,85 b-g
BLKSR-16	51,52 h-s	65,02 a-k	65,91 c-g
BLKSR-17	49,72 j-s	63,95 a-m	67,25 b-g
BLKSR-18	49,29 k-s	65,44 a-j	70,45 b-g
BLKSR-21	47,67 l-s	64,38 a-l	62,64 d-g
BLKSR-22	50,49 j-s	62,09 a-n	65,97 c-g
BLKSR-30	56,53 b-l	64,29 a-l	68,60 b-g
ZÜLBİYE	64,09 abc	68,79 a-g	67,90 b-g
YAKUTİYE	57,21 b-l	60,92 d-o	67,33 b-g

Tablo 31. Devam.

Genotip	0 °C	5 °C	Kontrol
HK-26	60,41 a-ı	66,23 a-ı	70,07 b-g
EL-37	62,39 a-f	66,81 a-ı	69,68 b-g
HK-57	65,87 ab	60,61 e-o	73,14 a-g
58	69,89 a	72,48 ab	80,05 abc
115	63,24 a-e	69,00 a-g	68,91 b-g
Minimum	42,12	38,05	58,56
Maksimum	69,89	72,75	87,57
Ortalama	53,55	60,95	68,43
F değeri	6,35**	8,93**	1,74**
LSD _{0,01}	9,73	10,68	15,72

Fasulye genotiplerinin 20 °C, 5 °C ve 0 °C'deki gruplarından elde edilen *NES*, F_v/F_m , PI_{abs} , *SPAD*, *a*, *b*, *chroma* ve *Hue* özelliklerinin birbirleri arasındaki ilişki seviyesini belirlemek için korelasyon analizi gerçekleştirilmiştir (Şekil 31). Ele alınan karakterler arasındaki ikili ilişkiler incelendiğinde *NES* ile F_v/F_m ($r=0.617^{**}$) ve *NES* ile PI_{abs} ($r=0.44^{**}$) arasında anlamlı pozitif düzeyde ilişkiler belirlenmiştir. Diğer taraftan *NES* değerinin *b* ($r=-0.202^{**}$) ve *chroma* ($r=-0.258^{**}$) özellikleri ile negatif düzeyde önemli ilişki gösterdiği tespit edilmiştir. PI_{abs} ile F_v/F_m ($r=0.735^{**}$), *SPAD* ($r=0.188^*$) ve *a* değeri ($r=0.334^{**}$) arasında olumlu yönde önemli ilişkiler belirlenmiş, ancak *b* değeri ($r=-0.443^{**}$) ile *chroma* değeri ($r=-0.521^{**}$) ile arasında olumsuz yönde önemli ilişki olduğu belirlenmiştir. Şekil 31'de de görüldüğü gibi F_v/F_m özelliği ile *a* değeri ($r=0.471^{**}$), *SPAD* ($r=0.175^*$), PI_{abs} ($r=0.735^{**}$), ve *NES* ($r=0.617^{**}$) arasında pozitif yönde önemli interaksiyonlar gösterdiği, *b* değeri ($r=-0.517^{**}$) ve *chroma* değeri ($r=-0.632^{**}$) ile negatif yönde önemli interaksiyon gösterdiği belirlenmiştir. Yerel fasulye genotiplerinde *SPAD* değeri ile F_v/F_m ($r=0.175^{**}$), *a* değeri ($r=0.334^{**}$) ve PI_{abs} ($r=0.188^*$) arasında pozitif düzeyde önemli korelasyonlar belirlenirken, sadece *L* ($r=-0.274^{**}$), *b* ($r=-0.338^{**}$) ve *chroma* ($r=-0.395^{**}$) özelliği ile negatif yönde anlamlı korelasyon tespit edilmiştir.



Şekil 31. Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde kullanılan özelliklerin korelasyon analizi

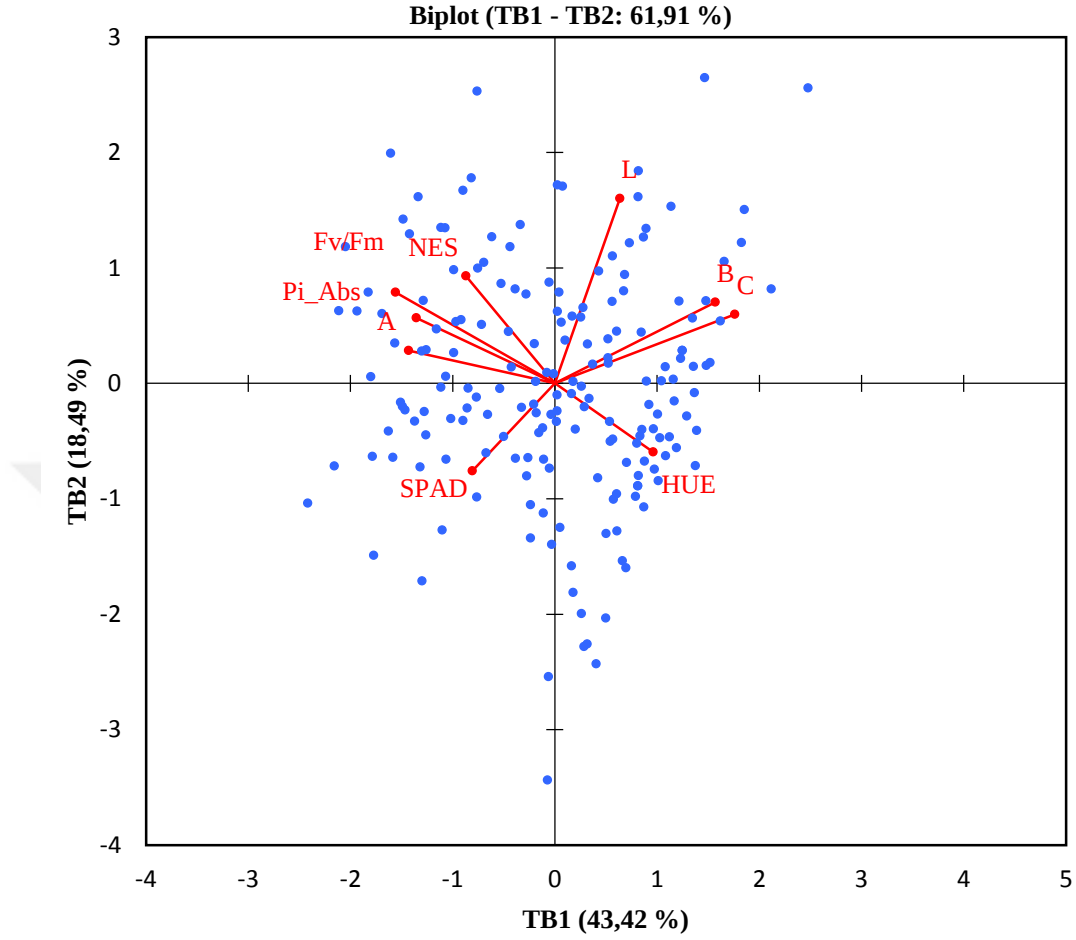
İncelenen özelliklerin (*NES*, F_v/F_m , PI_{abs} , *SPAD*, *L*, *a*, *b*, *chroma* ve *Hue*) veri seti kullanılarak bir boyut indirgeme yöntemi olan temel bileşenler analizi yapılmış (TBA) ve toplam varyasyonun % 92,52'lik bölümü 5 temel bileşen ekseninden elde edilmiştir (Tablo 32). Temel bileşenlerin miktarları, yüzde varyansları ve yüzde kümülatif değerleri Tablo 32'de verilmiştir. Birinci bileşen (TB1), tüm varyasyonun % 43,42'sini ifade etmiştir. İlk bileşende sırasıyla *chroma*, *b*, *Hue* ve *L* değerleri pozitif etki göstermişler ve yüksek katsayılarla sahip olmuşlardır. İkinci bileşen (TB2) ise tüm varyasyonun % 18,49'unu açıklamıştır. Bu bileşende ise *L*, *NES* ve F_v/F_m özellikleri en yüksek katsayıları göstermişlerdir. Üçüncü bileşen (TB3) ise tüm varyasyonun % 16,16'sını açıklamıştır. Bu bileşende sırasıyla *Hue*, *NES* ve PI_{abs} parametreleri en yüksek katsayıya sahip olmuşlardır. Dördüncü bileşen (TB4) toplam varyasyonun % 8,65'ini oluşturmakta olup *SPAD* parametresi en yüksek katkıyı sağlamıştır. Beşinci bileşende (TB5) ise toplam varyasyonun % 5,80'i temsil edilmiş ve *NES* özelliği en yüksek katkıyı sağlamıştır.

Tablo 32. Fasulye genotiplerinin fenotiplenmesinde kullanılan özelliklerin temel bileşen analizi

Özellik	TB1	TB2	TB3	TB4	TB5
<i>L</i>	0,329	0,827	-0,080	0,238	-0,168
<i>a</i>	-0,740	0,147	-0,607	0,005	0,079
<i>b</i>	0,811	0,364	-0,083	0,185	0,033
<i>chroma</i>	0,911	0,309	-0,021	0,129	-0,009
<i>HUE</i>	0,497	-0,308	0,775	-0,038	-0,079
<i>SPAD</i>	-0,418	-0,392	0,074	0,816	-0,003
<i>F_v/F_m</i>	-0,807	0,407	0,262	-0,030	-0,062
<i>PI_{abs}</i>	-0,701	0,293	0,350	-0,020	-0,452
<i>NES</i>	-0,449	0,480	0,523	0,045	0,521
Özdeğer	3,908	1,664	1,454	0,779	0,522
Varyans (%)	43,417	18,492	16,155	8,650	5,802
Kümülatif (%)	43,417	61,909	78,064	86,714	92,516

Çalışmada incelenen özelliklerin (*NES*, *F_v/F_m*, *PI_{abs}*, *SPAD*, *L*, *a*, *b*, *chroma* ve *Hue*) detaylı olarak tanımlaması, değişkenler arasındaki ilişkilerin tespiti ve gözlem birimlerinin sınıflandırılması için biplot analizi gerçekleştirilmiştir. Denemeye alınan fasulye genotiplerinin incelenen 8 özellik ile ilişkisini gösteren biplot grafiği Şekil 32’de verilmiştir. Oluşan varyasyonun % 43,42’sini TB1’in ve % 18,49’unu TB2’nin temsil ettiği biplot grafiği, toplam varyasyonun % 61,91’ini açıklamaktadır. Yan ve Fregeau-Reid (2018), değişken iki vektör arasındaki açının 90°’den küçük olduğu durumlarda bu iki değişken arasındaki korelasyonun pozitif eğilimli olduğunu, vektörlerin birbirine dik olduğu durumlarda değişkenler arasında herhangi bir korelasyonun bulunmadığını, vektörler arasındaki açının 90°’den büyük olduğu durumlarda ise değişkenler arasında negatif eğilimli bir korelasyonun bulunduğunu bildirmiştir. Biplot grafiğinde vektörler temelde iki gruba ayrılmıştır. *NES*, *F_v/F_m*, *PI_{abs}*, *SPAD*, *a* vektörleri birbirleri ile pozitif ve önemli korelasyon gösterirken, *L*, *b*, *chroma* ve *Hue* değerleri ile negative korelasyon göstermişlerdir. Şekil 31’de yer alan korelasyon analizinde olduğu gibi *NES*, *F_v/F_m*, *PI_{abs}*, *SPAD* vektörlerinin birbirleri arasında istatistiki olarak önemli ilişkiye sahip olduğu ve bu grupta yer alan genotiplerin soğuk stresi yönünden ümitvar özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu özellikler doğrultusunda soğuk stresi bakımından ümitvar bulunan en toleranslı ve en hassas 10 fasulye genotipi gen ekspresyon çalışmalarında kullanılmak üzere belirlenmiştir. Seçilen genotiplerin özelliklerinin daha açıklayıcı olması bakımından toleranslı ve hassas 10 fasulye

genotipinin 0 °C, 5 °C ve 20 °C'deki F_v/F_m , NES , PI_{abs} ve $SPAD$ değerleri, Tablo 33, Tablo 34, Tablo35 ve Tablo 36'da verilmiştir.



Şekil 32. Fasulye genotiplerinin fenotiplenmesinde kullanılan özelliklerin biplot analizi

Tablo 33. Fenotipleme sonucu seçilen en toleranslı 10 ümitvar fasulye genotipinin 0 °C, 5 °C ve 20 °C derecedeki F_v/F_m ve NES değerleri

Toleranslı Genotipler	F_v/F_m			NES		
	Kontrol	5°C	0°C	Kontrol	5°C	0°C
BLKSR-3	0,719	0,400	0,355	73,92	64,43	61,37
BRS-27	0,654	0,566	0,350	58,56	58,75	50,09
BRS-3	0,652	0,507	0,347	60,02	47,73	43,43
BRS-4	0,669	0,613	0,345	68,51	57,94	54,44
BLKSR-16	0,724	0,575	0,341	65,91	65,02	51,52
ÇNK-9	0,705	0,530	0,335	80,02	72,62	60,34
BLKSR-21	0,703	0,464	0,331	62,64	64,38	47,67
BLKSR-9	0,677	0,565	0,328	66,06	57,75	47,82
BLCK-5	0,703	0,510	0,319	67,89	65,46	53,15
ÇNK-10	0,672	0,485	0,316	71,35	58,63	60,98

Tablo 34. Fenotipleme sonucu seçilen en toleranslı 10 ümitvar fasulye genotipinin 0 °C, 5 °C ve 20 °C derecedeki PI_{abs} ve SPAD değerleri

Toleranslı Genotipler	PI_{abs}			SPAD		
	Kontrol	5°C	0°C	Kontrol	5°C	0°C
BLKSR-3	0,732	0,108	0,071	33,90	31,47	29,50
BRS-27	0,455	0,348	0,085	35,53	39,33	38,67
BRS-3	0,251	0,207	0,059	34,00	30,37	29,87
BRS-4	0,481	0,363	0,055	39,23	36,60	40,53
BLKSR-16	0,819	0,269	0,064	45,20	43,67	42,13
ÇNK-9	0,644	0,169	0,054	36,20	30,03	28,30
BLKSR-21	0,559	0,126	0,069	33,80	31,57	27,73
BLKSR-9	0,359	0,204	0,058	35,73	39,87	37,33
BLCK-5	0,635	0,216	0,060	34,00	34,37	33,37
ÇNK-10	0,236	0,168	0,068	35,57	34,13	33,30

Tablo 35. Fenotipleme sonucu seçilen en hassas 10 fasulye genotipinin 0 °C, 5 °C ve 20 °C derecedeki F_v/F_m ve NES değerleri

Hassas Genotipler	F_v/F_m			NES		
	Kontrol	5°C	0°C	Kontrol	5°C	0°C
DZC-9	0,706	0,348	0,161	66,79	61,05	53,29
BRS-5	0,667	0,340	0,178	65,08	58,75	48,80
BRS-14	0,663	0,368	0,191	66,01	61,24	57,31
DZC-7	0,689	0,383	0,196	62,93	52,37	50,30
BLKSR-7	0,616	0,389	0,204	63,68	54,82	64,06
BRS-19	0,623	0,431	0,204	71,97	70,53	63,43
ÇNK-8	0,617	0,411	0,206	81,93	69,46	59,16
ÇNK-1	0,694	0,383	0,206	87,57	72,75	54,73
YLV-32	0,640	0,451	0,211	67,78	50,35	56,89
YLV-20	0,653	0,516	0,213	71,17	38,05	45,62

Tablo 36. Fenotipleme sonucu seçilen en hassas 10 fasulye genotipinin 0 °C, 5 °C ve 20 °C derecedeki PI_{abs} ve SPAD değerleri

Hassas Genotipler	PI_{abs}			SPAD		
	Kontrol	5°C	0°C	Kontrol	5°C	0°C
DZC-9	0,661	0,079	0,007	41,20	36,43	34,80
BRS-5	0,316	0,077	0,014	42,53	38,53	38,60
BRS-14	0,316	0,077	0,015	31,57	31,73	24,73
DZC-7	0,676	0,104	0,018	36,77	35,63	33,17
BLKSR-7	0,122	0,094	0,018	37,47	38,77	36,87
BRS-19	0,212	0,132	0,021	31,77	31,33	30,83
ÇNK-8	0,269	0,098	0,014	29,03	24,50	22,73
ÇNK-1	0,356	0,112	0,024	37,33	36,63	35,04
YLV-32	0,481	0,122	0,015	34,23	38,00	34,67
YLV-20	0,378	0,364	0,020	27,07	33,17	32,97

Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde 0 °C ve 5 °C’de bitkiler görsel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 37; 38). 5 °C’de gerçekleştirilen görsel değerlendirmede 26 genotip, 2 çeşit ve 2 kontrol genotip zararlanma indeksinde 3. grupta yer almıştır. Diğer taraftan, zararlanma indeksi 4. grupta 5 fasulye genotipi bulunurken, zararlanma indeksi 5. grupta 23 genotip ve 3 kontrol genotip yer almıştır.

Tablo 37. Fenotipleme sonucu fasulye genotiplerinin 5 °C'deki zararlanma indeksine göre görsel değerlendirme sonuçları

Zi	Genotipler	Toplam Bitki Sayısı
3	YLV-14, BRS-3, BRS-27, BLKSR-3, BLCK-4, BLKSR-30, BRS-4, BRS-8, BRS-9, BRS-20, BLCK-3, BLCK-5, BLCK-7, ÇNK-1, ÇNK-2, ÇNK-4, ÇNK-6, ÇNK-7, ÇNK-8, ÇNK-9, ÇNK-10, BLKSR-4, BLKSR-6, BLKSR-7, BLKSR-9, BLKSR-22, ZÜLBİYE, YAKUTİYE, HK-26, EL-37	30
4	YLV-9, YLV-16, YLV-28, YLV-31, BRS-24	5
5	YLV-20, YLV-22, YLV-23, YLV-27, YLV-32, DZC-2, DZC-3, DZC-7, BRS-5, BRS-10, BRS-14, BRS-19, BRS-21, BRS-22, BRS-23, BLKSR-8, BLKSR-11, BLKSR-16, BLKSR-17, BLKSR-21, DZC-4, DZC-9, BLKSR-18, HK-57, 115, 58	26

3. Dayanıklı (Yaprakların % 11-20'sinde soğuk zararı var), 4. Orta derece toleranslı (Yaprakların % 21-40'ında soğuk zararı var), 5. Orta (Yaprakların % 41-60'ında soğuk zararı var), 6. Orta derece hassas (Yaprakların % 61-80'inde soğuk zararı var, ölü bitki var)

0 °C'de gerçekleştirilen görsel değerlendirmede zararlanma indeksinde 3. ve 4. gruplarda sırasıyla 11 genotip ile 2 kontrol genotip ve 4 genotip yer almıştır. Diğer taraftan, zararlanma indeksi 5. grupta 21 fasulye genotipi ile 2 çeşit ve 3 kontrol genotip bulunmaktadır. Zararlanma indeksi 6. grupta 12 genotip, 7. grupta 6 genotip yer almıştır. Dolayısıyla, görsel değerlendirme kriterlerine göre toleranslı 11 fasulye genotipi, orta derece toleranslı 4 fasulye genotipi ve kısmen toleranslı 21 fasulye genotipi belirlenmiştir. Ayrıca, fenotipleme sonucu 12 fasulye genotipi soğuk stresine orta derece hassas, 6 fasulye genotipinin da hassas olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 38. Fenotipleme sonucu fasulye genotiplerinin 0 °C'deki zararlanma indeksine göre görsel değerlendirme sonuçları

Zi	Genotipler	Toplam Bitki Sayısı
3	BLKSR-3, BRS-3, BRS-4, BRS-27, BLCK-5, BLCK-7, ÇNK-9, ÇNK-10, BLKSR-4, BLKSR-6, BLKSR-9, HK-26, EL-37,	13
4	YLV-9, YLV-14, YLV-31, BLCK-4	4
5	YLV-16, YLV-22, YLV-27, DZC-2, DZC-3, BRS-8, BRS-9, BRS-10, BRS-20, BRS-21, BRS-23, BRS-24, BLCK-3, ÇNK-4, ÇNK-6, ÇNK-7, BLKSR-8, BLKSR-16, BLKSR-21, BLKSR-22, BLKSR-30, YAKUTİYE, ZÜLBİYE, HK-57, 115, 58	26
6	YLV-23, YLV-28, YLV-32, DZC-4, BRS-22, ÇNK-1, ÇNK-2, ÇNK-8, BLKSR-7, BLKSR-11, BLKSR-17, BLKSR-18	12
7	YLV-20, DZC-7, BRS-5, BRS-14, BRS-19, DZC-9	6

3. Dayanıklı (Yaprakların % 11-20'sinde soğuk zararı var), 4. Orta derece toleranslı (Yaprakların % 21-40'ında soğuk zararı var), 5. Orta (Yaprakların % 41-60'ında soğuk zararı var), 6. Orta derece hassas (Yaprakların % 61-80'inde soğuk zararı var, ölü bitki var), 7. Hassas (Yaprakların % 81-90'inde soğuk zararı var, ölü bitki var)

Soğuk stresi (Zhou vd., 2018), su eksikliği (Saeidi ve Abdoli, 2015), ısı stresi (Siddiqui vd., 2015; Bishop vd., 2016) ve besin eksikliği (Barlog vd., 2018; De Cillis vd., 2019; Lake vd., 2019) gibi faktörler fizyolojik özellikler üzerinde

olumsuz etki etmektedir. Bitkilerin düşük sıcaklık streslerine karşı tolerans durumlarının belirlenmesinde etkili yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Nitekim Rachmilevitch vd. (2006) stres hasarının derecesini tespit etmek için en hassas bileşenin fotosentetik aparat olduğunu bildirmiştir. Bitkilerde soğuğa ve sıcağa toleransı karakterize etmek için klorofil floresan ölçümleri, renk değerlendirmesi, görsel inceleme ve yapraklardaki yaralanma skorları ve yaprak iletkenliği gibi çeşitli yaklaşımlar uygulanmıştır (Herzog, 1987; Srinivasan vd., 1996; Herzog ve Olszewski, 1998; Azhar vd., 2014; Zhou vd., 2015). Bu yaklaşımlar arasında klorofil floresansının, abiyotik strese maruz kalan bitkilerde fotosistem II'deki (*PSII*) hasarı tespit etmek için hızlı, tahribatsız ve etkili bir teknik olduğu belirtilmiştir (Baker ve Rosenqvist, 2004; Baker, 2008). Bununla birlikte, abiyotik stresle ilgili daha fazla fizyolojik ve biyokimyasal tepkinin araştırılması ve özellikle tarımsal üretim için verim performansının dikkate alınması gerekmektedir. *PSII*'nin (F_v/F_m) maksimum kuantum verimi, en önemli klorofil floresan parametreleri arasında yer almaktadır (Baker, 2008). C3 bitkilerinde F_v/F_m değerlerinin çoğu durumda ortalama yaklaşık 0,83-0,84 arasında olduğu belirtilmiştir (Björkman ve Demmig, 1987; Pfündel, 1998; Urban vd., 2017). Bu parametredeki bir azalmanın fotosentezin aşağı regülasyonunu veya fotoinhibisyonu gösterdiği farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Öquist vd., 1992; Zlatev ve Yordanov, 2000). Diğer kapsamlı ve güçlü klorofil floresan parametrelerinden birisi de PI_{abs} 'dir. Performans indeksi PI_{abs} 'nin, fotosentezin üç bağımsız fonksiyonel basamağının (aktif reaksiyon merkezlerinin yoğunluğu, uyarma enerjisi yakalama ve uyarma enerjisinin elektron taşınımına dönüştürülmesi) çok parametrik bir ifadesi olduğu ve fotosistem I ve II'nin işlevselliğini yansıttığı belirtilmiştir (Gonçalves vd., 2007). Benzer şekilde Lepedus vd. (2012) da farklı abiyotik ve biyotik stresler altında bitkinin genel fotosentetik performansının araştırılmasında uygun ve hassas bir parametre olarak görüldüğünü bildirmiştir.

Skrudlik vd. (2000) tarafından yürütülen bir araştırmada, soğuğa hassas Co-151 ve soğuğa toleranslı F7 mısır bitkilerinde soğuk zararı ile F_v/F_m oranının sırasıyla 0,30 ve 0,37 seviyelerine düştüğünü belirtmiştir. Terzi vd. (2009) topraktaki kuralık stresinin fasulye çeşitlerindeki fotosistem II fotokimyasal etkinliği ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kuraklık stresinin, bütün çeşitlerde *PSII* kuantum verimini ($\Phi PSII$) indirgediği belirlenmiştir. İnci ve Toker (2011) generatif dönemdeki soğuk stresinin, baklada

iek dökümüne, düşük bakla oluşumuna, zayıf bakla dolumuna ve bunun da düşük tohum kalitesi ile birlikte önemli bir verim azalmasına neden olabildiği bildirmişlerdir. Sharma vd. (2012) 3 günlük sıcaklık uygulamasından sonra 138 buğday çeşidinin ortalama F_v/F_m oranının 0,803'den 0,729'a düştüğünü tespit etmiştir. Cao vd. (2015) soğuk stresi uygulamadan önce domates hatlarındaki ortalama F_v/F_m değerinin 0,817 olduğunu, stres uygulandıktan sonra bu değerin 0,649'a düştüğünü belirtmiştir. Zhou vd. (2015) 67 domates genotipinin F_v/F_m değerinin sıcaklık stresi ile altında en düşük 0,794, en yüksek ise 0,814 olarak belirlemiştir. Ayrıca, elektrolit sızıntısı, toplam *Chl* içeriği, F_v/F_m ve $\Phi PSII$ zellikleri zerine TBA yapılmıştır. İlk üç endeksin katkılarının sırasıyla 0,4634, 0,2571 ve 0,2031 olduğu ve üç kapsamlı endeksin birikim oranının %92.36 olduğu bulunmuştur. Ülkemizde soğuk stresi ile yürütülen bir çalışmada, Certel (2016) fasulye gen kaynaklarının soğuk ve don stresine tolerans açısından fenotiplenmiş, 0 C' deki soğuk stresi uygulamasında *SPAD*, *L*, *a*, *b*, *chroma*, *Hue*, *NES* ve görsel değerlendirme ölçümlerini gerçekleştirmiştir. Soğuğa en toleranslı bitkide kontrole göre *SPAD* değerinin arttığı, diğer bitkiler de ise düştüğü belirtirmiştir. Kontrol gruptaki bitkilere göre *L*, *b*, *c* değerlerinin arttığı *a* değerinin ise azaldığı, *Hue* ve *NES* değerinde anlamlı bir değişmenin olmadığı bildirirmiştir. Zhou vd. (2018) soğuk stresi altındaki 127 bakla genotipininin F_v/F_m değerinin 0,451 ile 0,664 arasında değiştiğini, genotiplerin soğuğa ve ısı streslerine duyarlılıklarının doğal yetiştirme koşulları ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Buezo vd. (2019) soya fasulyesinde F_v/F_m ve PI_{abs} değerlerinin ve biyokimyasal özellikler üzerindeki etkilerinin çeşide ve işleme bağlı olarak büyük ölçüde değiştiğini belirtmişlerdir. Li vd. (2019) soğuk stresi altında kavun bitkisinde belirlenen F_v/F_m ve *SPAD* değerlerinin önemli korelasyon gösterdiğini belirlemiştir. Yayla (2020), ısıtmasız şera şartlarında yerel fasulye genotiplerinin karakterizasyonu ve performanslarının araştırılması ile ilgili yürüttüğü çalışmada, F_v/F_m değerlerinin 0,590-0,657, *NES* değerlerinin de 59,14 ile 68,40 arasında değiştiğini bildirmiştir. Vejetasyon sresinde sıcaklığın yüksek olmasından dolayısıyla yapılan elektriksel iletkenlik ölçümlerine göre önemli derecede değişimin olmadığı belirtilmiştir. Janusauskaite ve Razbadauskiene (2021), baklada F_v/F_m , ve *SPAD* değerlerinin tohum verimi, protein ve 1000 tane ağırlığı ile pozitif yönde önemli düzeyde korelasyon gösterdiğini bildirmiştir.

Yürütülen tez çalışmasında soğuk stresi altındaki fasulye genotiplerinin F_v/F_m , PI_{abs} , NES ve $SPAD$ değerlerinin kontrol gruba göre düştüğü belirlenmiştir. Yapılan korelasyon analizinde de NES ile F_v/F_m , ($r=0.617^{**}$) ve PI_{abs} ($r=0.44^{**}$) arasında anlamlı pozitif düzeyde ilişkiler belirlenmiştir. Ayrıca, $SPAD$ değeri ile F_v/F_m ($r=0.175^{**}$) ve PI_{abs} ($r=0.188^*$) arasında da pozitif düzeyde önemli korelasyonlar belirlenmiştir. Dolayısıyla, soğuk stresine karşı fasulye genotiplerinin fenotiplenmesi ile ilgili farklı gözlem ve ölçümlerin birbirini desteklediği ve yukarıda belirtilen literatür değerleriyle uyumlu olduğu ve genotipler arasındaki genetik varyasyonun oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Yürütülen farklı çalışmalardan elde edilen bulgular arasındaki farklılıkların stres uygulama süresine, bitki gelişimindeki duruma, genetik kalıtıma ve stres uygulanan koşullar arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle gen tanımlama/ekspresyon çalışmaları için stres etmeninin kontrollü şartlarda uygulanması, ilerleyen süreçte aynı bitkinin materyal olarak kullanılacağı farklı gen tanımlama/ekspresyon çalışmalarında doğru sonuçların alınması bakımından oldukça önemlidir. Bu yaklaşımlarla tanımlanan özellikle yüksek F_v/F_m , 'ye sahip fasulye genotiplerinin, soğuk stresine karşı toleranslı bitkilerin geliştirilmesi ile ilgili ıslah programlarında, genetik popülasyonun oluşturulmasında, melezleme ıslahında, kantitatif özellik lokuslarının (QTL) haritalanmasında, markör destekli seleksiyonda (MAS) ve gen tanımlama/ekspresyon vb. çalışmalarda kullanılabileceği ön görülmektedir.

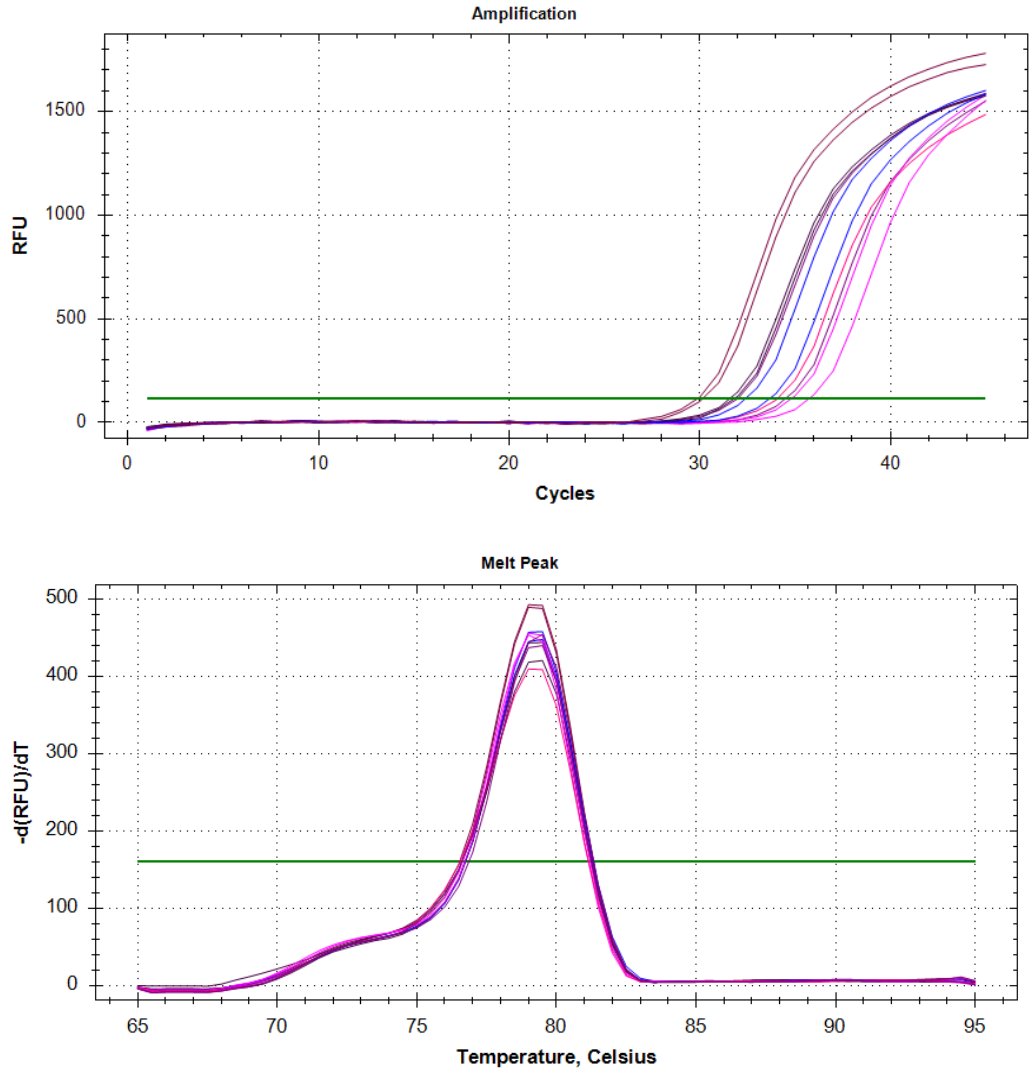
4.4 *PvDGK* genlerinin soğuk stresine karşı bitki dokusundaki ifade düzeylerinin belirlenmesi

Fenotipleme sonucunda belirlenen 10 hassas ve 10 toleranslı fasulye genotipi arasından DZC-9, BRS-5, BRS-14, BLKSR-3, BRS-27, BRS-3 fasulye genotipleri *PvDGK* genlerinin soğuk stresi altında ifade düzeylerini belirlenmesinde bitki materyali olarak kullanılmıştır. Soğuk stresi altında 0, 6, 12 ve 24. saatlerde bitkilerin yaprak dokularındaki *PvDGK* transkript ekspresyon seviyelerini değerlendirmek için kantitatif qRT-PCR analizi yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre *PvDGK* genlerinin hassas ve toleranslı bitkilerde farklı ekspresyon seviyeleri gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 38; Şekil 39).

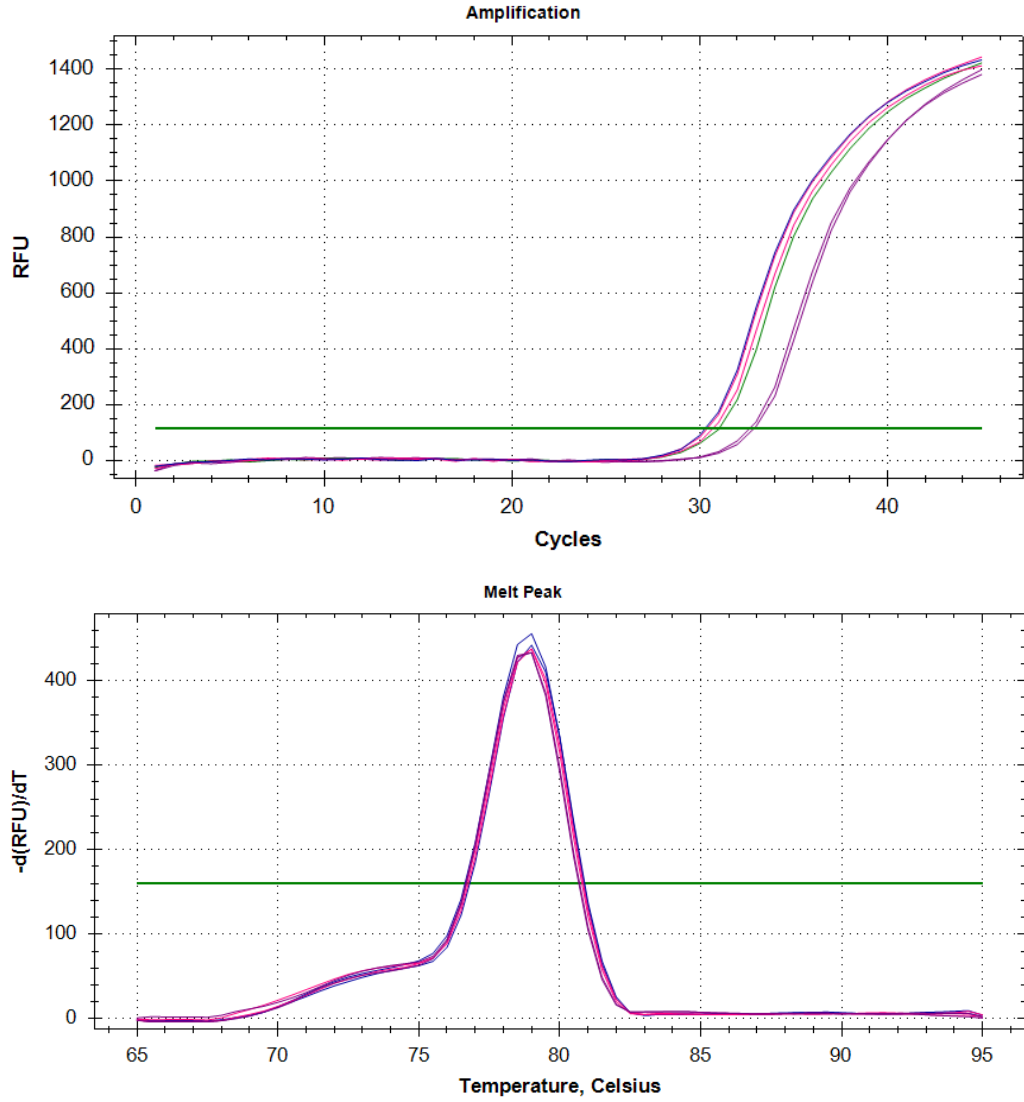
Soğuk stresi uygulamasında *PvDGK1* geni, DZC-9 ve BRS-5 genotiplerinde 6, 12 ve 24. saatlerde sırasıyla -0,99 ile -2,37, -0,05 ile -2,83, -2,93 ile -4,27 katlık negatif yönlü artış sergilemiştir. BRS-14 genotipi ise 6. saatte 0,87

kat, 12. saatte 0,38 kat yukarı yönlü, 24. saatte ise -2,88 kat aşağı yönlü eksprese olmuştur. Diğer taraftan, BRS-3 ve BLKSR-3 fasulye genotipleri 6. ve 12. saatlerde sırasıyla -1,75 ile -2,57, -0,22 ile -1,86 kat negatif yönlü ifade düzeyine sahip olurken 24. saatte 3,85 ile 1,06 kat pozitif yönlü ifade düzeyi göstermiştir. BRS-27 genotipi ise 6, 12 ve 24. saatlerde -1,00, 0,73 ve -1,28 kat ifade düzeyinde sahip olmuştur. *PvDGK1* geninin soğuk stresine tolerans açısından ümitvar bulunan BRS-3 ve BLSKR-3 fasulye genotiplerinde 24. saatte daha yüksek ifade düzeyine sahip olduğu, 0. saatte eksprese olmadığı 6. ve 12. saatlerde de negatif yönlü ifade düzeyi gösterdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde hassas fasulye genotipleri de (BRS-5, DZC-9) 6. ve 12. saatlerde negatif yönlü ifade düzeyine sahip olurken, BRS-14 genotipi pozitif yönde eksprese olmuştur. 24. saatte ise tüm hassas genotiplerin negatif yönde regüle olduğu belirlenmiştir. Hassas ve toleranslı genotiplerin yaprak dokusunda *PvDGK1* geninin 12. saatteki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizlerine ait görseller Şekil 33’de verilmiştir.

PvDGK2 genine ait mRNA kat değişimleri kontrole göre DZC-9 genotipinde 6. (-0,46 kat) ve 24. (-2,10kat) saatlerde negatif yönde, 12. saatte ise 0,70 kat ile pozitif yönde ifade düzeyine sahip olmuştur. BRS-5 genotipi 6 (-0,40 kat), 12 (-0,64 kat) ve 24. (-0,56 kat) saatlerde negatif yönde eksprese olmuştur. BRS-14 genotipi 6. saatte 0,70 kat pozitif yönlü, 12. ve 24. saatlerde de sırasıyla -0,02 ve -3,07 kat negatif yönlü regülasyon göstermiştir. Diğer taraftan, BRS-3 genotipi 6. saatte -0,64 kat aşağı yönlü, 12. ve 24. saatlerde de 1,61 ve 3,96 kat yukarı yönlü eksprese olmuştur. BRS-27 genotipi ise 6, 12 ve 24. saatlerde pozitif yönde eksprese olmuş ve kat artışları sırasıyla 0,92, 1,09 ve 0,03 olarak gerçekleşmiştir. BLSKR-3 genotipinde 6. (-2,04 kat) ve 12. (-1,47 kat) saatlerde negatif yönlü, 24. saatte ise 1,91 kat pozitif yönlü ifade düzeyinin gerçekleştiği tespit edilmiştir. Fasulye genotiplerinde *PvDGK2* geni en fazla ifade düzeyine BRS-3 genotipinde (3,96 kat), en az ifade düzeyine ise BRS-14 genotipinde (-3,07 kat) sahip olmuştur. *PvDGK2* geninin toleranslı fasulye genotiplerinde daha fazla pozitif yönde ekspresyon seviyesine sahip olduğu belirlenmiştir. Toleranslı genotiplerin yaprak dokusunda *PvDGK2* geninin 12. saatteki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizlerine ait görseller Şekil 34’de verilmiştir.



Şekil 33. Soğuk stresi altında hassas ve toleranslı genotiplerin yaprak dokusunda *PvDGK1* geninin 12. saatteki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri



Şekil 34. Soğuk stresi altında toleranslı genotiplerin yaprak dokusunda *PvDGK2* geninin 12. saatteki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri

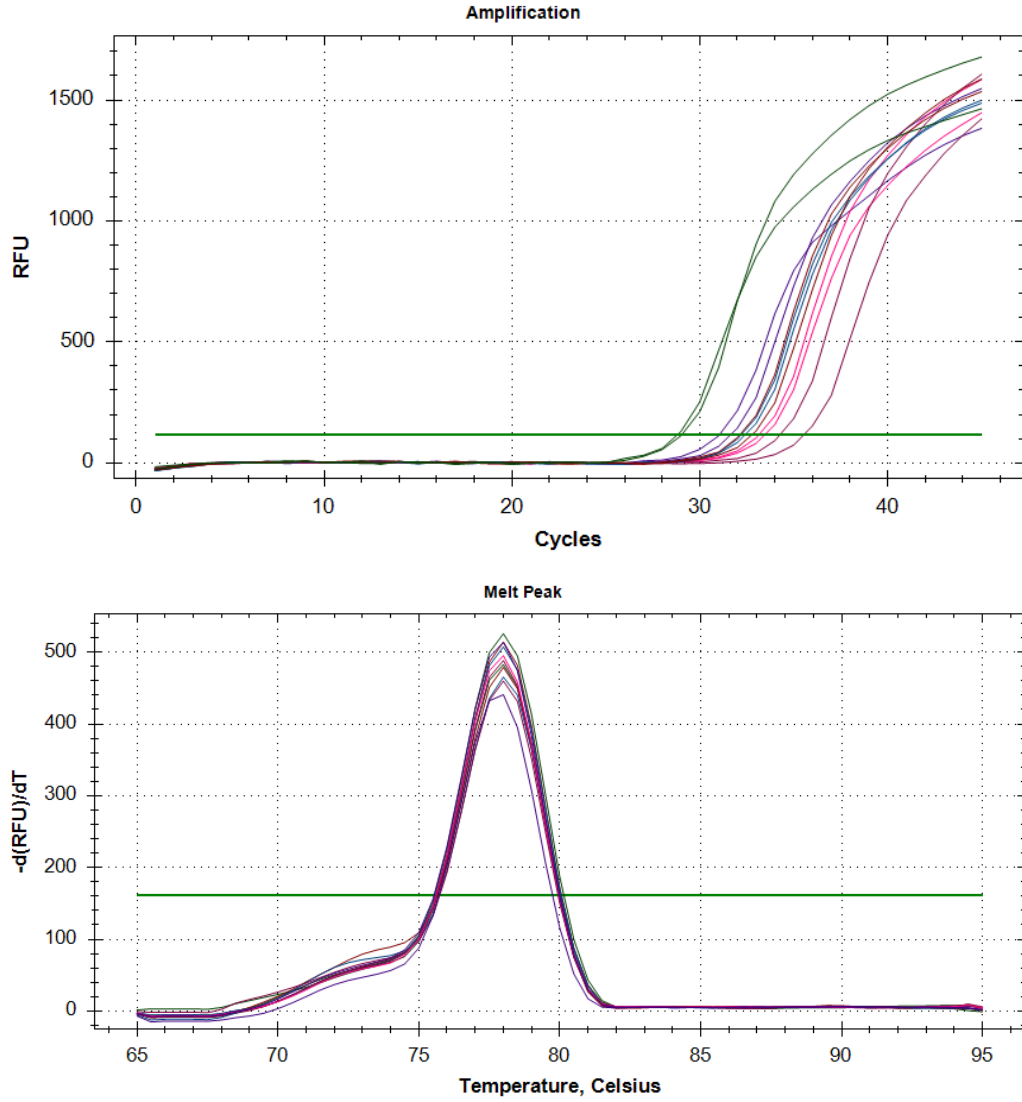
Soğuk stresi altında *PvDGK3* geninin farklı saatlerdeki ifade düzeyleri DZC-9 genotipinde (6. saat: -1,53, 12.saat: -1,66, 24.saat -2,92 kat) negatif yönde eksprese olmuştur. Benzer şekilde, BRS-5 genotipinde kontrole göre 6. saatte -1,69, 12. saatte -1,98 24. saatte de -3,09 kat ile negatif yönde ifade düzeyine sahip olduğu belirlenmiştir. *PvDGK3* geni BRS-14 fasulye genotipinde 6. saatte 0,41 katlık yukarı yönlü regüle olsa da 12. ve 24. saatlerde ifade düzeyinin sırasıyla -1,89 ve -3,79 kat ile aşağı yönlü regüle olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan soğuk toleranlı ümitvar fasulye genotipleri arasında da *PvDGK3* geninin ifade düzeyleri arasında genotipler arasında varyasyonun olduğu görülmektedir. Nitekim BRS-3 fasulye genotipinde *PvDGK3* geninin 6. (-0,70 kat) ve 12. (-2,11 kat) saatlerde ifade düzeyi aşağı yönlü regüle olmasına rağmen 24. saatte 2,92 kat artış ile yukarı yönlü

regüle olmuştur. BRS-27 fasulye genotipinde *PvDGK3* geni 6. ve 24. saatlerde 0,47 ve 0,29 kat pozitif yönde artış sergilemiş, 12. saatte ise -0,57 kat negatif yönde eksprese olmuştur. BLSKR-3 fasulye genotipinin ise 6, 12 ve 24. saatlerde sırasıyla -0,57, -0,29 ve -0,81 katlık negatif yönde ifade düzeyine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Soğuk stresi uygulamasında *PvDGK5a* geni farklı saatlerdeki ifade düzeyleri hassas fasulye genotiplerinde negatif yönde gerçekleşmiştir. DZC-9 genotipinde *PvDGK5a* geni 6. saatte -1,45 kat, 12. saatte -1,63 kat ve 24 saatte de -2,73 kat ifade düzeyine sahip olmuştur. Benzer şekilde BRS-5 ve BRS-14 genotiplerinde *PvDGK5a* geni, sırasıyla 6. saatte -1,57 ve -1,54 kat, 12. saatte -2,33 ve -0,83 kat, 24. saatte de -2,37 ve -4,09 kat negatif yönde regüle olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan soğuk toleranslı ümitvar BRS-3, BRS-27 ve BLKSR-3 fasulye genotiplerinde *PvDGK5a* geni 6. ve 12. saatlerde ifade düzeyleri sırasıyla -3,27 ile -2,99 kat, -1,45 ile -1,34 kat ve -3,33 ile -0,42 kat olarak gerçekleşmiştir. 24. saatte *PvDGK5a* geni BRS-3 ve BRS-27 genotiplerinde 3,29 ve 0,14 kat yukarı yönde eksprese olurken, BLKSR-3 genotipinde -0,49 kat aşağı yönde eksprese olmuştur. Fasulye genotiplerinde *PvDGK5a* geni en fazla ifade düzeyi BRS-3 genotipinde, en az ifade düzeyi ise BRS-14 genotipinde meydana gelmiştir.

Çalışmada, hassas fasulye genotiplerinde *PvDGK5b* geninin farklı saatlerdeki ifade düzeylerinin aşağı yönlü olduğu belirlenmiştir. *PvDGK5b* genine ait mRNA kat değişimleri kontrole göre DZC-9 genotipinde 6. saatte -0,87 kat, 12. saatte -0,36 kat, ve 24. saatte -2,26 kat negatif yönde gen ekspresyon seviyesine sahip olmuştur. BRS-5 genotipi 6. saatte -1,74 kat, 12. ve 24. saatlerde de sırasıyla -1,75 ve -3,48 kat negatif yönlü regülasyon göstermiştir. Diğer hassas fasulye genotipi BRS-14'de 6. (-1,57 kat), 12. (-1,91 kat) ve 24. (-4,61 kat) saatlerde negatif yönde eksprese olmuştur. Diğer taraftan, BRS-3 genotipi 6. ve 12. saatlerde -2,45 ve -1,56 kat aşağı yönlü, 24. saatte de 2,00 kat yukarı yönlü eksprese olmuştur. BRS-27 genotipi ise 6, 12 ve 24. saatlerde negatif yönde eksprese olmuş ve kat artışları sırasıyla -1,92, -0,74 ve -0,10 kat olarak gerçekleşmiştir. BLSKR-3 genotipinde 6 (-1,86 kat), 12 (-0,02 kat) ve 24. saatte (-1,05 kat) negatif yönlü ifade düzeyinin gerçekleştiği tespit edilmiştir. Fasulye genotiplerinde *PvDGK5b* geninin en fazla ifade düzeyi BRS-3 genotipinde, en az ifade düzeyi ise BRS-14 genotipinde gerçekleşmiştir. *PvDGK5b* geninin toleranslı fasulye genotiplerinde genel olarak

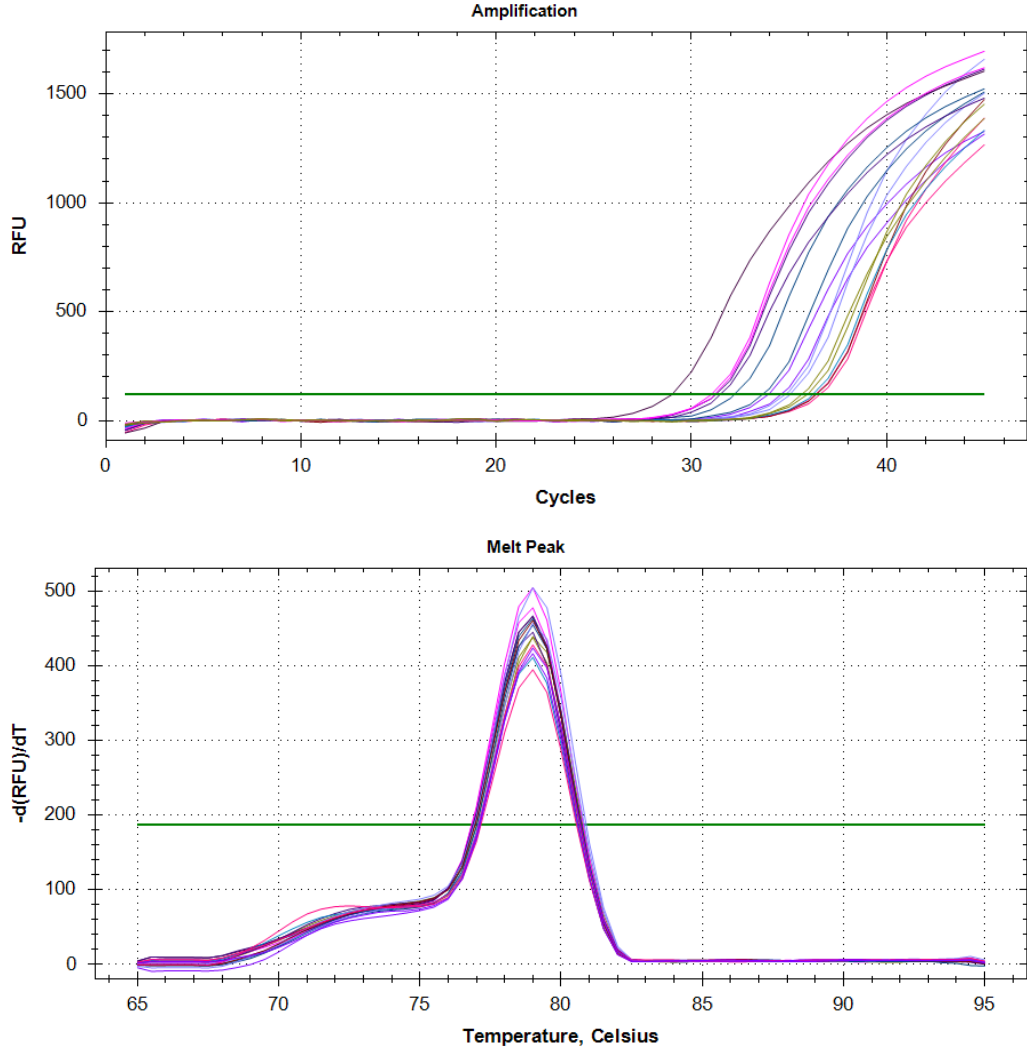
daha fazla pozitif yönde ekspresyon seviyesine sahip olduğu belirlenmiştir (Şekil 35).



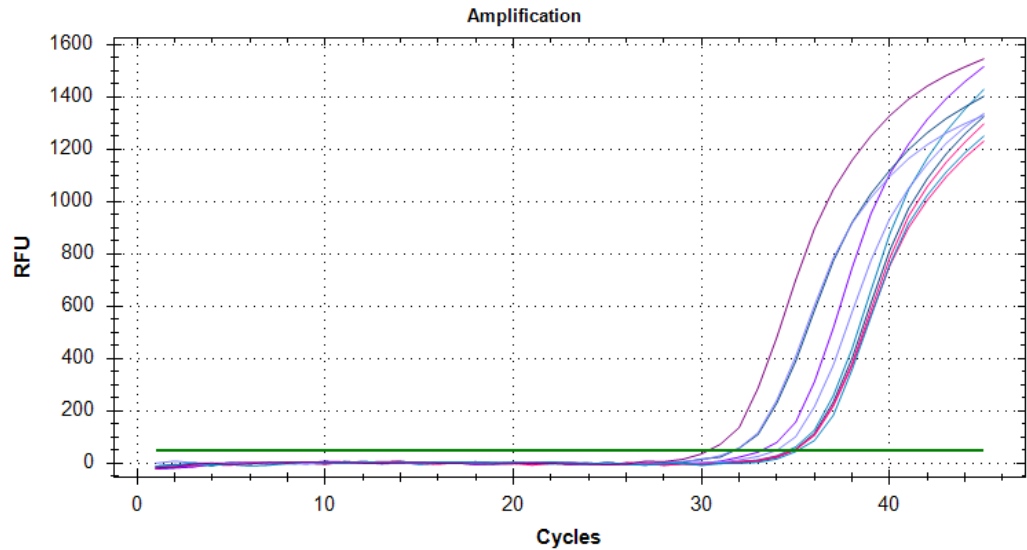
Şekil 35. Soğuk stresi altında toleranslı ve hassas genotiplerin yaprak dokusunda *PvDGK5b* geninin 12. saatteki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri

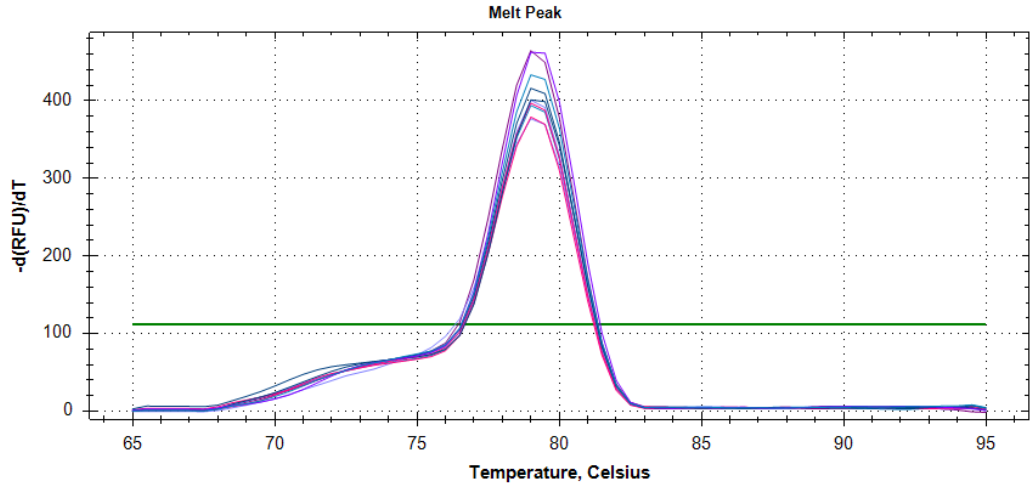
PvDGK6 geni soğuk stresi uygulamasının 6. saatinde BRS-5, BRS-14, BRS-3, BRS-27 ve BLKSR-3 fasulye genotipleri sırasıyla -1,74, -1,58, -3,70, -3,01 ve -1,28 kat negatif yönde, DZC-9 genotipinde ise 0,71 kat pozitif yönde ifade düzeyine sahip olmuştur. 12. saatte ise DZC-9, BRS-14 ve BLSKR-3 fasulye genotipleri sırasıyla 0,83, 1,46 ve 0,87 kat pozitif yönde, BRS-5, BRS-3 ve BRS-27 genotipleri ise -3,47, -2,03 ve -0,75 kat negatif yönde eksprese olmuştur. Diğer taraftan, tüm fasulye genotiplerinin *PvDGK6* genine ait mRNA kat değişimlerinin 24. saatte kontrole göre pozitif yönde eksprese olduğu tespit edilmiştir. DZC-9, BRS-5, BRS-14, BRS-3, BRS-27 ve BLKSR-3 fasulye genotiplerinde *PvDGK6* geni 24. saatte sırasıyla 1,30, 1,04, 1,84, 2,32, 1,96 ve 1,86 kat pozitif yönde regüle

olmuştur. *PvDGK6* geninin soğuk toleranslı ümitvar fasulye genotiplerinde daha fazla eksprese olduğu tespit edilmiştir (Şekil 36; Şekil 37).

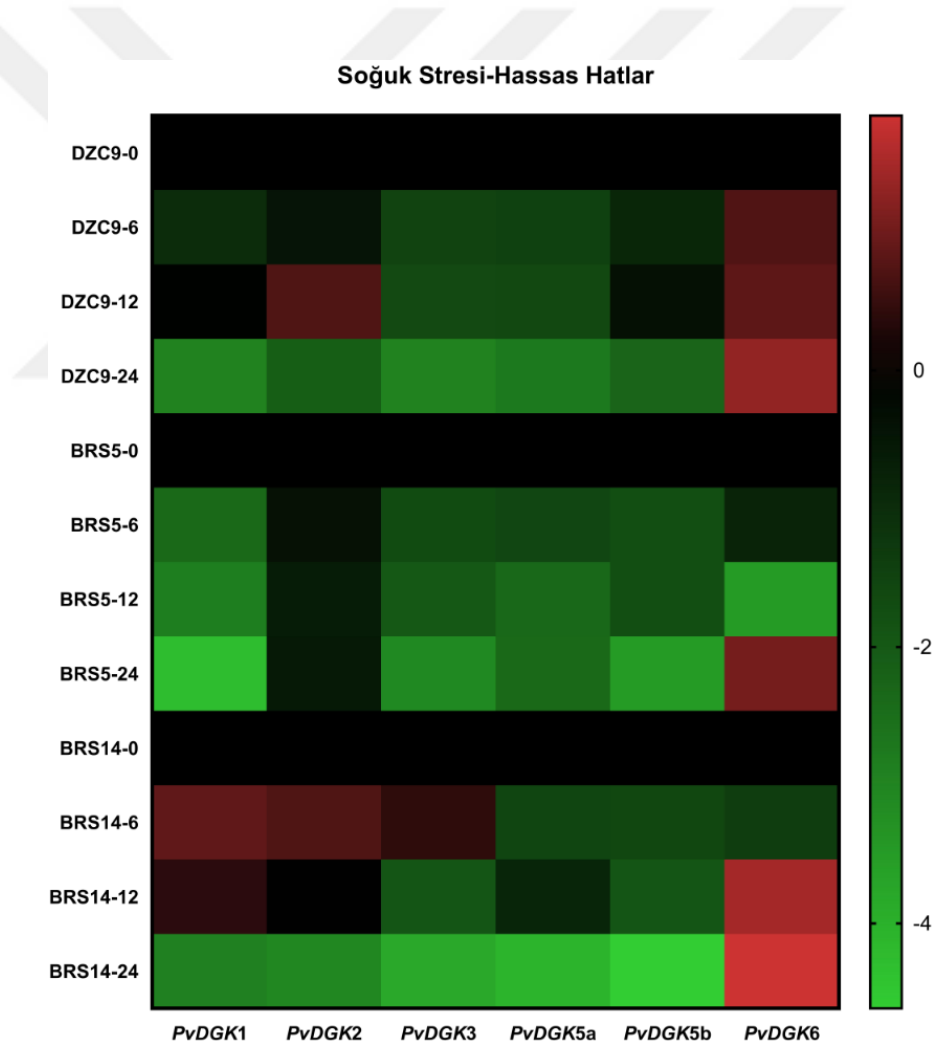


Şekil 36. Soğuk stresi altında hassas DZC-9, BRS-14, BRS-5 genotipleri ile toleranslı BRS-27, BRS-3, BLKSR-3 genotiplerinin yaprak dokularında *PvDGK6* geninin 0. ve 24. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri



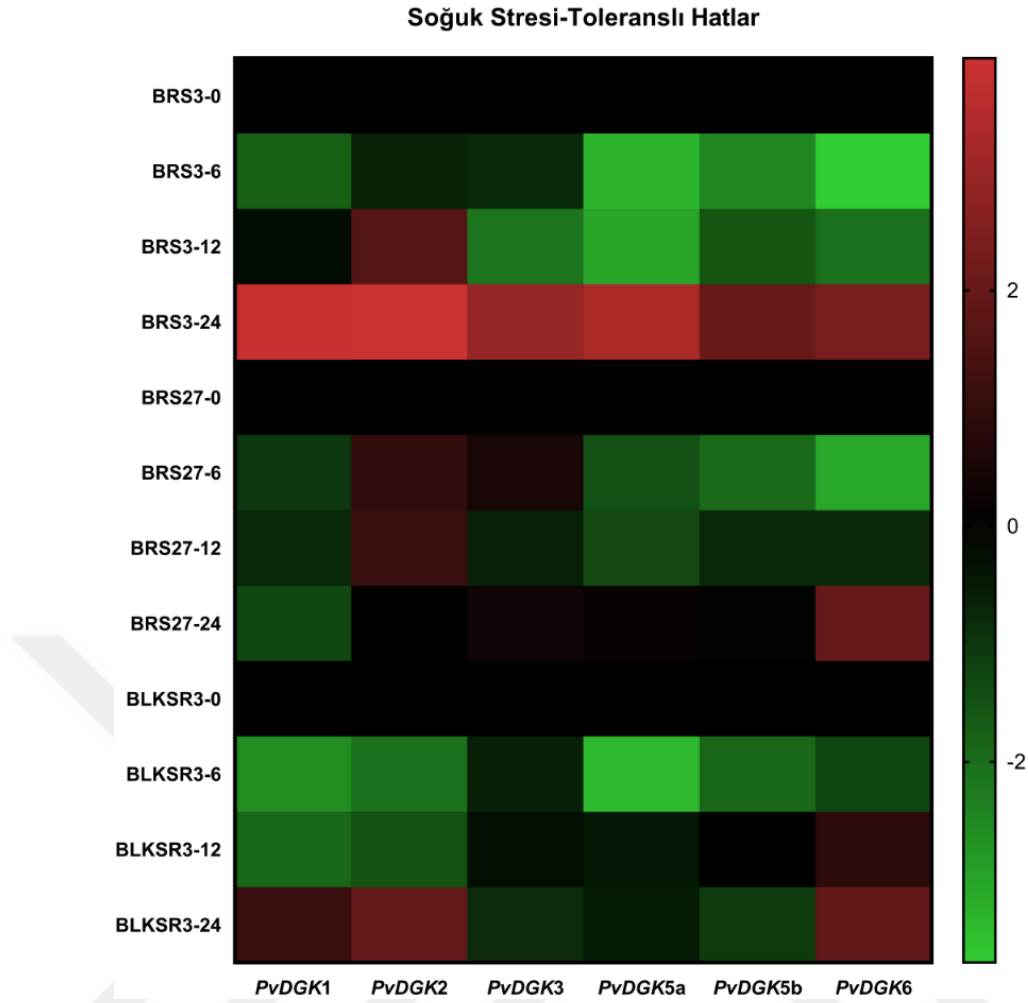


Şekil 37. Soğuk stresi altında hassas DZC-9, BRS-14, BRS-5 genotipleri ile toleranslı BRS-27, BRS-3, BLKSR-3 genotiplerinin yaprak dokularında *PvDGK6* geninin 12. saatlerdeki amplifikasyon eğrileri ve melting curve analizleri



Şekil 38. Soğuk stresi altında DZC-9, BRS-14 ve BRS-5 fasulye genotiplerinin yaprak dokularında (0, 6, 12 ve 24. saat) *PvDGK* genlerindeki ifade değişimlerini gösteren ısı haritası.

(Açık yeşil renk referans genlere (actin ve beta-tubulin) göre ilgilenilen genin daha düşük seviyede eksprese olduğunu, kırmızı renk ise daha yüksek seviyede eksprese olduğunu ifade etmektedir. Sonuçlar log2 tabanlı kat artışı olarak belirtilmiştir)



Şekil 39. Soğuk stresi altında BRS-27, BRS-3 ve BLKSR-3 fasulye genotiplerinin yaprak dokularında (0, 6, 12 ve 24. saat) *PvDGK* genlerindeki ifade değişimlerini gösteren ısı haritası.

(Açık yeşil renk referans genlere (actin ve beta-tubulin) göre ilgilenilen genin daha düşük seviyede eksprese olduğunu, kırmızı renk ise daha yüksek seviyede eksprese olduğunu ifade etmektedir. Sonuçlar log2 tabanlı kat artışı olarak belirtilmiştir)

Düşük sıcaklık, bitkisel üretimde verimi sınırlandıran önemli bir çevresel stress faktördür. Bu stres etmenine maruz kalan bitkilerde çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimler oluşabilmektedir. Miura ve Furumoto (2013), bitkilerin soğuk stresine olan tepkisinin sinyal iletimine bağlı olduğunu bildirmiştir. Nitekim, düşük sıcaklık stresinin bitkilerde hem PLC/DGK hem de PLD yolları aracılığıyla PA üretimini tetiklediğine dair bulgular literatürde farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Ruelland vd., 2002; Arisz vd., 2009; Li vd., 2009; Gu vd., 2018). Günümüze kadar *Arabidopsis* ve bir dizi başka bitki genomundan çok sayıda PLD, PLC ve DGK izoformu karakterize edilmiş, ancak enzimlerin iki yolunun ve bireysel izoformlarının belirgin katkısı ve bunların PA seviyelerini koordineli olarak nasıl düzenledikleri hala belirsizliğini korumaktadır (Munnik ve Testerink 2009; Gu vd., 2018). PLD yolu ile üretilen PA'nın, bir ^{32}Pi -

etiketleme deneyi ile ortaya çıkarılan yağ asidi bileşimine göre PLC/DGK'dan türetilen PA'dan ayırt edilebildiği bildirilmiştir (Arisz vd., 2009). Gu vd. (2018), PLD yolu ile üretilen PA'nın düşük/donmaya yakın sıcaklık (5 °C) tarafından indüklenebileceğini, PLC/DGK yolu ile üretilen PA'nın ise hafif düşük sıcaklık stresi (10 °C) altında biriktiğini bildirmiştir. PLC/DGK yolunun *Arabidopsis* hücre süspansiyonunda soğuk şok uyarıları tarafından aktive edildiği, *AtDGK1* ve *AtDGK2*'nin soğuk stresine karşı yukarı yönde ifade düzeyine sahip olduğu belirtilmiştir (Lee vd., 2005). Mısırdaki, *DGK* genleri (*ZmDGK1* ve *ZmDGK3*) ile ABA biyosentezi arasındaki interaksiyonlar (Daszkowska-Golec, 2016) tarafından belirlenmiştir. Bu etkileşim, ABA'yı bitki soğuk stres tepki mekanizmalarında yer alan potansiyel bir düzenleyici olarak göstermiştir (Huang vd., 2017). *AtDGK2* geninin *Arabidopsis* bitkisinin çeşitli dokularında (yaprak, kök, çiçek) eksprese edildiği ve bu genin bitkilerin düşük sıcaklığa (4 °C) maruz bırakılarak indüklendiğini bildirilmiştir (Gomez-Merino vd., 2004). Sui vd. (2008) soğuk stresine yanıt olarak mısır köklerinde ve yapraklarında *ZmDGK1*, *ZmDGK2* ve *ZmDGK3* genlerinin ekspresyonlarının yukarı yönlü eksprese olduğunu belirtmiştir. Diğer bir çalışmada, 4 °C'deki soğuk uygulamasında mısır bitkisindeki 7 *ZmDGK* geninin tamamının 12. saatte önemli ölçüde indüklendiği, *ZmDGK2* ve *ZmDGK5* genlerinin sırasıyla 3,8 kat ve 4,1 kat yukarı yönde artış gösterdiği tespit edilmiştir (Gu vd., 2018). Nitekim, yürütülen çalışmada da soğuk stresinde hassas ve toleranslı fasulye genotiplerinde farklı saatlerde özellikle *PvDGK1*, *PvDGK2* ve *PvDGK6* genlerinin transkript seviyelerinde artış olduğu görülmektedir. Bu durum, soğuk muamelenin başlangıcından kısa bir süre PA birikiminin indüklendiğini işaret etmektedir. Ökaryotik türlerde, PA genellikle bitkiler kuraklığa, oksidatif strese veya fiziksel hasara maruz kaldığında PLD yolundan üretilirken, PLC/DGK yoluyla PA birikiminin patojenler ve ksilanaz tarafından teşvik edildiği, ayrıca soğuk ve tuz streslerinin de her iki yoldan da geçici PA üretimine yol açabildiği ve soğuk kaynaklı PA'nın büyük bir kısmının (% 80) fosfoinositide özgü fosfolipaz C/DGK yoluyla sentezlendiği belirtilmiştir (Ruelland vd., 2002; Gomez-Merino vd., 2004; Testerink ve Munnik, 2005; Hong vd., 2008). Çalışmada elde edilen bulgular *DGK* genlerinin fasulyede soğuk stresindeki muhtemel rollerini desteklemektedir. *PvDGK* genlerinin 5' promotör bölgesi (2000 bp) kullanılarak PlantCare online platformunda cis-etkili element analizi (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>; Lescot vd., 2002)

gerçekleştirildiğinde, bu promotörlerde *PvDGK1* ve *PvDGK6* genlerinin düşük sıcaklığa duyarlı element (*LTR*)'nin yer aldığı ve bu bölgelerin soğuk stresi ile ilişkili olabileceği ön görülmektedir. Benzer şekilde mısır bitkisinde de soğuk stresinde eksprese olan *ZmDGK7* geninin promotör bölgesinde *LTR*'nin bulunduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan, fasulyede farklı *DGK* genlerinin promotör bölgesinde; abscisic acid responsive element (*ABRE*), *ERE*, *MYB binding site (MBS)*, defense/stress responsive element (TC-rich repeat), meja-responsive elements (*CGTCA motif* ve *TGACG motif*), *W box*, *WUN motif* vb. elementlerin bulunduğu belirlenmiştir. Ayçiçeği bitkisinde, *bZIP*, *MYB*, *NAC*, *NF-YB* ve *WRKY* genlerinin soğuk stresi ile indüklendiği ve stres etmeni yanıtında rol alabileceği belirtilmiştir (Dönmez, 2018). *CBF* ailesine ait transkripsiyon faktörlerinin *A. thaliana* ve diğer bitkilerde soğuk tarafından aktive edildiği bildirilmiştir (Shinozaki vd., 2003). Hannah vd. (2005), bu TF'lerin *COR* genlerinin promotörlerinde bulunan soğuk ve dehidrasyona duyarlı DNA düzenleyici elementlere bağlanarak *A. thaliana* ve diğer bazı türlerde donma toleransı özelliğinin ekspresyonu ile sonuçlanan transkripsiyonları indüklediği belirtmiştir. Stres toleransı ile ilişkili genlerin bitki ıslahında soğuk stresine karşı genotiplerin seleksiyonu için faydalı olabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla, bazı *DGK* genlerinin farklı zamanlarda fasulyede soğuk stresine karşı bitki direncinin artmasında önemli rol oynadığı ve abiyotik streslere karşı toleranslı fasulye çeşitlerini geliştirmeyi amaçlayan ileri ıslah çalışmalarına katkı sağlayacağı ön görülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, abiyotik stres faktörleri altında fasulyedeki (*Phaseolus vulgaris* L.) diaçilgliserol kinaz (DGK) gen ailesinin kapsamlı genomik analizine ve gen ifade profiline odaklanılmıştır. Fasulyenin tüm genomunda 4 kromozom üzerine dağılmış 6 *PvDGK* geni tanımlanmıştır. Proteinlerin hücre altı yerleşimlerinin çoğunlukla ökaryot hücre organelleri olan çekirdek, sitoplazma ve kloroplastta bulunduğu tahmin edilmiştir. Korunan alanlar ve filogenetik analiz, fasulye ve diğer bitki *DGK* genleri arasındaki benzerlikleri ve evrimsel ilişkileri doğrulamıştır. Normal koşullar altında, *PvDGK* genlerinin kök, yaprak, gövde, çiçek ve bakladaki ifade düzeyleri incelenmiş ve genlerin farklı dokulardaki transkript seviyeleri belirlenmiştir. *PvDGK* genlerinin farklı zaman aralıklarında hem yaprak hem de kök dokularında tuz stresi altındaki ifade seviyeleri belirlenmiştir. *PvDGK* genlerinin soğuk stresine karşı ifade düzeylerinin tespiti için öncelikle ülkemizin Batı Anadolu bölgesinden toplanmış 54 yerel fasulye genotipi soğuk stresine karşı fenotiplenmiştir. Fenotipleme sonucunda soğuk stresi bakımından fasulye genotipleri arasında önemli varyasyonların olduğu belirlenmiştir. *PvDGK* genlerinin soğuk stresine karşı ifade düzeylerinin tespitinde, soğuk stresine karşı en toleranslı ve en hassas olduğu belirlenen 3 fasulye genotipi kullanılmış ve *PvDGK* genlerinin soğuk stresindeki ifade düzeyleri yaprak dokusunda farklı zamanlarda tespit edilmiştir. Mevcut çalışma sonuçları, *PvDGK*'lerin abiyotik streslere yanıt olarak fasulye metabolizmasına dâhil olabileceğini göstermiştir. Elde edilen bulgular, fasulye bitkisinin abiyotik stres yanıtında *PvDGK* gen ailesinin rolleri hakkındaki literatür bilgisini arttırmış ve gelecekteki çalışmalara referans sağlamıştır.

İlerleyen süreçte; fasulyede PLC/DGK ve PLD yollarının koordinasyonunu ve farklı soğuk koşullar altında bireysel genlerin spesifik işlevini ve katkısını netleştirmek için daha fazla çalışmanın yapılması, qRT-PCR sonuçlarına dayalı olarak çeşitli streslere yanıt veren genler kullanılarak fasulye hatlarının/çeşitlerinin direncinin artırılmasına olanak sağlayacak araştırmaların gerçekleştirilmesi, fenotipleme sonucunda toleranslı olarak belirlenen genotiplerin çeşitli geleneksel ve modern ıslah programlarında kullanılması ve farklı abiyotik ve biyotik stres etmeleri altında *PvDGK* genlerinin fonksiyonlarının ortaya çıkarılmasına yönelik bilimsel çalışmaların yapılması önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında APA atıf sistemi kullanılmıştır.)

- Abd-El-Haliem, A., Vossen, J., Van Zeijl, A., Dezhsetan, S., Testerink, C., Seidl, M., Beck, M., Strutt, S., Robatzek, S., & Joosten, M. H. A. (2016). Biochemical characterization of the tomato phosphatidylinositol-specific phospholipase C (PI-PLC) family and its role in plant immunity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1861(9-Part B), 1365-1378.
- AbuQamar, S., Luo, H., Laluk, K., Mickelbart, M. V., & Mengiste, T. (2009). Crosstalk between biotic and abiotic stress responses in tomato is mediated by the AIM1 transcription factor. *The Plant Journal*, 58(2), 347-360.
- Adam-Blondon, A. F., Seignac, M., Dron, M., & Bannerot, H. (1994). A genetic map of common bean to localize specific resistance genes against anthracnose. *Genome*, 37, 915-24.
- Agarwal, P. K., Shukla, P. S., Gupta, K., & Jha, B. (2013). Bioengineering for salinity tolerance in plants: State of the art. *Molecular Biotechnology*, 54, 102-123.
- Amir, R., Hussain, S., Noor-ul-Ain, H., Hussain, A., & Yun, B. W. (2019). *ROS Mediated Plant Defense against Abiotic Stresses*. In *Plant Biotechnology: Progress in Genomic Era*, Springer: Berlin/Heidelberg, Germany.
- Andersson, M. X., Kourtsenko, O., Dangl, J. L., Mackey, D., & Ellerström, M. (2006). Phospholipase-dependent signalling during the AvrRpm1-and AvrRpt2-induced disease resistance responses in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 47, 947-959.
- Arana-Ceballos, F. A. (2006). *Biochemical and Physiological Studies of Arabidopsis Thaliana Diacylglycerol Kinase 7 (AtDGK7)*. University of Potsdam, PhD. Thesis, Potsdam, Germany.
- Arisz, S. A., Testerink, C., & Munnik, T. (2009). Plant PA signaling via diacylglycerol kinase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1791, 869-875.
- Arisz, S. A., van Himbergen, J. A. J., Musgrave, A., van den Ende, H., & Munnik, T. (2000). Polar glycerolipids of *Chlamydomonas moewusii*. *Phytochemistry*, 53, 265-270.
- Arisz, S. A., Van Wijk, R., Roels, W., Zhu, J., Haring, M. A., & Munnik, T. (2013). Rapid phosphatidic acid accumulation in response to low temperature stress in *Arabidopsis* is generated through diacylglycerol kinase. *Frontiers in Plant Science*, 4, 1.
- Arumuganathan, K., & Earle, E. D. (1991). Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9, 208-18.
- Asamizu, E., Nakamura, Y., Sato, S., & Tabata, S. (2004). Characteristics of the Lotus japonicus gene repertoire deduced from large-scale expressed sequence tag (EST) analysis. *Plant Molecular Biology*, 54(3), 405-414.
- Ashraf, M., & Akram, N. A. (2009). Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: An analytical comparison. *Biotechnology Advances*, 27, 744-752.
- Aydın, M. F., & Baloch, F. S. (2018). Exploring the genetic diversity and population structure of Turkish common bean germplasm by the iPBS-retrotransposons markers. *Legume Research*, LR-423:1-7.
- Aygoğan, C., Elkoca, E., Haliloğlu, K., & Aydın, M. (2020). The preliminary study on selection of some Ispir dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lines. *Anadolu*, 30(2), 251-265.
- Ayra, L., Ramírez, M., Íñiguez, L. P., Rodés, R., Ortega, E., & Hernández, G. (2018). The common

- bean (*Phaseolus vulgaris*) Basic Leucine Zipper (*bZIP*) transcription factor family: response to salinity stress in fertilized and symbiotic N₂-fixing plants. *Agriculture*, 8(10),160.
- Azhar, A., Sathornkich, J., Rattanawong, R., & Kasemsap, P. (2014). Responses of chlorophyll fluorescence, stomatal conductance, and net photosynthesis rates of four rubber (*Hevea brasiliensis*) genotypes to drought. *In Advanced Materials Research*, 844, 11-14.
- Baena-González, E., Rolland, F., Thevelein, J. M., & Sheen, J. (2007). A central integrator of transcription networks in plant stress and energy signalling. *Nature*, 448, 938–942.
- Bailey, T. L., Boden, M., Buske, F. A., Frith, M., Grant, C. E., Clementi, L., Ren, J., Li, W. W., & Noble, W. S. (2009). MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Research*, 37(suppl_2), W202-W208.
- Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 89–113
- Baker, N. R., & Rosenqvist, E. (2004). Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany*, 55,1607–1621
- Balasubramanian, P. M. (2002). *Selection for chilling and freezing resistance in common bean*. The Department of Plant Sciences University of Saskatchewan Saskatoon, PhD Thesis, Saskatoon, SK, Canada.
- Balasubramanian, P., Vandenberg, A., Hucl, P., & Gusta, L. (2004). Resistance of *Phaseolus* species to ice crystallization at subzero temperature. *Physiologia Plantarum*, 120(3), 451-457.
- Baldanzi, G., Bettio, V., Malacarne, V., & Graziani, A. (2016). Diacylglycerol kinases: Shaping diacylglycerol and phosphatidic acid gradients to control cell polarity. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 4, 140.
- Banerjee, A., & Roychoudhury, A. (2016). Group II late embryogenesis abundant (LEA) proteins: Structural and functional aspects in plant abiotic stress. *Plant Growth Regulation*, 79, 1–17.
- Barbaglia, A. M. (2016). *Hoffmann-Benning, S. Long-distance lipid signaling and its role in plant development and stress response*. In *Lipids in Plant and Algae Development*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany.
- Bellucci, E., Bitocchi, E., Ferrarini, A., Benazzo, A., Biagetti, E., Klie, S., Minio, A., Rau, D., Rodriguez, M., Panziera, A., Venturini, L., Attene, G., Albertini, E., Jackson, S. A., Nanni, L., Fernie, A. R., Nikoloski, Z., Bertorelle, G., Delledonne, M., & Papa, R. (2014). Decreased nucleotide and expression diversity and modified coexpression patterns characterize domestication in the common bean. *Plant Cell*, 26(5), 1901–1912.
- Bennett, M. D., & Leitch, I. J. (2005). *Genome size evolution in plants*. In: Gregory TR. ed. *The evolution of the genome*. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Bishop, J., Potts, S. G., & Jones, H. E. (2016). Susceptibility of faba bean (*Vicia faba* L.) to heat stress during floral development and anthesis. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 202, 508–517.
- Bitocchi, E., Rau, D., Bellucci, E., Rodriguez, M., Murgia, M. L., Gioia, T., Santo, D., Nanni, L., Attene, G., & Papa, R. (2017). Beans (*Phaseolus* sp.) as a model for understanding crop evolution. *Frontiers in Plant Science*, 8, 722.
- Blair, M. W., Hurtado, N., Chavarro, C. M., Munoz-Torres, M. C., Giraldo, M. C., Pedraza, F., Tomkins, J., & Wing R. (2011). Gene-based SSR markers for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) derived from root and leaf tissue ESTs: an integration of the BMc series. *BMC Plant Biology*, 11(1), 50–10.
- Blair, M. W., Torres, M. M., Giraldo, M. C., & Pedraza, F. (2009). Development and diversity of Andean-derived, gene-based microsatellites for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.).

- Bohnert, H. J., Nelson, D. E., & Jensen, R. G. (1995). Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell*, 7, 1099.
- Boyer, J. S. (1982). Plant productivity and environment. *Science*, 218, 443–448
- Broughton, W. J., Hernández, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.): model food legumes. *Plant Soil*, 252, 55–128.
- Buezo, J., Sanz-Saez, Á., Moran, J. F., Soba, D., Aranjuelo, I., & Esteban, R. (2019). Drought tolerance response of high-yielding soybean varieties to mild drought: physiological and photochemical adjustments. *Physiologia plantarum*, 166(1), 88-104
- Burns, M. J., Nixon, G. J., Foy, C. A., & Harris, N. (2005). Standardisation of data from real-time quantitative PCR methods – evaluation of outliers and comparison of calibration curves. *BMC Biotechnology*, 5, 31.
- Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, Jo., & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. *Clinical Chemistry*, 55(4), 611-22.
- Büyük, İ., Inal, B., İlhan, E., & Aras, S. (2019a). Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) DOF Transcription Factors Differentially Expressed Under Salt Stress. *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series C-Biology*, 28(1), 43–66.
- Büyük, İ. (2014). Tuz ve Kuraklık Stresi Altında Geliştirilmiş Farklı Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşitlerinde Lea-3 Geni mRNA İfade Seviyelerinin Kantitatif Real-Time PCR Yöntemiyle İncelenmesi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, Ankara.
- Büyük, İ., Inal, B., İlhan, E., Tanriseven, M., Aras, S., & Erayman, M. (2016). Genome-wide identification of salinity responsive *HSP70s* in common bean. *Molecular Biology Reports*, 43(11), 1251-1266.
- Büyük, İ., İlhan, E., Şener, D., Özsoy, A. U., & Aras, S. (2019b). Genome-wide identification of *CAMTA* gene family members in *Phaseolus vulgaris* L. and their expression profiling during salt stress. *Molecular Biology Reports*, 46(3), 2721-2732.
- Büyük, İ., Okay, A., & Aras, S. (2021). Identification and Characterization of *SRS* Genes in *Phaseolus vulgaris* Genome and Their Responses Under Salt Stress. *Biochemical Genetics*, 1-22.
- Cao, X., Jiang, F., Wang, X., Yang, Z., & Wu, Z. (2015). Comprehensive evaluation and screening for chilling-tolerance in tomato lines at the seedling stage. *Euphytica*, 205, 569–584.
- Carther, K. F. I., Ketehouli, T., Ye, N., Yang, Y. H., Wang, N., Dong, Y. Y., Yao, N., Liu, X. M., Liu, W. C., Li, X. W., Wang, F. W., & Li, H. Y. (2019). Comprehensive genomic analysis and expression profiling of diacylglycerol kinase (DGK) gene family in soybean (*Glycine max*) under abiotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1361.
- Certel, B. T. (2016). *Phaseolus* spp. Gen Kaynaklarının Soğuk ve Don Stresine Tolerans Açısından Fenotiplenmesi ve Genotiplenmesi. *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Antalya.
- Chen, J. B., Wang, S. M., Jing, R. L., & Mao, X. G. (2009). Cloning the *PvP5CS* gene from common bean (*Phaseolus vulgaris*) and its expression patterns under abiotic stresses. *Journal of Plant Physiology*, 166(1), 12-19.
- Chen, Q. F., Xu, L., Tan, W. J., Chen, L., Qi, H., Xie, L. J., Chen, M. X., Liu, B. Y., Yu, L. J., Yao, N., Zhang, J. H., Shu, W., & Xiao, S. (2015). Disruption of the Arabidopsis defense regulator genes *SAG101*, *EDS1*, and *PAD4* confers enhanced freezing tolerance. *Molecular Plant*, 8,

- Chen, T. H., & Murata, N. (2011). Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: Mechanisms and biotechnological applications. *Plant Cell Environment*, 34, 1–20.
- Cheung, F., Haas, B. J., Goldberg, S. M., May, G. D., Xiao, Y., & Town, C. D. (2006). Sequencing *Medicago truncatula* expressed sequenced tags using 454 Life Sciences technology. *BMC Genomics*, 7(1), 1–10.
- Colon-Gonzalez, F., & Kazanietz, M. G. (2006). C1 domains exposed: from diacylglycerol binding to protein-protein interactions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1761, 827–837.
- Conesa, A., Götzt, S., García-Gómez, J. M., Terol, J., Talón, M., & Robles, M. (2005). Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*, 21(18), 3674–3676.
- Çancı, H., Kantar, F., Bozkurt, M., Yeken, M. Z., Çiftçi, V., & Özer, G. (2019). Batı Anadolu Fasulye Genetik Kaynaklarının Biyolojik Çeşitliliğinin Araştırılması ve Karakterizasyonu. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22, 251–263.
- Çiftçi, V., Şensoy, S., & Kulaz, H. (2012). Doğu Anadolu'nun Güneyinde Yetiştirilen Fasulye Gen Kaynaklarının Toplanması ve Değerlendirilmesi Tübitak 109O163 Nolu Proje Sonuç Raporu. [https://trdizin.gov.tr/publication/project/detail/TVRRNU56SXk=Son erişim tarihi: 11 Ocak 2019](https://trdizin.gov.tr/publication/project/detail/TVRRNU56SXk=Son%20erişim%20tarihi%3A%2011%20Ocak%202019).
- Çiftçi, V., Şensoy, S., & Türkmen, Ö. (2009). Van-Gevaş'ta Yaygın Olarak Yetiştirilen Yalancı Dermason Fasulye Populasyonunun Seleksiyon Yöntemiyle Islahı, TOVAG-106O346 Nolu Proje Sonuç Raporu. <https://trdizin.gov.tr/publication/project/detail/T1RVNE9Uaz0=.11> Ocak 2019.
- Dajun, L., GuoJun, F., & YongLiang, Y. (2009). Identification on chilling resistance of snap bean seedling. *China vegetables*, 6, 55–58.
- Darwish, E., Testerink, C., Khalil, M., El-Shihy, O., & Munnik, T. (2009). Phospholipid signaling responses in salt-stressed rice leaves. *Plant Cell Physiology*, 50, 986–997.
- Daszkowska-Golec, A. (2016). *The role of abscisic acid in drought stress: How aba helps plants to cope with drought stress*. In *Drought Stress Tolerance in Plants*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany.
- De Cillis, F., Leoni, B., Massaro, M., Renna, M., & Santamaria, P. (2019). Yield and quality of faba bean (*Vicia faba* L. var. major) genotypes as a vegetable for fresh consumption: A comparison between Italian landraces and commercial varieties. *Agriculture*, 9, 253.
- De Jong, C. F., Laxalt, A. M., Bargmann, B. O., De Wit, P. J., Joosten, M. H., & Munnik, T. (2004). Phosphatidic acid accumulation is an early response in the Cf-4/Avr4 interaction. *The Plant Journal*, 39, 1–12.
- De Ron, A. M., Álvarez-García, S., Casquero, P. A., Carro-Huelga, G., Gutiérrez, S., Lorenzana, A., Mayo-Prieto, S., Rodríguez-González, A., Suárez-Villanueva, V., Rodiño, A. P., Beaver, J. S., Porch, T., Galván, M. Z., Gonçalves Vidigal, M. C., Dworkin, M., Villanueva A. B., & De la Rosa, L. (2019). *Common bean genetics, breeding, and genomics for adaptation to changing to new agri-environmental conditions*. In *Genomic Designing of Climate-Smart Pulse Crops*. Springer, Cham.
- Delage, E., Ruelland, E., Guillas, I., Zachowski, A., & Puyaubert, J. (2012). *Arabidopsis* type-III phosphatidylinositol 4-kinases 1 and 2 are upstream of the phospholipase C pathway triggered by cold exposure. *Plant Cell Physiology*, 53, 565–576.
- Dickson, M. H., & Boettger, M. A. (1984). Effect of high and low temperatures on pollen germination and seed set in snap beans. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109(3), 372–374.

- Dönmez, Ç. (2018). Soğuk stresi altında geliştirilmiş ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisinde *bbZIP*, *MYB*, *NAC*, *NF-YB* ve *WRKY* tipi transkripsiyon faktör genlerinin mRNA ifade seviyelerinin belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı* Doktora Tezi, Ankara.
- Dursun, A., Haliloglu, K., & Ekinci, M. (2010). Characterization of breeding lines of common bean as revealed by RAPD and relationship with morphological traits. *Pakistan Journal of Botany*, 42(6), 3839-3845.
- Elkoca, E., & Kantar, F. (2004). Erzurum ekolojik koşullarına uygun erkenci ve yüksek verimli kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35(3-4), 137-142.
- Emanuelsson, O., Nielsen, H., Brunak, S., & Von Heijne, G. (2000). Predicting subcellular localization of proteins based on their N-terminal amino acid sequence. *Journal of Molecular Biology*, 300(4), 1005-1016.
- Epstein, E. (1972). Mineral nutrition of plants: principles and perspectives.
- Escobar-Sepulveda, H. F., Trejo-Tellez, L. I., Pérez-Rodríguez, P., Hidalgo-Contreras, J. V., & Gomez-Merino, F. C. (2017). Diacylglycerol kinases are widespread in higher plants and display inducible gene expression in response to beneficial elements, metal, and metalloid ions. *Frontiers in Plant Science*, 8, 129.
- Fan, X. D., Wang, J. Q., Yang, N., Dong, Y. Y., Liu, L., Wang, F. W., Wang, N., Chen, H., Liu, W. C., Sun, Y. P., Wu, J., Li, H. (2013). Gene expression profiling of soybean leaves and roots under salt, saline-alkali and drought stress by high-throughput Illumina sequencing. *Gene*, 512, 392-402.
- Finkelstein, R. (2013). Absciscic acid synthesis and response. *The Arabidopsis Book American Society of Plant Biologists*, 11.
- Fowler, S., & Thomashow, M. F. (2002). *Arabidopsis* transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the *CBF* cold response pathway. *Plant Cell*, 14, 1675-1690.
- Foyer, C. H., Lam, H-M., Nguyen, H. T., Siddique, K. H. M., Varshnevy, R. K., Colmer, T. D., Cowling, W., Bramley, H., Mori, T. A., Hodgson, J. M., Cooper, J. W., Miller, A. J., Kunert, K., Vorster, J., Cullis, C., Ozga, J. A., Wahlqvist, M. L., Liang, Y., Shou, H., Shi, K., Yu, J., Fodor, N., Kaiser, B. N., Wong, F. K., Valliyodan, B., & Considine M. J. (2016). Neglecting legumes has compromised human health and sustainable food production. *Nature Plants*, 2,16112
- Gao, C., Hu, J., Zhang, S., Zheng, Y., & Knapp, A. (2009). Association of polyamines in governing the chilling sensitivity of maize genotypes. *Plant Growth Regulation*, 57, 31-38.
- Ge, H., Chen, C., Jing, W., Zhang, Q., Wang, H., Wang, R., & Zhang, W. (2012). The rice diacylglycerol kinase family: functional analysis using transient RNA interference, *Frontiers in Plant Science*, 3, 60.
- Gilmour, S. J., & Thomashow, M. F. (1991). Cold acclimation and cold-regulated gene expression in ABA mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, 17, 1233-1240.
- Gomez-Merino, F. C., Brearley, C. A., Ornatowska, M., Abdel-Haliem, M. E., Zanol, M. I., & Mueller-Roeber, B. (2004). *AtDGK2*, a novel diacylglycerol kinase from *Arabidopsis thaliana*, phosphorylates 1-stearoyl-2-arachidonoyl-sn-glycerol and 1, 2-dioleoyl-sn-glycerol and exhibits cold-inducible gene expression. *Journal of Biological Chemistry*, 279(9), 8230-8241.
- Gomez-Merino, F., Arana-Ceballos, F., Trejo-Téllez, L., Skirycz, A., Brearley, C., Dörmann, P., & Mueller-Roeber, B. (2005). *Arabidopsis AtDGK7*, the smallest member of plant diacylglycerol kinases (*DGKs*), displays unique biochemical features and saturates at low substrate concentration. *Journal of Biological Chemistry*, 280, 34888-34899.

- Gonçalves, J. F. C., Santos, J. R. U. M., Nina, J. R. A. R., & Chevreuil, L. R. (2007). Energetic flux and performance index in copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) and mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seedlings grown under two irradiance environments. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19, 171–184
- Gökdemir, F. Ş. (2019). Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Bitkisinde Whirly ve Arr-B Genlerinin Genom Düzeyinde Tanımlanması, Karakterizasyonu ve Biyotik Stres Cevabı İle Olan İlişkilerinin Gen İfadesi Düzeyinde Belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*. Ankara.
- Gu, Y., Zhao, C., He, L., Yan, B., Dong, J., Li, Z., Yang, K., & Xu, J. (2018). Genome-wide identification and abiotic stress responses of DGK gene family in maize. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 27(2), 156–166.
- Gupta, R. S., & Epand, R. M. (2017). Phylogenetic analysis of the diacylglycerol kinase family of proteins and identification of multiple highly-specific conserved inserts and deletions within the catalytic domain that are distinctive characteristics of different classes of DGK homologs. *PLoS ONE*, 12, e0182758.
- Guy, S., Berger, M., & Planchon, C. (1997). Response to low temperature in dinitrogen fixing soybeans. *Plant Science*, 123, 67–75.
- Guye, M. G., Vigh, L., & Wilson, J. M. (1987). Recovery after chilling: An assessment of chill-tolerance in *Phaseolus* spp. *Journal of Experimental Botany*, 38, 691–701.
- Hannah, M. A., Heyer, A. G., & Hinch, D. K. (2005). A global survey of gene regulation during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS genetics*, 1(2), e26.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology*, 51, 463–499.
- Haucke, V., & di Paolo, G. (2007). Lipids and lipid modifications in the regulation of membrane traf. *Current Opinion in Cell Biology*, 19, 426–435.
- Hendrix, K. W., Assefa, H., Boss, & W. F. (1989). The polyphosphoinositides, phosphatidylinositol monophosphate and phosphatidylinositol biphosphate, are present in nuclei isolated from carrot protoplast. *Protoplasma*, 151, 62–72.
- Hernández, G., Ramírez, M., Valdés-López, O., Tesfaye, M., Graham, M. A., Czechowski, T., Schlereth, A., Wandrey, M., Erban, A., Cheung, Foo., Wu, H. C., Lara, M., Town, C. D., Kopka, J., Udvardi, M. K., & Vance, C. P. (2007). Phosphorus stress in common bean: root transcript and metabolic responses. *Plant Physiology*, 144(2), 752–767.
- Herzog, H. (1987). A quantitative method to assess freezing resistance in faba beans. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 158, 195–204
- Herzog, H., & Olszewski, A. (1998). A rapid method for measuring freezing resistance in crop plants. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 181, 71–79
- Hirayama, T., Ohto, C., Mizoguchi, T., & Shinozaki, K. (1995). A gene encoding a phosphatidylinositol-specific phospholipase C is induced by dehydration and salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92, 3903–3907.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). *The water-culture method for growing plants without soil*. Circular. California agricultural experiment station, 347.
- Hodgkin, M. N., Pettitt, T. R., Martin, A., Michell, R. H., Pemberton, A. J., & Wakelam, M. J. (1998). Diacylglycerols and phosphatidates: Which molecular species are intracellular messengers? *Trends in Biochemical Sciences*, 23, 200–204.
- Hong, S., Kim, S. A., Guerinot, M. L., & McClung, C. R. (2013). Reciprocal interaction of the circadian clock with the iron homeostasis network in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 161, 893–903.

- Hong, Y., Devaiah, S. P., Bahn, S. C., Thamasandra, B. N., Li, M., Wetli, R., & Wang X. (2014). Phospholipase D ϵ and phosphatidic acid enhance *Arabidopsis* growth. *The Plant Journal*, 58, 376–387.
- Hong, Y., Zhao, J., Guo, L., Kim, S. C., Deng, X., Wang, G., Zhang, G., Li, M., & Wang, X. (2016). Plant phospholipases D and C and their diverse functions in stress responses. *Progress in Lipid Research*, 62, 55–74.
- Hong, Y., Zheng, S., & Wang, X. (2008). Dual functions of phospholipase Da1 in plant response to drought. *Molecular Plant*, 1, 262–269.
- Hou, Q., Ufer, G., & Bartels, D. (2016). Lipid signaling in plant responses to abiotic stress. *Plant Cell Environment*, 39, 1029–1048.
- Hu, B., Jin, J., Guo, A. Y., Zhang, H., Luo, J., & Gao, G. (2015). GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 31(8), 1296–1297.
- Huang, X., Shi, H., Hu, Z., Liu, A., Amombo, E., Chen, L., & Fu, J. (2017). ABA is involved in regulation of cold stress response in bermudagrass. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1613.
- Hwang, Y. S., Bethke, P. C., Cheong, Y. H., Chang, H. S., Zhu, T., & Jones, R. L. (2005). A gibberellin-regulated calcineurin B in rice localizes to the tonoplast and is implicated in vacuole function. *Plant Physiology*, 138, 1347–1358.
- İlhan, E. (2018). Genome-Wide Characterization and Analysis of SBP Transcription Factor Family in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(5), 5467–5480.
- İnal, B., Büyük, İ., İlhan, E., & Aras, S. (2017). Genome-wide analysis of *Phaseolus vulgaris* C2C2-YABBY transcription factors under salt stress conditions. *3 Biotech*, 7(5), 302.
- Janusauskaite, D., & Razbadauskiene, K. (2021). Comparison of Productivity and Physiological Traits of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Varieties under Conditions of Boreal Climatic Zone. *Agronomy*, 11(4), 707.
- Jaspers, P., & Kangasjärvi, J. (2010). Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiol. Plant.*, 138, 405–413.
- Jones, H. G. (1992). Plants and Microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology, 2nd ed. Canlbridge University Press, Cambridge, UK.
- Juszczak, I., & Bartels, D. (2017). LEA gene expression, RNA stability and pigment accumulation in three closely related Linderniaceae species differing in desiccation tolerance. *Plant Science*, 255, 59–71.
- Kalavacharla, V., Liu, Z., Meyers, B. C., Thimmapuram, J., & Melmaiee, K. (2011). Identification and analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) transcriptomes by massively parallel pyrosequencing. *BMC Plant Biology*, 11(1), 135–118.
- Kamada, Y., & Muto, S., (1991). Ca²⁺-regulation of phosphatidylinositol turnover in the plasma membrane of tobacco suspension culture cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1093, 72–79.
- Kamps, T. L., Isleib, T. G., Herner, R. C., & Sink, K. C. (1987). Evaluation of techniques to measure chilling injury in tomato, *HortScience*, 22, 1309–1312.
- Kantar, F., Çiftçi, V., İkten, H., Gözen, V., & Tepe, A. (2018). Fasulye (*Phaseolus* sp.) Gen Kaynaklarının Hücre ve Bitki Seviyesinde Soğuk Stresine Tolerans Açısından Fenotiplenmesi, Tübitak (COST FA1306) 114O806 Nolu Proje Sonuç Raporu.
- Katagiri, T., Mizoguchi, T., & Shinozaki, K. (1996). Molecular cloning of a cDNA encoding diacylglycerol kinase (DGK) in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, 30, 647–653.

- Kavas, M., Baloğlu, M. C., Atabay, E. S., Ziplar, U. T., Daşgan, H. Y., & Ünver, T. (2016). Genome-wide characterization and expression analysis of common bean *bHLH* transcription factors in response to excess salt concentration. *Molecular Genetics and Genomics*, 291(1), 129–143.
- Kavas, M., Kizildogan, A., Gökdemir, G., & Baloğlu, M. C. (2015). Genome-wide investigation and expression analysis of *AP2-ERF* gene family in salt tolerant common bean. *EXCLI Journal*, 14, 1187–1206.
- Khaidiza, M. I., Haliloglu, K., Elkoca, E., Aydin, M., & Kantar, F. (2012). Genetic diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces grown in Northeast Anatolia Of Turkey assessed with simple sequence repeat markers, *Turkish Journal of Field Crops*, 17(2), 77–79.
- Kintake, S. (1998). Various aspects of inhibition of photosynthesis under light/chilling stress: "Photoinhibition at chilling temperatures" versus "chilling damage in the light". *Journal of Plant Research*, 111, 121–129.
- Kobayashi, N., Hozumi, Y., Ito, T., Hosoya, T., Kondo, H., & Goto, K. (2007). Differential subcellular targeting and activity-dependent subcellular localization of diacylglycerol kinase isozymes in transfected cells. *European Journal of Cell Biology*, 86, 433–444.
- Konzen, E. R., Recchia, G. H., Cassieri, F., Caldas, D. G. G., Berny Mier y Teran, J. C., Gepts, P., & Tsai, S. M. (2019). *DREB* genes from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) show broad to specific abiotic stress responses and distinct levels of nucleotide diversity. *International journal of genomics*, 2019, 9520642.
- Korkmaz Ağaoğlu, Ö., & Sidekli, Ö. (2020). Kantitatif RT-PCR (RT-qPCR) çalışmalarında uygun housekeeping genlerin (HKGs) seçimi ve validasyonu. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(1), 76–83.
- Kue Foka, I. C., Ketehouli, T., Zhou, Y., Li, X. W., Wang, F. W., & Li, H. (2020). The Emerging Roles of Diacylglycerol Kinase (DGK) in Plant Stress Tolerance, Growth, and Development. *Agronomy*, 10(9), 1375.
- Kulaz, H., & Çiftçi, V. (2012). Relationships among yield components and selection criteria for seed yield improvement in bush bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural Science*, 18, 257–262.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549.
- Lake, L., Godoy-Kutchartt, D. E., Calderini, D. F., Verrell, A., & Sadras, V. O. (2019). Yield determination and the critical period of faba bean (*Vicia faba* L.). *Field Crops Research*, 241, 107575.
- Law, Y. S., Gudimella, R., Song, B. K., Ratnam, W., & Harikrishna, J. A. (2012). Molecular Characterization and Comparative Sequence Analysis of Defense-Related Gene, *Oryza rufipogon* Receptor-Like Protein Kinase 1. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 9343–9362.
- Le, B., Nawaz, M. A., Rehman, H. M., Le, T., Yang, S. H., Golokhvast, K. S., Son E., & Chung, G. (2016). Genome-wide characterization and expression pattern of auxin response factor (*ARF*) gene family in soybean and common bean, *Genes & Genomics*, 38(12), 1165–1178.
- Lee, B. H., Henderson, D. A., & Zhu, J. K. (2005). The Arabidopsis coldresponsive transcriptome and its regulation by ICE1. *Plant Cell*, 17, 3155–3175.
- Lepedus, H., Brkic, I., Cesar, V., Jurkovic, V., Antunovic, J., Jambrovic, A., Brkic J., & Simic, D. (2012). Chlorophyll fluorescence analysis of photosynthetic performance in seven maize inbred lines under water-limited conditions. *Periodicum Biologorum*, 114(1), 73–76.

- Lescot, M., Déhais, P., Thijs, G., Marchal, K., Moreau, Y., Van de Peer, Y., Rouze, P., & Rombauts, S. (2002). PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Research*, 30(1), 325-327.
- Li, M., Duan, X., Wang, Q., Chen, W., & Qi, H. (2019). A new morphological method to identify cold tolerance of melon at seedling stage. *Functional Plant Biology*, 47(1), 80-90.
- Li, M., Hong, Y., & Wang, X. (2009). Phospholipase D- and phosphatidic acid-mediated signaling in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1791, 927-935.
- Li, W., Li, M., Zhang, W., Welti, R., & Wang, X. (2004). The plasma membrane-bound phospholipase D enhances freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Biotechnology*, 22, 427-433.
- Li, Y., Tan, Y., Shao, Y., Li, M., & Ma, F. (2015). Comprehensive genomic analysis and expression profiling of diacylglycerol kinase gene family in *Malus prunifolia* (Willd.) Borkh. *Gene*, 561, 225-234.
- Libault, M., & Dickstein, R. (2014). *Advances in functional genomics in legumes*. In: Gupta S, Nadarajan N, Gupta DS, editors. Legumes in the Omic Era. New York (NY): Springer.
- Link, W., Balko, C., & Stoddard, F. L. (2010). Winter hardiness in faba bean: physiology and breeding. *Field Crops Research*, 115, 287-296.
- Lipiec, J., Doussan, C., Nosalewicz, A., & Kondracka, K. (2013). Effect of drought and heat stresses on plant growth and yield: A review. *International Agrophysics*, 27, 463-477.
- Liu, C., Yang, X., Yan, Z., Fan, Y., Feng, G., & Liu, D. (2019). Analysis of differential gene expression in cold-tolerant vs. cold-sensitive varieties of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in response to low temperature stress. *Genes & Genomics*, 41(12), 1445-1455.
- Liu, W., Xie, Y., Ma, J., Luo, X., Nie, P., Zuo, Z., Lahrmann, U., Zhao, Q., Zheng, Y., Zhao, Y., Xue, Y., & Ren, J. (2015). IBS: An illustrator for the presentation and visualization of biological sequences. *Bioinformatics*, 31, 3359-3361.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4), 402-408.
- Lopez, J. C., Baille, A., Bonachela, S., & Perez-Parra, J. (2008). Analysis and prediction of greenhouse green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) production in a mediterranean climate. *Biosystems Engineering*, 100, 86 - 95.
- Lukatkin, A., Brazaityte, A., Bobinas, C., & Duchovskis, P. (2012). Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review. *Zemdirbyste Agri*, 99, 111-124.
- Lundberg, G. A., & Sommarin, M. (1992). Diacylglycerol kinase in plasma membranes from wheat. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1992, 1123, 177-183.
- Luo, M., Liang, X. Q., Dang, P., Holbrook, C. C., Bausher, M. G., Lee, R. D., & Guo, B. Z. (2005). Microarray-based screening of differentially expressed genes in peanut in response to *Aspergillus parasiticus* infection and drought stress. *Plant Science*, 169, 695-703.
- Lv, X., Li, H., Chen, X., Xiang, X., Guo, Z., Yu, J., & Zhou, Y. (2018). The role of calcium-dependent protein kinase in hydrogen peroxide, nitric oxide and ABA-dependent cold acclimation. *Journal of Experimental Botany*, 69, 4127-4139.
- Lynch, M., O'Hely, M., & Walsh, B. (2001). Force, A. The probability of preservation of a newly arisen gene duplicate. *Genetics*, 159, 1789-1804.
- Madakbas, S. Y., & Ergin, M. (2011). Morphological and phenological characterization of Turkish bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes and their present variation states. *African Journal of Agricultural Research*, 6(28), 6155-6166.

- Masai, I., Hosoya, T., Kojima, S. I., & Hotta, Y. (1992). Molecular cloning of a *Drosophila* diacylglycerol kinase gene that is expressed in the nervous system and muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, 6030–6034.
- Massacci, A., Nabiev, S. M., Pietrosanti, L., Nematov, S. K., Chernikova, T. N., Thor, K., & Leipner, J. (2008). Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gas-exchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(2), 189–195.
- Massart, J., & Zierath, J. R. (2019). Role of diacylglycerol kinases in glucose and energy homeostasis. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 30, 603–617.
- McClean, P. E., Mamidi, S., McConnell, M., Chikara, S., & Lee, R. (2010). Synteny mapping between common bean and soybean reveals extensive blocks of shared loci. *BMC Genomics*, 11(1), 184–110.
- McConnell, M., Mamidi, S., Lee, R., Chikara, S., Rossi, M., Papa, R., & McClean, P. (2010). Syntenic relationships among legumes revealed using a gene-based genetic linkage map of common bean. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(6), 1103–1116.
- McGrath, C. L., Gout, J. F., Johri, P., & Doak, T. G. (2014). Lynch, M. Differential retention and divergent resolution of duplicate genes following whole-genome duplication. *Genome Research*, 24, 1665–1675.
- McLoughlin, F., Arisz, S. A., Dekker, H. L., Kramer, G., de Koster, C. G., Haring, M. A., Munnik, T., & Testerink, C. (2013). Identification of novel candidate phosphatidic acid-binding proteins involved in the salt-stress response of *Arabidopsis thaliana* roots. *Biochemical Journal*, 450, 573–581.
- Meijer, H. J., & Munnik, T. (2003) Phospholipid-based signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 54, 265–306.
- Melotto, M., Monteiro-Vitorello, C. B., Bruschi, A. G., Camargo, L. E. A. (2005). Comparative bioinformatic analysis of genes expressed in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Genome*, 48(3), 562–570.
- Merida, I., Avila-Flores, A., & Merino, E. (2007). Diacylglycerol kinases: At the hub of cell signalling. *Biochemical Journal*, 409, 1–18.
- Meringer, M. V., Villasuso, A. L., Margutti, M. P., Usorach, J., Pasquaré, S. J., Giusto, N. M., Machado, E. E., & Racagni, G. E. (2016). Saline and osmotic stresses stimulate PLD/diacylglycerol kinase activities and increase the level of phosphatidic acid and proline in barley roots. *Environmental and Experimental Botany*, 128, 69–78.
- Meringer, M. V., Villasuso, A. L., Pasquaré, S. J., Giusto, N. M., Machado, E. E., & Racagni, G. E. (2012). Comparative phytohormone profiles, lipid kinase and lipid phosphatase activities in barley aleurone, coleoptile, and root tissues. *Plant Physiology and Biochemistry*, 58, 83–88.
- Meyer, D. W., & Badaruddin, M. (2001). Frost tolerance of ten seedling legume species at four growth stages. *Crop Science*, 41(6), 1838–1842.
- Miller, G. A., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. U., & Mittler, R. O. (2010). Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, Cell & Environment*, 33, 453–467.
- Miura, K., & Furumoto, T. (2013). Cold signaling and cold response in plants. *International journal of molecular sciences*, 14(3), 5312–5337.
- Möbius, K., Kazemi, S., Güntert, P., Jakob, A., Heckel, A., Becker-Baldus, J., & Glaubitz, C. (2019). Global response of diacylglycerol kinase towards substrate binding observed by 2D and 3D MAS NMR. *Scientific Reports*, 9, 1–17.

- Muller, M. O., Meylan-Bettex, M., Eckstein, F., Martinoia, E., Siegenthaler, P. A., & Bovet, L. (2000). Lipid phosphorylation in chloroplast envelopes. Evidence for galactolipid CTP-dependent kinase activities. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 19475–19481.
- Munnik, T. (2001). Phosphatidic acid: an emerging plant lipid second Messenger. *Trends Plant Science*, 6, 227–233.
- Munnik, T., & Testerink, C. (2009). Plant phospholipid signaling: “in a nutshell”. *Journal of Lipid Research*, 50(Suppl), S260–265.
- Munnik, T., & Vermeer, J. E. M. (2010). Osmotic stress-induced phosphoinositide and inositol phosphate signaling in plants. *Plant Cell Environment*, 33, 655–669.
- Munnik, T., Meijer, H. J. G., Ter Riet, B., Hirt, H., Frank, W., Bartels, D., & Musgrave, A. (2000). Hyperosmotic stress stimulates phospholipase D activity and elevates the levels of phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate. *The Plant Journal*, 22, 147–154.
- Munnik, T., Van Himbergen, J. A. J., Ter Riet, B., Braun, F., Irvine, R. F., Van den Ende, H., & Musgrave, A. (1998). Detailed analysis of the turnover of polyphosphoinositides and phosphatidic acid upon activation of phospholipases C and D in *Chlamydomonas* cells treated with nonpermeabilizing concentrations of mastoparan. *Planta*, 207, 133–145.
- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: Bringing them together. *New Phytologist*, 167, 645–663.
- Muthan, B., Roston, R. L., Froehlich, J. E., & Benning, C. (2013). *Arabidopsis* chloroplast diacylglycerol pools by selectively targeting bacterial diacylglycerol kinase to suborganellar membranes. *Plant Physiology*, 163, 61–74.
- Nadeem, M. A. (2019). Türk fasulye genetik kaynaklarında bazı agronomik özellikler için genomik bölgelerin genom çapı ilişkili çalışmaları (GWAS) ile tanımlanması. *Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, Bolu.
- Nadeem, M. A., Habyarimana, E., Çiftçi, V., Nawaz, M. A., Karaköy, T., Comertpay, G., Shadid, M. Q., Hatipoğlu, R., Yeken, M. Z., Ali, F., Ercişli, S., Chung, G., & Baloch, F.S. (2018). Characterization of genetic diversity in Turkish common bean gene pool using phenotypic and whole-genome DArTseq-generated silicoDArT marker information. *PloS one*, 13(10), e0205363.
- Nadeem, M. A., Karaköy, T., Yeken, M. Z., Habyarimana, E., Hatipoğlu, R., Çiftçi, V., Nawaz, M. A., Sönmez, F., Shahid, M. Q., Yang, S. H., Chung, G., & Baloch, F. S. (2020). Phenotypic Characterization of 183 Turkish Common Bean Accessions for Agronomic, Trading, and Consumer-Preferred Plant Characteristics for Breeding Purposes. *Agronomy*, 10(2), 272.
- Nadeem, M. A., Yeken, M. Z., Shahid, M. Q., Habyarimana, E., Yılmaz, H., Alsaleh, A., Hatipoğlu, H., Çilesiz, Y., Khawar, K. M., Ludidi, N., Ercişli, S., Aasim, M., Karaköy, T., & Baloch, F. S. (2021). Common bean as a potential crop for future food security: an overview of past, current and future contributions in genomics, transcriptomics, transgenics and proteomics. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 35(1), 758–786.
- Nakashima, K., Jan, A., Todaka, D., Maruyama, K., Goto, S., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2014). Comparative functional analysis of six drought-responsive promoters in transgenic rice. *Planta*, 239, 47–60.
- Narsai, R., Wang, C., Chen, J., Wu, J., Shou, H., & Whelan, J. (2013). Antagonistic, overlapping and distinct responses to biotic stress in rice (*Oryza sativa*) and interactions with abiotic stress. *BMC Genomics*, 14, 93.
- Nodari, R. O., Tsai, S. M., Guzman, P., Gilbertson, R. L., & Gepts, P. (1993). Toward an integrated linkage map of common bean. III. Mapping genetic factors controlling host- bacteria interactions. *Genetics*, 134, 341–350.
- Ohlrogge, J., & Browse, J. (1995). Lipid biosynthesis. *Plant Cell*, 7, 957.

- Öquist, G., Chow, W. S., & Anderson, J. M. (1992). Photoinhibition of photosynthesis represents a mechanism for the long-term regulation of photosystem II. *Planta*, 186(3), 450-460.
- Özdemir, S. (2002). Yemeklik Baklagiller. İstanbul: Hasad Yayıncılık.
- Özer, G., Çiftçi, V., Çancı, H., & Kantar, F. (2018). Ulusal Kuru Fasulye Gen Kaynaklarından Yüksek Verimli ve Antraknoz (*Colletotrichum lindemuthianum*) Hastalığına Dayanıklı Islah Materyallerinin Geliştirilmesi Tübitak 115R042 Nolu Proje Sonuç Raporu.
- Öztürk, H. İ., Dursun, A., Hosseinpour, A., & Haliloğlu, K. (2020). Genetic diversity of pinto and fresh bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm collected from Erzincan province of Turkey by inter-primer binding site (iPBS) retrotransposon markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(4), 417-427.
- Pavlopoulos, G. A., Soldatos, T. G., Barbosa-Silva, A., & Schneider, R. (2010). A reference guide for tree analysis and visualization. *BioData Mining*, 3.
- Perez-Torres, E., Mario, P. C., Polanco, V., & Viviana, B. B. (2009). Gene expression analysis: a way to study tolerance to abiotic stresses in crops species. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 62, 260–269.
- Peters, C., Kim, S. C., Devaiah, S., Li, M., & Wang, X. (2014). Non-specific phospholipase C5 and diacylglycerol promote lateral root development under mild salt stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environment*, 37, 2002–2013.
- Pfaffl, M. W., Horgan, G. W., & Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research*, 30(9), e36-e36.
- Pfündel, E. (1998). Estimating the contribution of photosystem I to total leaf chlorophyll fluorescence. *Photosynthesis Research*, 56, 185–195.
- Pfündel, E. E., Ghazlen, N. B., Meyer, S., & Cerovic, Z. G. (2007). Investigating UV screening in leaves by two different types of portable UV fluorimeters reveals in vivo screening by anthocyanins and carotenoids. *Photosynthesis Research*, 93, 205–221.
- Pilon-Smits, E. A., Quinn, C. F., Tapken, W., Malagoli, M., & Schiavon, M. (2009). Physiological functions of beneficial elements. *Curr. Opin. Plant Biology*, 12, 267–274.
- Pleskot, R., Pejchar, P., Bezvoda, R., Lichtscheidl, I.K., Wolters-Arts, M., Marc, J., Žárský, V., & Potocký, M. (2012). Turnover of phosphatidic acid through distinct signaling pathways affects multiple aspects of pollen tube growth in tobacco. *Frontiers in Plant Science*, 3, 54.
- Poschenrieder, C., Cabot, C., Martos, S., Gallego, B., & Barceló, J. (2013). Do toxic ions induce hormesis in plants? *Plant Science*, 212, 15–25.
- Quevillon, E., Silventoinen, V., Pillai, S., Harte, N., Mulder, N., Apweiler, R., & Lopez, R. (2005). InterProScan: protein domains identifier. *Nucleic Acids Research*, 33(suppl_2), W116-W120.
- R Core Team. (2013). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, Available at: <http://www.R-project.org/>.
- Rachmilevitch, S., DaCosta, M., & Huang, B. (2006). *Physiological and biochemical indicators for stress tolerance*. In: Huang B (ed) Plant-environment interactions. Taylor and Francis, Boca Raton.
- Ramegowda, V., & Senthil-Kumar, M. (2015). The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: Mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *Journal of Plant Physiology*, 176, 47–54.
- Ramírez, M., Graham, M. A., Blanco-López, L., Silvente, S., Medrano-Soto, A., Blair, M. W.,

- Hernandez, G., Vance, C. P., & Lara, M. (2005). Sequencing and analysis of common bean ESTs. Building a foundation for functional genomics. *Plant Physiology*, 137(4), 1211–1227.
- Reddy, P. S., Jogeswar, G., Rasineni, G. K., Maheswari, M., Reddy, A. R., Varshney, R. K., & Kishor, P. K. (2015). Proline over-accumulation alleviates salt stress and protects photosynthetic and antioxidant enzyme activities in transgenic sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94, 104–113.
- Rodino, A. P., Lema, M., Pérez-Barbeito, M., Santalla, M., & De Ron, A. M. (2007). Assessment of runner bean (*Phaseolus coccineus* L.) germplasm for tolerance to low temperature during early seedling growth. *Euphytica*, 155(1), 63–70.
- Ruelland, E., Cantrel, C., Gawer, M., Kader, J., & Zachowski, A. (2002). Activation of phospholipases C and D is an early response to a cold exposure in *Arabidopsis* suspension cells. *Plant Physiology*, 130, 999–1007.
- Saeidi, M., & Abdoli, M. (2015). Effect of drought stress during grain filling on yield and its components, gas exchange variables, and some physiological traits of wheat cultivars. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17, 885–898.
- Sakamoto, A., & Murata, N. (2002). The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: Clues from transgenic plants. *Plant Cell Environment*, 25, 163–171.
- Sakane, F., Imai, S. I., Kai, M., Yasuda, S., & Kanoh, H. (2007). Diacylglycerol kinases: Why so many of them? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1771, 793–806.
- Sakane, F., Imai, S. I., Yamada, K., Murakami, T., Tsushima, S., & Kanoh, H. (2002). Alternative splicing of the human diacylglycerol kinase gene generates two isoforms differing in their expression patterns and in regulatory functions. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 43519–43526.
- Savojardo, C., Martelli, P. L., Fariselli, P., Proffitt, G., & Casadio, R. (2018). BUSCA. An integrative web server to predict subcellular localization of proteins. *Nucleic Acids Research*, 46, W459–W466.
- Schmutz, J., McClean, P. E., Mamidi, S., Wu, G. A., Cannon, S. B., Grimwood, J., Jenkins, J., Shu, S., Song, Q., Chavarro, C., & Torres-Torres, M. (2014). A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature Genetics*, 46, 707–713.
- Shaik, R., & Ramakrishna, W. (2013). Genes and co-expression modules common to drought and bacterial stress responses in *Arabidopsis* and rice. *PLoS ONE*, 8, e77261.
- Sharma, D. K., Andersen, S. B., Ottosen, C. O., & Rosenqvist, E. (2012). Phenotyping of wheat cultivars for heat tolerance using chlorophyll a fluorescence. *Functional Plant Biology*, 39(11), 936–947.
- Sharma, R., De Vleeschauwer, D., Sharma, M. K., & Ronald, P. C. (2013). Recent advances in dissecting stress-regulatory crosstalk in rice. *Molecular Plant*, 6, 250–260.
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Seki, M. (2003). Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(5), 410–417.
- Shulga, Y. V., Topham, M. K., & Eppand, R. M. (2011). Regulation and functions of diacylglycerol kinases. *Chemical Reviews*, 111, 6186–6208.
- Siddiqui, M. H., Al-Khaishany, M. Y., Al-Qutami, M. A., Al-Wahabi, M. H., Grover, A., Ali, H. M., Al-Wahibi, M. S., & Bukhari, N. A. (2015). Response of different genotypes of faba bean plant to drought stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 10214–10227.
- Skrudlik, G., Baczek-Kwinta, R., & Koscielniak, J. (2000). The effect of short warm breaks during chilling on photosynthesis and the activity of antioxidant enzymes in plants sensitive to

chilling. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 184, 233–240.

- Snedden, W. A., & Blumwald, E. (2000). Alternative splicing of a novel diacylglycerol kinase in tomato leads to a calmodulin-binding isoform. *The Plant Journal*, 24, 317–326.
- Sözen, Ö., Özçelik, H. Ö., & Bozoğlu, H. (2012). Batı Karadeniz Bölgesi'nden Toplanan Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Populasyonlarındaki Biyoçeşitliliğin Belirlenmesi. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 5(1), 59–63.
- Sperschneider, J., Catanzariti, A. M., DeBoer, K., Petre, B., Gardiner, D. M., Singh, K. B., Dodds, P. N., & Taylor, J. M. (2017). LOCALIZER: Subcellular localization prediction of both plant and effector proteins in the plant cell. *Scientific Reports*, 7, 1–14.
- Srinivasan, A., Takeda, H., & Senboku, T. (1996). Heat tolerance in food legumes as evaluated by cell membrane thermostability and chlorophyll fluorescence techniques. *Euphytica*, 88, 35–45.
- Su, L., Dai, Z., Li, S., & Xin, H. (2015). A novel system for evaluating drought–cold tolerance of grapevines using chlorophyll fluorescence. *BMC Plant Biology*, 15(1), 82.
- Sui, Z., Niu, L., Yue, G., Yang, A., & Zhang, J. (2008). Cloning and expression analysis of some genes involved in the phosphoinositide and phospholipid signaling pathways from maize (*Zea mays* L.). *Gene*, 426, 47–56.
- Şehirali, S., & Özgen, A. M. (2013). *Bitki Islahı*. Ankara: Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayın No: 1582, Ders Kitabı: 534.
- Tan, W. J., Yang, Y. C., Zhou, Y., Huang, L. P., Xu, L., Chen, Q. F., Yu, L. J., & Xiao, S. (2018). Diacylglycerol Acyltransferase and Diacylglycerol KINASE modulate triacylglycerol and phosphatidic acid production in the plant response to freezing stress. *Plant Physiology*, 177, 1303–1318.
- Tan, Z., & Boss, W. F., 1992. Association of phosphatidylinositol kinase, phosphatidylinositol monophosphate kinase, and diacylglycerol kinase with the cytoskeleton and F-actin fractions of carrot (*Daucus carota* L.) cells grown in suspension culture: response to cell wall-degrading enzymes. *Plant Physiology*, 100, 2116–2120.
- Tang, F., Xiao, Z., Sun, F., Shen, S., Chen, S., Chen, R., Zhu, M., Zhang, Q., Du, H., Lu, K., Li, J., & Qu, C. (2020). Genome-wide identification and comparative analysis of diacylglycerol kinase (DGK) gene family and their expression profiling in *Brassica napus* under abiotic stress. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1–17.
- Tanrıseven, M. (2020). Fasulye bitkisinde kuraklığa duyarlı HSP70 genlerinin tüm genomda tanımlanması. *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Ankara.
- Terzi, R., Sağlam, A., Kutlu, N., Nar, H., & Kadioğlu, A. (2010). Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem II and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars. *Turkish Journal of Botany*, 34(1), 1–10.
- Testerink, C., & Munnik, T. (2005). Phosphatidic acid: a multifunctional stress signaling lipid in plants. *Trends Plant Science*, 10, 368–375.
- Testerink, C., & Munnik, T. (2011). Molecular, cellular, and physiological responses to phosphatidic acid formation in plants. *Journal of Experimental Botany*, 62, 2349–2361.
- Testerink, C., Dekker, H., Lim, Z., Johns, M., Holmes, A., de Koster, C., Ktistakis, N. T., & Munnik, T. (2004). Isolation and identification of phosphatidic acid targets from plants. *Plant Journal*, 39, 527–536.
- Thakur, P., Kumara, S., Malika, J., Bergerb, J. D., & Nayyara, H. (2010). Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 67, 429–443.

- Thomashow, M. F. (1999). Plant cold acclimation: Freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annual Review of Plant Biology*, 50, 571–599.
- Tian, J., Venkatachalam, P., Liao, H., Yan, X., & Raghothama, K. (2007). Molecular cloning and characterization of phosphorus starvation responsive genes in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Planta*, 227(1), 151–165.
- Ulukapi, K., & Onus, A. N. (2012). Selekte edilmiş bazı yerel taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin moleküler karakterizasyonu. *Journal of Agricultural Sciences*, 18, 277–286.
- Untergasser, A., Cutcutache, I., Koressaar, T., Ye, J., Faircloth, B. C., Remm, M., & Rozen, S. G. (2012). Primer3—new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*, 40(15), e115–e115.
- Urban, L., Aarouf, J., & Bidet, L. P. (2017). Assessing the effects of water deficit on photosynthesis using parameters derived from measurements of leaf gas exchange and of chlorophyll a fluorescence. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2068.
- Van Buskirk, H. A., & Thomashow, M. F. (2006). *Arabidopsis* transcription factors regulating cold acclimation. *Physiologia Plantarum*, 126, 72–80.
- Vaultier, M. N., Cantrel, C., Guerbette, F., Boutte, Y., Vergnolle, C., Cicek, D., Bolte, S., Zachowski, A., & Ruelland, E. (2008). The hydrophobic segment of *Arabidopsis thaliana* cluster I diacylglycerol kinases is sufficient to target the proteins to cell membranes. *FEBS Letters*, 582, 1743–1748.
- Vaz Patto, M. C., Amarowicz, R., Aryee, A. N., Boye, J. I., Chung, H. J., Martín-Cabrejas, M. A., & Domoney, C. (2015). Achievements and challenges in improving the nutritional quality of food legumes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34, 105–143.
- Vergnolle, C., Vaultier, M. N., Taconnat, L., Renou, J. P., Kader, J. C., Zachowski, A., & Ruelland, E. (2005). The coldinduced early activation of phospholipase C and D pathways determines the response of two distinct clusters of genes in *Arabidopsis* cell suspensions. *Plant Physiology*, 139, 1217–1233.
- Vermeer, J. E., vanWijk, R., Goedhart, J., Geldner, N., Chory, J., Gadella, T. W. J. Jr., & Munnik, T. (2017). In vivo imaging of diacylglycerol at the cytoplasmic leaflet of plant membranes. *Plant and Cell Physiology*, 58, 1196–1207.
- Verslues P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., & Zhu, J. K. (2006). Zhu Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing abiotic stresses that affect plant water status. *Plant Journal*, 45, 523–539
- Vierling, E. (1991). The roles of heat shock proteins in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 42, 579–620.
- Villasuso, A. L., Di Palma, M. A., Avelaño, M., Pasquaré, S. J., Racagni, G., Giusto, N. M., & Machado, E. E. (2013). Differences in phosphatidic acid signalling and metabolism between ABA and GA treatments of barley aleurone cells. *Plant Physiology and Biochemistry*, 65, 1–8.
- Vlasova, A., Capella-Gutiérrez, S., Rendon-Anaya, M., Hernández-Oñate, M., Minoche, A. E., Erb, I., Câmara, F., Prieto-Barja, P., Corvelo, A., Sanseverino, W., & Westergaard, G. (2016). Genome and transcriptome analysis of the Mesoamerican common bean and the role of gene duplications in establishing tissue and temporal specialization of genes. *Genome Biology*, 17, 32.
- Vodkin, L. O., Khanna, A., Shealy, R., Clough, S. J., Gonzalez, D. O., Philip, R., Zabala, G., Thibaud-Nissen, F., Sidarous, M., Strömviik, M.V., Shoop, E., Schmidt, C., Retzel, E., Erpelding, J., Shoemaker, R. C., Rodriguez-Huete, A. M., Polacco, J. C., Coryell, V., Keim, P., Gong, G., Liu, L., Pardin, J., & Schweitzer, Peter. (2004). Microarrays for global expression constructed with a low redundancy set of 27,500 sequenced cDNAs representing an array of developmental stages and physiological conditions of the soybean plant. *BMC*

- Voorrips, R. (2002). MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of Heredity*, 93(1), 77-78.
- Wang X, Elling AA, Li X, Li, N., Peng, Z., He, G., Sun, H., Qi, Y., Liu, X. S., Deng, X. W. (2009). Genome-wide and organ-specific landscapes of epigenetic modifications and their relationships to mRNA and small RNA transcriptomes in maize. *Plant Cell*, 21(4), 1053–1069.
- Wang, X. (2004). Lipid signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 7,329–336.
- Wang, X., & Chapman, K. D. (2013). Lipid signaling in plants. *Frontiers in Plant Science*, 4, 216.
- Welti, R., Li, W., Li, M., Sang, Y., Biesiada, H., Zhou, H. E., Rajashekar, C. B., Williams, T. D., Wang, X. (2002) Profiling membrane lipids in plant stress responses. Role of phospholipase D alpha in freezing-induced lipid changes in *Arabidopsis*. *Journal of Biological Chemistry* 277, 31994–32002.
- Williams, W.P. (1984). Control of excitation energy distribution in photosynthetic systems in vivo. *Biochemical Society Transactions*, 12(5), 776-778.
- Winfield, M. O., Lu, C., Wilson, I. D., Coghill, J. A., & Edwards, K. J. (2010). Plant responses to cold: Transcriptome analysis of wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 8,749–771
- Wissing, J. B., & Wagner, K. G. (1992). Diacylglycerol kinase from suspension cultured plant cells: Characterization and subcellular localization. *Plant Physiology*, 98, 1148-1153.
- Wissing, J. B., Grabowski, L., Drewitz, E., Hanenberg, A., Wylegalla, C., & Wagner, K. G. (1992). Plasma membrane preparations from suspension cultured plant cells contain the enzymes for the recycling of phosphatidic acid and diacylglycerol. *Plant Science*, 87, 29–37.
- Woronuk, G., Vijayan, P., Laberge, S., Vandenberg, B., & Bett, K. (2010). Transcriptomic analysis of chilling stress in *Phaseolus* spp. *Environmental and Experimental Botany*, 69(2), 95-104.
- Wu, C., Chen, Z., Dardalhon, V., Xiao, S., Thalhamer, T., Liao, M., Madi, A., Franca, R. F., Han, T., Oukka, M., Kuchroo, V. (2017). The transcription factor muscudin promotes the unidirectional development of peripheral Treg cells by suppressing the TH2 transcriptional program. *Nature Immunology*, 18(3), 344–353.
- Xie, S., Naslavsky, N., & Caplan, S. (2015). Diacylglycerol kinases in membrane tracking. *Cellular Logistics*, 5, e1078431.
- Xiong, J., Zhang, L., Fu, G., Yang, Y., Zhu, C., & Tao, L. (2012). Drought-induced proline accumulation is uninvolved with increased nitric oxide, which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice. *Journal of Plant Research*, 125, 155–164.
- XLSTAT. (2016). Data Analysis and Statistics Software for Microsoft Excel. Addinsoft, New York, USA.
- Xu, J., Carlsson, A. S., Francis, T., Zhang, M., Ho man, T., Giblin, M. E., & Taylor, D. C. (2012). Triacylglycerol synthesis by PDAT1 in the absence of DGAT1 activity is dependent on re-acylation of LPC by LPCAT2. *BMC Plant Biology*, 12, 4.
- Xue, H. W., Chen, X., & Mei, Y. (2009). Function and regulation of phospholipid signalling in plants. *Biochemical Journal*, 421,145–156.
- Yan, W., & Fregeau-Reid, J. (2018). Genotype by yield*trait (GYT) biplot: a novel approach for genotype selection based on multiple traits. *Scientific Reports*, 8, 8242.
- Yayla, T. (2020). Yerel Taze Fasulye Genotiplerinin Karakterizasyonu ve Isıtmasız Sera Şartlarında Performanslarının Araştırılması. *Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal*

- Yeken, M. Z., Kantar, F., Çancı, H., Özer, G., & Çiftçi, V. (2018). Breeding of dry bean cultivars using *Phaseolus vulgaris* landraces in Turkey. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 4, 45-54.
- Yoshida, S., Hotsubo, K., Kawamura, Y., Murai, M., Arakawa, K., & Takezawa, D. (1999). Alterations of intracellular pH in response to low temperature stresses. *Journal of Plant Research*, 112, 225-236.
- Yu, C. S., Chen, Y. C., Lu, C. H., & Hwang, J. K. (2006). Prediction of protein subcellular localization. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 64(3), 643-651.
- Yu, L., Nie, J., Cao, C., Jin, Y., Yan, M., Wang, F., Liu, J., Xiao, Y., Liang, Y., & Zhang, W. (2010). Phosphatidic acid mediates salt stress response by regulation of MPK6 in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 188, 762-773.
- Yuan, S., Kim, S. C., Deng, X., Hong, Y., & Wang, X. (2019). Diacylglycerol kinase and associated lipid mediators modulate rice root architecture. *New Phytologist*, 223, 261-276.
- Yunus, I. S., Cazenave-Gassiot, A., Liu, Y. C., Lin, Y. C., Wenk, M. R., & Nakamura, Y. (2015). Phosphatidic acid is a major phospholipid class in reproductive organs of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Signaling & Behavior*, 10, e1049790.
- Zhang, Q., Lin, F., Mao, T., Nie, J., Yan, M., Yuan, M., & Zhang, W. (2012). Phosphatidic acid regulates microtubule organization by interacting with MAP65-1 in response to salt stress in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 24, 4555-4576.
- Zhang, W., & Xiao, Z. (2015). Lipid in salicylic acid-mediated defense in plants: focusing on the roles of phosphatidic acid and phosphatidylinositol 4-phosphate. *Frontiers in Plant Science*, 6, 387.
- Zhang, W., Chen, J., Zhang, H., & Song, F. (2008). Overexpression of a rice diacylglycerol kinase gene *OsBIDK1* enhances disease resistance in transgenic Tobacco. *Molecules and Cells*, 26, 258-264.
- Zhang, W., Qin, C., Zhao, J., & Wang, X. (2004). Phospholipase Da1-derived phosphatidic acid interacts with ABI1 phosphatase 2C and regulates abscisic acid signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 9508-9513.
- Zhang, Y.M., Wang, C. C., Hu, H. H., & Yang, L. (2011). Cloning and expression of three fatty acid desaturase genes from cold-sensitive lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). *Biotechnol Letters*, 33, 395-401.
- Zhao, Y., Dong, W., Zhang, N., Ai, X., Wang, M., Huang, Z., Xiao, L., & Xia, G. (2014). A wheat allene oxide cyclase gene enhances salinity tolerance via jasmonate signaling. *Plant Physiology*, 164, 1068-1076.
- Zhou, R., Hyldgaard, B., Yu, X., Rosenqvist, E., Ugarte, R. M., Yu, S., Wu, Z., Ottosen, C.O., & Zhao, T. (2018). Phenotyping of faba beans (*Vicia faba* L.) under cold and heat stresses using chlorophyll fluorescence. *Euphytica*, 214(4), 68.
- Zhou, R., Yu, X., Kjær, K. H., Rosenqvist, E., Ottosen, C. O., & Wu, Z. (2015). Screening and validation of tomato genotypes under heat stress using F_v/F_m to reveal the physiological mechanism of heat tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 118, 1-11.
- Zhu, J., Lee, B. H., Dellinger, M., Cui, X., Zhang, C., Wu, S., Nothnagel, E. A., & Zhu, J. K. (2010). A cellulose synthase-like protein is required for osmotic stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Journal*, 63, 128-140.
- Zimmermann, P., Hirsch-Homann, M., Hennig, L., & Gruissem, W. (2004). Genevestigator. *Arabidopsis* microarray database and analysis toolbox. *Plant Physiology*, 136, 2621-2632.

Zlatev, Z. S., & Yordanov, I. T. (2004). Effects of soil drought on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in bean plants. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30(3-4), 3-18.



7. EKLER

EK 1 *Arabidopsis thaliana* (At), *Glycine max* (Gm), *Malus domestica* (Md), *Oryza sativa* (Os) ve *Phaseolus vulgaris* (Pv)'de tanımlanan DGK genlerinin peptid sekansları

>AT5G07920 *AtDGK1* (Peptid sekansı)

MDDDGELGMFFPSWTSKNPIDTVESRGLMFSCFVAALVGILTIAYTAFQW
RRNINLSWTKAIARSKKNPKARHKVPVAPHSWELDPIARAKNLNCCVCL
KSMSPSQAIVASESFFHRTICGAAAHFNCSSSAPKDCKCVSMVGFEHV
HQA V R W T E G A D Q T D D S S F C S Y C D E S C S S S F L G G S P I W C C L W C Q R L V H V
D C H S N M S N E T G D I C D L G P L R R L L C P L Y V K E L T R N P S G G F L S S I T H G A N E L
A S T A L A S I R I Q S K K Y K Q T N E T S A D T G N S G S N C D E S T E S T A D T G P T V N G A H
A V L E N S I S V M N G D S S N G D S D S N G K L E K K P S V K R T G S F G Q K E Y H A L R S K L K
Y E L A D L P S D A R P L L V F I N K K S G A Q R G D S L R Q R L H L H L N P V Q V F E L S S V Q G
P E V G L F L F R K V P H F R V L V C G G D G T A G W V L D A I E K Q N F I S P P A V A I L P A G T G
N D L S R V L N W G G G L G S V E R Q G G L S T V L Q N I E H A A V T V L D R W K V S I L N Q Q G
K Q L Q P P K Y M N N Y I G V G C D A K V A L E I H N L R E E N P E R F Y S Q F M N K V L Y A R E
G A R S I M D R T F E D F P W Q V R V E V D G V D I E V P E D A E G I L V A N I G S Y M G G V D L
W Q N E D E T Y E N F D P Q S M H D K I V E V V S I S G T W H L G K L Q V G L S R A R R L A Q G S
A V K I Q L C A P L P V Q I D G E P W N Q Q P C T L T I S H H G Q A F M L K R A A E E P L G H A A A
I I T D V L E N A E T N Q V I N A S Q K R T L L Q E M A L R L T

>AT5G63770 *AtDGK2* (Peptid sekansı)

MMEVGFSLIQWLISSGADSPFIFGWLV TGSVGLLAVIYTFLKWQKKTS LN
WV K A A A R E K K K V W K R L R V P L S H H Q W T D D Y G Y G Q Q P S T C C V C L Y S L V P
G Q N V S N K A S L S I P V H R C A V C G V A A H F Y C S S S A A K D C K C V A Q A G S D H V R H
H W S E R W V N M D D N A D M T A F C F Y C D E P C G I P F I E A S P M W H C L W C Q R L I H V
K C H M I M S K E S G D A C D L G S L R R V I L S P V H V K L N E A N G V D G V L T T I K N E L A S
I R G H V R R K R H R G K N G N G Q S L N G K L L E D S V S D P V K T V N G L V V K L R R D
R S I D C L K Q V S D M P N A K G L Q N G I G G H K R N K S A A L N F M K K F S L V D L P P D A R
P L L V F I N A K S G G Q L G P F L H R R L N M L L N P V Q V F E L G S C Q G P D A G L D L C S K V
K Y F R V L V C G G D G T V A W V L D A I E K R N F E S P P P V A I L P L G T G N D L S R V L Q W
G R G I S V V D G Q G S L R T F L Q D I D H A A V T M L D R W S V K I V E E S T E K F P A R E G H K
F M M N Y L G I G C D A K V A Y E F H M M R Q E K P E K F C S Q F V N K L R Y A K E G A R D I M

DRACADLPWQVWLEVDGKDIEIPKDSEGLIVLNIGSYMGGVDLWQNDYE
HDDNFSIQCMHDKTLEVVCVRGAWHLGKLQVGLSQARRLAQGVIRIHV
SSFPVQIDGEPFIQQPGCLEITHHGQVFMLRRASDEPRGHAAAIMNEVLL
DAECKGVINASQKKVLLQQMALHLS

>AT2G18730 *AtDGK3* (Peptid sekansi)

MDSPVSKTDASKEKFVASRPSTADSKTMRGCGLANLAWVGVDKVELRQ
RLMMPEYLRLAMRDCIKRKDSSAIPDHLLLPGGAVADMAPHAPMVVFIN
PNSGGRHGPVLKERLQQLMSEEQVFDLDEVKPHFVRYGLGCLEKVAAE
GDECAKECRARLRIMVAGGDGTGVWVLGCLGELNKDGKSQIPPGVIPL
GTGNDLSRSFGWGGSPFAWRSVAVKRTLHRASMGPVARLDSWKILVSMP
SGEVVDPPYSLKPAEENELDQGLDAGIDAPPLAKAYEGVFYNYLSIGMDA
QVAYGFHHLRNTKPYLAQGPISNKIIYSSFGCSQGWFCTPCVNDPGLRGLR
NIMKIHKKVNCSSQWEEIAPKKNVRSIVALNLHSYSGSGHPWGNLKPDPYL
EKRGFVEAHCDGLIEIFGFKQGWHASFVMAELISAKHIAQAAAVRFELR
GGDWRDAFLQMDGEPWKQPMSTEYSTFVEIKKVPYQSLMINNE

>AT5G57690 *AtDGK4* (Peptid sekansi)

MESPSIGDSLARMIPRHSSLDSEFGAMKVSLLVNLASIRVSKAELRQRVML
PQYLRIAIRDCILRKDDSDASSSVAPPLENNALTPEVPLMVFNPKSGGR
QGPLIKERLQNLISEEQVYDLDEVKPNFIRYGLGCLEAFASRGDECAKEIR
EKMRIVVAGGDGTGVWVLGCLGELNLQNRLPVPPVSIMPLGTGNDLSRS
FGWGGSPFAWKSIAKRTLHRASVAPISRLDSWNILITMPSGEIVDPPYSLK
ATQECYIDQNLEIEGEIPPSTNGYEGVFYNYFSIGMDAQVAYGFHHLRNEK
PYLANGPIANKIIYSGYGCSQGWFLTHCINDPGLRGLKNIMTLHIKKLDSS
EWEKVPVPKSVRAVVALNLHSYSGRNPWGNLKDYLEKRGFVEAQAD
DGLLEIFGLKQGWHASFVMVELISAKHIAQAAAIRLEIRGGDWKDAFMQ
MDGEPWKQPMTRDYSTFVDIKRVPHQSLVVKGD

>AT2G20900 *AtDGK5* (Peptid sekansi)

MEKYNLSDFLKEFYIPTYVLSAETEEEEESRPTPASPVLVFINSKSGGQ
LGCELILTYRSLNHNQVFDLDQETPDKVLRRYLNLERLKDDDFARQIRE
KLKIIVAGGDGTAGWLLGVVCDLKLSHPPPIATVPLGTGNNLPFAFGWGK
KNPGTDRTAVESFLEQVLKAKVMKIDNWHILMRMKTPKEGGSCDPVAPL

ELPHSLHAFHRVSPTDELNKEGCHTFRGGFWNYFSLGMDAQISYAFHSER
KLHPEKFKNQLVNQSTYVKLGCTQGWFCASLFHPASRNIAQLAKVKIATR
NGQWQDLHIPHSIRSIVCLNLPSFSGGLNPWGTPNPRKQRDRGLTPPFVDD
GLIEVVGFRNAWHGLVLLAPNGHGTRLAQANRIRFEFHKGATDHTFMRM
DGEPWKQPLPLDDETVMVEISHLGQVNMLATHDCRSRSVFDPSSTPRHQD
GAEDYDDNEDDSVAEGEEFRKFGAADTFKIPDEGEHSNKKGRASRRRNS
NVHGWSHVL

>AT4G28130 *AtDGK6* (Peptid sekansı)

MVQSETSMKEYKNLSDFLKKFFIPSYVLSPEDPEAQISCTTAPENPILVFIN
SKSGGQLGAELILTYRTLLNDKQVFDLEVETPDKVLQRIYLNLERLKDDSL
ASKIRDKLKIIVAGGDGTAGWLLGVVSDLNLSNPPPIATVPLGTGNNLPFA
FGWGKKNPGETDRSSVESFLGKVINAKEMKIDNWKILMRMKHPKEGSCDI
TLKLPHSLPRIFPSDQENMEGYHTYRGGFWNYFSLGMDAQVSYAFHSQR
KLHPERFKNQLVNQSTYKLKLSCTQGWFFASLFHPSSQNIAKLAKIQICDRN
GQWNDLHIPQSIRSIVCLNLPSFSGGLNPWGTPNPKKQRDRSLTAPFVDDG
LIEIVGFRNAWHGLILLSPNGHGTRLAQANRVRLEFKKGAAXHAYMRIDG
EPWKQPLPSNDETVMVEISHHGQVNMLATQNCRSKSMYESSIIRFSNDE
DDSSVVENEEF

>AT4G30340 *AtDGK7* (Peptid sekansı)

MEETPRSVGEASTTNFVAARPSAKTDDAVTMRGCGFANLALVGIDKEEL
RGRLAMPEYLRIAMRDCIKRKDSTEISDHLLLPGGAAADMAPHAPMVVFI
NPKSGGRHGPVLKERLQQLMTEEQVFDLTEVKPHEFVRYGLGCLDTLAA
KGDECARECREKIRIMVAGGDGTVGWVLGCLGELHKDGKSHIPPVGVIP
GTGNDLSRSFSWGGSPFAWRSAMKRTLHRATLGSIARLDSWKIVVSMPS
GEVVDPPYSLKPTIEETALDQALDADGDVPPKAJSYEGVFYNYFSIGMDA
QVAYGFHHLRNEKPYLAQGPVTNKIIYSSYSCTQGWFCCTPCVNNPALRGL
RNIMKIHKKANCSEWEEIHVPKSVRSIVVLNLYNYGSGRHPWGNLRPKY
LEKRGFVEAHCDDGLIEIFGLKQGWHASFVMAEIIISAKHIAQAAAIRFELR
GGDWKNAFLQMDGEPWKQPMKSDYSTFVEIKKVPFQSLMINGE

>Glyma.13G302200 *GmDGK1* (Peptid sekansı)

MDGGKKTIVARIRKALWHRQGTIPFRFLITPSQLALTVFSDSASPHHSDPV
FKDFRMGHVLVSESVVEATVPLGTGNNLPFAFGWGKKNPGTDEQAVKSV
LDQVMKAKEMKIDNWHILMRMRAPKHGPCDPIPPLELPHSLHAFHHISEA
DELNVEGCHTFRGGFWNYFSMGMDAQVSYAFHSERKMNPEKFKNQLVN
LSTYAKLGCTQGWFFAPLFLPPSSNIAHLAKVKVMKTHGWCWEDLHIPSRSI
VCLNLPSFSGGLNPWGTPNRMKRRDRDLTPPYVDDGLIEAHRIRFEFHKG
AAEYTFMRIDGEPWNQPLPVDNDTVLVEISLHGQVNMLATHDSKSKSVN
DPSSPHHNDVEEDDSDEEAKADEFRKFGTADTFKIPDEV DHAHLS

>Glyma.05G196100 *GmDGK2* (Peptid sekansı)

MSLT MIDLGISFLRLVTSPDASSASIFGWLITGSFGLMAVIYAVLKWQRRS
SLNWIKAAAREKKKVWKKFKVPLSEHLWVEDFTYREQPSTCCFCLTSLW
PSQNLGTTASPRTP LHRC SVCGVAAHFLCSQFAAKDCKCVAQAGFGHIRH
HWSERWVDVDENHEMSAFCFYCDEPCGVPFVKASPTWDCRWCQRLIHV
KCHNKLTRDSGDFCDLGPLRRIILSPLCVKQVDEDKQGGR LSSIITSSVNG
QIRKRRNRNKS LGGYNANGKSDGSSITD AT LLEYVLNGLHWNKFGDEKL
FDLVNNGRVLGNGLTATPNQIKKYTLVGLPQDASPLL VFINARSGGQLGP
SLHRR LNM L LNPVQIFELSASQGPEV GLEFFKSVRYFKVLVCGGDGTVAW
VLDAIERHNFESPPPVAIPLGTGNDLSRVLNWGRGFSTLDGQGGLTMLL
HDISNAAVTMLDRWEVKIVEESSEGKSNKVKTKSMMNYLGIGCDAKVA
YKFHITREINPEKFCSQFLNKLRYAKEGARDIMDRTCADLPWQVWLEVD
GRDIEIPKDSEGLIVLNIGSYMGGVDLWQNGYEHDDDFRLQSMHDKMLE
VVCVCGAWHLGKLQVGLSQARRLAQGKA IKIHCS SPFPVQIDGEPFIIQPG
YLEITHRGQAFMSRRTSEDEPKGRASAIMTEVLLDAECKGIINASQKKALL
QEMAINLS

>Glyma.12G200100 *GmDGK3* (Peptid sekansı)

MASHSDANSLRDFWIPGHVLVPDSVVEGSNIDIEGPKCPVLVFNNSRSGG
QLGGELLKTYRALLNENQVFDLGEEAPDKVLSRIYANLENLRLQGDHIAI
QIMEKLRLIVAGGDGTAGWLLGVVCDLKL SHPPPIATVPLGTGNNLPFAF
GWGKKNPGTDEQAVKSFLDQVMKAKEMKIDNWHILMRMRAPKQGPCD
PIPPLELPHSLHAFHRVSEADELNKEGFHTFRGGFWNYFSMGMDAQVSYA
FHSERKLHPEKFKNQLVNQSTYAKLGCTQGWFFAPLFHPPSSNIAHLAKV

KVMKTHGGWEDLQIPSSIRSIVCLNLPSFSGGLNPWGTPNKMKRDRDLT
PPYVDDGLIEVVGFRDAWHGLVLLAPNGHGTRLAQAHRIREFHKGAAE
YTFMRIDGEPWKQPLPVDDDTVLVEISHHGQVNMLATHDSKSKSENDPSS
PHHNDVEEDDSDEEAKADEYRKFGAADTFKIPDEVDLAHL

>Glyma.06G299200 *GmDGK4* (Peptid sekansi)

MASHQFLDNFIIPDHILVPGSSSDVENVGDVPHCPVLVFNNSKSGGQLGG
HLLKTYRDLLNPKQVFDLGEHAPDKVLRTVYANLEGLNVRGYQFADKIK
ERLKLIVAGGDGTAGWLLGVVCDLKLSHPPPIATVPLGTGNNLPFAFGWG
KKNPATDQRSIEAFLDQVMKATKMKIDNWHILMRMRAPKEGPCDPIPPLE
LPHSLHAFHRVSESEDEFNMEGCHTFRGGFWNYFSMGMDAQVSYAFHSER
KKNPEKFKNQLINQTTYAKLGCSQGWWFFASMSHPADRNIQALAKVKFMK
RHGEWQDLIPPSIRSIVCLNLPSFSGGFNPWGTPNRRKQSDRDLTPPFVD
DGLLEIVGFRNAWHGLVLLAPKGHGTRLAQAHRIQFEFRKGAADHTFMR
IDGEPWKQPLPVDDDTVMVEISHHGQVNMLSTHNCKSKSVYDPSSPHHE
DEEDDSDEEDSVAAEFKFGAADTFRIPDEVDSVSHLS

>Glyma.06G223900 *GmDGK5* (Peptid sekansi)

MDPPSSSTMVPIKSSSSIVESLRGCGISGGTRVDKEELRKKLTMPKYLRFA
MRDSIRFKDPAAGESRCIHSKDDHNAVAPSTPMVVFINPRSGGRHGPFLKE
RLQHLMSEEQVLDMLDVKPHEFLRYGLGCLEMLASLDYCAKETRERIRI
MVAGGDGSGVWVLGCLTELHAQGREPIPPVGIVPLGTGNDLSRSLGWGG
SFPFSWKTAIKRSLYKASIGPICHLD SWRLSLSMPEGTHIEPPHSLKHTTEFT
LDEGLEVERELSENVICYEGVFYNYFSIGMDAQVAYGFHHLRNEKPYLAQ
GPIANKIIYSGYSCTQGWWFTPCTSDPGLRGLKNILRMHVKKINCSEWEQV
LVPTSVRAIVALNLHSYGSGRNPWGNLTPEYLEKRGFIEAQFDDGLLEIFG
LKQGWHAFTVMSELISAKHIAQATAIRLEVRRGGEWKDAFMQMDGEPWK
QPMKDFSTFVEIKREPFQSIMINGE

>Glyma.04G143000 *GmDGK6* (Peptid sekansi)

MDSPSSSTTGDTSKVPIKSSSSIVESLRGCGISSGTHVDKEELRKNLTMPKY
LRFAMRDSIMFKDPTAGENLCIRSKDDHKAVAPSTPMIVFINPRSGGRHGP
FLKERLQHLMSEEQVLDMLDVKPHEFLQYGLGCLEMLTGLGDSCAKETR
KRIRIMVAGGDGSGVWVLGCLTKLHEQGREPIPPVGIIPLGTGNDLSRSFG

WGGSPFWSWKA AIKRTLYKASIGPICRLDSWRLSLSMPEGTIIEPHSLKHT
IEFTLDEGLEFEGELSENVICYEGVFYNYFSIGMDAQVAYGFHHLRNEKPY
LAQGPITNKIIYSGYSCTQGWFFTPCTSDPGFRGLKNILRMHVKKFNCPEW
EQVPVPTSVRAIVALNLHSYGSGRNPWGNLTPEYLEKRGFVEAQVDDGL
LEIFGLKQGWHASFVMSELISAKHIAQATAIRLEVRGGGEWKDAFMQMDG
EPWKQPMKDFSTFVEIKREPFQSV MINGE

>Glyma.13G093100 *GmDGK7* (Peptid sekansı)

MGSQSTTGNTNKIVVRSSFVESFRGCGISGIRIDKEELKKQLTMPQYLR YA
MRDSIRLQDPAAGESRYISRAEGEDSAAPPCPMVVFINPRSGGRHGPALKE
RLQQLMSEEQVFDLLDVKPHEFVRYGLSCLEMLAGLGDSCAKETRERIRV
MVAGGDGTVGWVLGCLTELRAQGREPVPPVGIPLGTGNDLSRSFRWGG
SFPFAWRS AIKRTLQRASNGTVNRLDSWRVSLMPEGTPVDLPHCLKHSE
EFSLDQGFIEGELPEKVASYEGVYYNYFSIGMDAQVAYGFHHLRNEKPY
LASGPISNKIIYSGYSCTQGWFFTPCVSDPGLRGLKNILRMHIKRANSSEWE
QIAIPTSVRAIVALNLHSYGSGRNPWGKPKPEYLEKRGFVEADVADGLLE
VFGLKQGWHASFVMVELISAKHLAQASAIRLEVRGGQWKNAYMQMDG
EPWKQPLSKDFSTYVEIKREPFQSLVISGK

>Glyma.06G254900 *GmDGK8* (Peptid sekansı)

MGDGN YDMREFCIPDYILVPGSEVKSVSHVPACPVI AFINTKSGGQLGGEL
LVSYSTLLNKNQVFDLGKNAPDKVLQKLYATLETLKHNGDNFAAEIQNR
LRIIVAGGDGTASWLLGVVSDLKLPQPPPIATVPLGTGNNLPFAFGWGKK
NPTTDLQSVVSFLNHVKGAREMKIDSWHIIMRIKAPKEGSCDPIAPLDLPH
AMHAFNRVSSTDKLNKGYHTYRGGFWNYFSMGMDAQVSYAFHSERKL
HPEKFKNQLYNQSTYLKLGCTQGWFFGSLFQSASRNIAQLAKVKIMKKG
HWEDLHIPRSIKSIVCLNLPSFSGGLNPWGTPNRRKSIYRDLTLPYVDDGLF
EVVGFRDAWHGLVLLAPKGHGTRLAQTSRIRFEFHKGAAADCTFMRIDGE
PWKQPLPKDDDTV VVEISHHGQVSM LATPLCRSKSVNDPSSPSVDREEDD
SSEEELSEDWEERRKFGAAETFKYPEGIDIAQVS

>Glyma.12G146700 *GmDGK9* (Peptid sekansı)

MVARDCCKGFRFLVRRCW EIAMGDGNYDRTLREFCIPDYILVPGSEVRSVS
HVPACPVIVFINTKSGGQLGGELLVSYSTLLNRNQVFELGKNAPDKVLQK

LYATLETLKHNGDNFAAEIQNRLRIIVAGGDGTASWLLGVVSDLKLPQPP
PIATVPLGTGNNLPFAFGWGKKNPTTDLQSVETFLNHVKA AKEMKIDSW
HIIMRMKAPKEGSCDPIAPLELPHAMHTFN RVSSDKLNLKGYHTYRGGF
WNYFSMGMDAQVSYAFHSERKLHPEKFKNQLYNQSA YLKL GCTQGWFF
GSLFQSSLRNIAQLAKVKIMKKGQWEDLHIPRSIKSIVCLNLPSFSGGLNP
WGTPNRKKSIIYRDLTPYVDDGLFEVVGFRDAWHGLVLLAPKGHGTRLA
QTSRIRFEFHKGAA DCTFMRIDGEPWKQPLPKDDDAVVVEISHHDQVSML
ATPLCRSKSIYDPSSPSDDREEDDSSEEEPS EDWEERRKFGAAETFKYPDGI
DIAQVS

>Glyma.17G067400 *GmDGK10* (Peptid sekansı)

MASPSTTGDTNKIAVRSSLVESFRGCGISGIRIDKEELKKQLTMPQYLRYA
MRDSIRLQDPVAGESRYINRAEGEDAAAPLCMVVF INPRSGGRHGPALK
ERLQQLMSEEQVFDLSDVKPHEFVRYGLSCLEMLAGLGDS CAKETRERIR
VMVAGGDGTVGWVLGCLTELRTQG REPVPPVGIPLGTGNDLSRSFHWG
GSFPFAWRS AIKRTLQRASNGTVNRLDSWRVSLSMPEGTPVVLPHCFKHT
EEFSLDQGF EIDGELPEKVAS YEGVYYNYFSIGMDAQVAYGFHHLRNEKP
YLASGPISNKIIYSGYSCTQGWFFTPCVSDPGLRGLKNILRMHIKRVNSSE
WEQIAIPTSVRAIVALNLHSYSGRNPWGKPKPDYLEKRGFVEADVADGL
LEVFG LKQGW HASFVMVELISAKHLVQASAIRLEVRGGQWKNA YMQMD
GEPWKQPLSKDFSTYVEIKREPFQSLVISGK

>Glyma.17G077100 *GmDGK11* (Peptid sekansı)

MDDDRDFELLFYSWNNKNPTDQLFVISCVVAALVGILTIA YTA FQWRRNI
NLSWMKAIARSKKNPKARHKIPAAPHTWDLESASRAKNL NCCVCFKSMS
PSQTLGPIVASEGFIHRCCTCGAVAHLSCSSSAHKDCKCVSMIGYEHVTHQ
WTVRWIDVADQPDETALCSYCEEPCGGTFLSGSPIWSCLWCQRLVHVDC
HSTMSNETGDICDLGQFRRLILSPLYVKELNWNLP GGFLSSITHGANEIASS
VRASIRNQSKKYKHGNEPSVESGNSESIGEVSTESTGDSHQIHNGHHEVGE
KSSSNKEVRHQDSELDNKLDRKPTLRRNSSINQKDESHSLGVKQKYDLID
LPPDARPLL VFINKKSGAQRGDSL RMRLNILLNPVQVIELSSTQGPEMGLY
LFRKVSHFRVLVCGGDGTVGWVLNAIDKQNFVSPPPVAILPAGTGNDLAR
VLSWGGGLGPVERQGGLTTFLQHIEHAAVTVLDRWKVTISNPQGKQQLQ
PTKFLNNYLGIGCDAKVALDIHNLREENPDKFYNQFMNKVLYAREGA KSI

MDRTFADLPWQIRVEVDGVEIEVPEDAEGVLVANIGSYMGGVDLWQNE
DENYDNFDQQSMHDKILEVVSISGTWHLGKLQVGLSRARRLAQGQSIKIQ
LFAMFPVQIDGEPWFQQPCTINITHQGQAFMLKRVAEEPLGPASAIIEVL
ENAETHNVINTSQKRALLHEMALRLS

>Glyma.05G022500 *GmDGK12* (Peptid sekansi)

MDDERDFELLFYSWNTKNPTDQLFIISFLVAALVGMLTIAYTAFQWRRNI
NLSWMKAIARSKKNPKARHKIPAAPHTWDLESASRAKNLNCCVCFKSVS
PSQTLGPIVASEGFIHRCCTCGAVAHLSCSSSAHKDCKCVSMIGYEHVTHQ
WTVCWTDVADQPDETALCSYCEELCGGTFLSGSPIWSCLWCQRLVHVDC
HSTMSNETGDICDLGQFRRLILSPLYVKELNWNLPGGFLSSITHGANEIASS
VRASIRNQSKKYKHGNELSVESGNSESIGEVSTESTGDSHQIQNGHHEVGE
KSSSNKGVQHQNEDVDNKLDKPSLRNNSINQKDESHSLGVKQKYDLID
LPLDARPLLVFINKKSGAQRGDSLRLMRLNILLNPVQVFELSSTQGPENGLY
LFRKVSHFRVLVCGGDGTVGWVLNAIDKQNFVSPPPVAILPAGTGNDLAR
VLSWGGGLGPVERQGGLTTFLHHIEHAAVTVLDRWKVTISNPQGKQQLL
PTKFMNNYLGIGCDKVALDIHNLREENPDKFYNQFMNKVLYAREGAKS
IMDRTFADLPWQIRVEVDGVEIEVPEDAEGVLVANIGSYMGGVDLWQNE
DENYDNFDQQSMHDKILEVVSISGTWHLGKLQVGLSRARRLAQGQSIKIQ
LFAMFPVQIDGEPWFQQPCTINITHHGQAFMLKRVAEEPLGPASAIIEVL
ENAETHNVINASQKRALLHEMALRLS

>MDP0000900186 *MdDGK1* (Peptid sekansi)

MVDLGLSLARFVTAADGYGPFLGLWLVTSFGLVAIIFAFKWKQRRTSLK
WVKAAARAKKKVWKKLVPLSHHTWIEDITNGEQPSTCCVCLTSLVFLQ
YLGTKASSRTPVHRCSVCGVASHFYCSQYAVKDCKCMAQAGFTYVRHH
WSERWVNMHDNPEISAICFYCDEPCGVPLDASPTWHCLWCQRLIHVRC
HNKMAKEYGDACDLGSLRRIISPLCVKEVGQYNGRGMLSSFTDEIITSSV
CGQYRRKRHHCKHGSQATNGTSATDASPDYLFNGFTGIKRSRSEKSFYI
KKNDRTLCLKGNHNGFFQNKGDTVSYGQIKRYKVVDLPHDARPLLVFINS
RSGGQRGASLRRRLNMLLNVPVQVFELSSSQGPEAGLELFNDVQYFRVLVC
GGDGTVAWVLDAIERHNFESPPPVAILPLGTGNDLSRVLQWKGKFSMVD
GQGGLTALLHDINHAAVTMLDRWKVNIKSEADPNKVQSKYMMNNYLGIG
CDAKVAYEFHVTREINPEKFSSQFVNKLRYAKEGARDIMDRTCADLPWQ

VWLEVDGKDIDIPKDSEGLIVLNIGSYMGGVNLWQNDIEHDDEFSLQLMH
DKMLEVVCVCGAWHLGKLQVGLSQARRLAQGKVIRIHASSPFPVQIDGE
PYIQQPGCLEITHHGQMFMLRRASEEPRGHAAAIMTDVLLDAECKGIINAS
QKKILLQQMALXLT

>MDP0000246501 *MdDGK2* (Peptid sekansi)

MDSPSSSTTRITARSSMIDSFRTSLSGMTIDKEELKKKLLMPQYLRFAMR
DSLRFKDPRAGESWLPGRRLVATAAVGNVEENSPESPMVVFINPRSGGR
HGPMMLKERLQMLMGEEQVFDLSDVKPHEFVQYGLGCLEILTDLGDVCAK
ECRQKIRVMVAGGDGTGVGVLGCLSELQKQGREPVPPVGVIPLTGNDL
SRSFGWGGSFPAWKSIAKKTLFRATAGPICRLDSWHIVLSMPAGSDMDP
PHSLKLTEDCTLDETGLEIQGDLPEKATCYEGVFYNYFSIGMDAQVAYGF
HHLRNEKPYLAQGPISNKLVSYSCTQGWFFTPCTSDPGLRGLKNILRM
HVKKVNCSEWEQIPVPSSVRAIVVLNLHNYGSGRNPWGNLKPEYLEKRG
FVEAHADDGLLEIFGLKQGWHASFVMVELISAKHIAQAAAIRLEVVRGGE
WRNAYMQMDGEPWKQPMHEEYSTLVEIKRVPFQSLMIHGEDH

>MDP0000276007 *MdDGK3* (Peptid sekansi)

MDYEMFLPYWNNKNPTDRLFIVSSFIAALVGIFTIAYSASFQWRRNINLSW
MKAIARSKKNPKARQKVPIAPHTWVLESISRGKNLNCCVCLKSMSPSCTL
GPMTASDSFSHHCNICGAVAHLSCTSSSAHKDCKCVSMMGFYVMHQWA
VRWTEAADLPDETSFCSYCEEPCSGSFLGGSPIWCCLWCQTVVHVDCHSS
MSNETGDICDLGPFRRLILSPLHVKELNQTSAGGFLSTITHGANEIASSVRA
TIRSQSKSKKHGNENSVDTGNSGSTGEMSTESTADTFQAVNGSHEVEENR
NGTVNVDLQHQQDDVDKKLDSKPSFKRSTSNKKKDESQVLRMKQRYKLI
DLSPDARPLLVFINKKSGAQRGNSLRQRLNILLNPVQVFELSSTQGPEVGL
YLFRKVQHFRVLVCGGDGTGVGVLDAIEEQNFVSPPPVAILPAGTGNDLA
RVLSWGGGLGSVERQGGLCTVLHHIEHAAVTILDRWKVAIVNQQKQLQ
SPKFLNNYLGIGCDKVALDIHNLREENPEKFYNQFMNKVLYAREGAKGI
IDRTFEDFPWQVRVEVDGVEVEVPEDAEGVLVANIGSYMGGVDLWQNE
DENYDNFDPQSMHDKMLEVVSISGTWHLGKLQVGLSRARRLAQGQSIKI
QLFAALPVQVDGEPWFQQPCTLAISHHGQAFMLRRAAEEPLGHAAAIITD
VLENAETNDVINAVQKRALLQEMALKLT

>MDP0000139683 *MdDGK4* (Peptid sekansi)

MANSNYGEEFLKDFRIPKYVLVPESKSENVADVPCPVLVFINSKSGGQL
GGDLLVSYRSLNLSQVYDLGQEAPDKVLCRIYANLEKLKRNGDKFATKI
QEKLRIIVAGGDGTAGWLLGVVSDLKLSHSPPIATVPLGTGNNLPFAFGW
GKKNPGTDPQSVKQFLDQVKRAKEMKIDSWHILMRMRKPKEGPCDPIAP
LDLPHSLHAFGRVSDSNELNMEGRHTRGGFWNYFSMGMDAQVSYAFH
TERKQHPEKFKNQLTNQTTYAKITHSQGWFSPPCSQSTSRDIAQFAKVKV
MKNHGQWEDLQIPPSIKSIVILNLPSFSGGFNPWGVPIRKRRNGGFTPAYV
DDGLIEVVGFRDAWHGLVLLAKGHGTRLAQAHRIRFEFQKGAIDHTYMR
IDGEPWKQPLPVDDTVVVEISHLRQVNILARHGCRSKSVYNPESPSSQGN
EEDWDDEETHESALYRKFGAADTFKLPEEIDISHLS

>MDP0000401076 *MdDGK5* (Peptid sekansi)

MDSPSSSTTRITARSSMIDSRGCTLSGMTIDKEELKKKLLMPQYLRFAMR
DSIRLKDPRAGESRLPGSRDLVATAAVENVEETPPESPMVVFINPRSGGRY
GPMLKERLQLLMGEEQVFDLSDVKPHEFVQYGLGCLELLADLGDLCAKE
CRQKIRVMVAGGDGTVGWVLGCLYELNRQGLEPVPPVGVIPPLGTGNDLS
RSFGWGGSFPAWKSIAKKTLFRATAGPICRLDR

>MDP0000237723 *MdDGK6* (Peptid sekansi)

MMMGDTKTEDKLRDFYIPNYILVSGADMMPKVRIVPSCPVIVFVNAKSGGQ
LGGEALLTYRSLNENQVIDLGEKAPDKVLHKLYVTLETLSGGDVLAEE
IEKRLRIIVAGGDGTAGWLLSVVSDLKLSPPPPIAPVPLGTGNNLHFAFGW
GKKNPGTDRQSVQYFLNQVKIAKEMQIDSWHIIMRMKSPTDDSCDPIAPL
ELPHSLHAFHRVSQNDTLNMEGYQTFRGGFWNYFSMGMDAQISYDFXA
QRKLHAEKFRNQLVNQGTYLKLGCTQGWFCASLSHPASRNVAQQIKLRI
MKRQGQWEDVLIPRSIRSIVCLNLPSFSGGLDPWGKPNRKKMQYRDLTPP
YVDDGLIEIVGFRDAWHGLVLLTSKGHGTRIAQANRVRFEFCKGAADHTF
MRIDGEPWKQPLPADDDTVVVEISHFGQVSMLATPLNRSQSIHEPLSPAGS
HDEDDDSIDEEYADAEEMEERRKFGASETFKFPDGADIA

>MDP0000286961 *MdDGK7* (Peptid sekansi)

METARTVKDVSPHEFVKAYAAHLKRSGRIELPDWTDIVKTATFKELAPYD
PDWYYIRSASMARKIYLRGGLGVGAFRRIYGGSKRNGSRPPHFCKSSGAI

ARHILQQLQKMNIVDVDAKGAKLKLAFAMLLLEPIPTVLHYLEMLLYKVL
LFISAFIGTVFLEACNSGGGDALAWLKRLSCYSLYCPISFVCSVDCLPRCXL
FLLCLASLPSLLRMDDDDGDFDMFLPYWNNKNPTDRLFIVSCFIAALVGILT
IAYSAFQWRRNINLSWMKAIARSKKNPKARHKVPITPHTWVLESVSRGKN
LNCCVCLKSMSPSQTGPMIASDSFSHHCNICGAVAHLSCTSSSAHKDCKC
VSMMGFEHVMHQWAVRWTEATDQPDETSFCSYCEDPCSGSFLGGSPIWC
CLWCQRVVHVDCHGSMNETGDICDLGPFRRLLVSPLHVKELNQTSSGGF
LSTITHGANEIASSVRATIRNQS KSKKHGNENSVDTGNSGSTGDMSTESTA
DTIQAVNGSHEVEENRNGTVNVNLQH QDDDDVDKKLDSKPNFKRSTSNK
KDESQVLGMKQRYELIDLSPDARPLL VFINKKSGAQRGNSLRKRLNILLNP
VQVFELSSTHGPEVGLYLFRKVQHFRVLVCGGDGTVGWVLNAIEKQNF
SPPPVAILPAGTGNDLARVLSWGGGLGSVERQGGLCTVLHHIEHAAVTIL
DRWKVAIVNQEGKQLQSPKFLNNYLGIGCDAKVALDIHNLREENPEKFY
NQFMNKVLYAREGAKGIIDRTFVDFPWQVRVEVDGVEVEVPECLTILQTF
QDAEGLVANIGSYMGGVDLWHNEDENYDNFYPQSMHDKILEVVSISGI
WHLGKLQVGLSRAQRLAQGQSIQIQLYAALPVQVDGEPWFQQPCTLAISH
HSQAFMLKRAAEPLGHAAAIITDVLENAETNSVINAVQKRALLQEMALK
LT

>MDP0000171640 MdDGK8 (Peptid sekansi)

MANSHFGEDFLKDFRIPKYVLVPESKSEHVADVPQCPVLVFINSKSGGQL
GGNLLVTYRSLLNENQVYDLGQEAPDKVLSQIYANLEMLKRNGDEVATK
IQESLRIIVAGGDGTAGWLLGVVSDLRLSHSPPIATVPLGTGNNLPFAFGW
GKKNPGTDPQSVKHFLDQVKRAXGNENRQIYLFYDGV MNWHILMRMR
IPKEGPCDPIAPLDLPHSLHAFGRVSDSNELNVPREPVS GISRQIESAIAKPX
FRSWAQTFGLVQEGCHTFRGGFWNYFSMGRSSSLGVLSRMDAQVSYAFH
TERKLHPEKFKNQLTNQATYAKITHSQGW FSSSPSQSTSRNIAEFAKVIM
KNHGQWEDLQIPPNIKSIVILNLPSFSGGFNPWGVPARRHNGRFTPAYVDD
GLVEVVGFRDAWHGLVLLAPKGHGTRLAQAHRIRFEFHKG AIDHTYMRI
DGEPWKQPLPVDDDETIMVEISHLHQVNILARHGCRSKSVHNPESHSEGN
EEDWDDEETRESAEYKKFGAADTFKLPEEIDVSHLS

>Os04g54200 OsDGK1 (Peptid sekansi)

MDGHTNGTNGSCSKPCEPLTDYCIPTYILNPDSEQVLVDQAPCCPVVFIN
SRSGGQLGSSLIKTYRELLNKAQVFDLSEEAPEKVLHRLYCNFEKLKSNG
DPIAFQIQSNLRLIVAGGDGTASWLLGVVSDLKLSHPPPIATVPLGTGNNL
PFSFGWGKKNPTTDQEAVKSFLGQVKKAREMNIDSWHIIMRMRAPQEGP
CEPIAPLELPHSLHAFHRVSGSDSLNMEGYHTYRGGFWNYFSMGMDAQV
SYEFHSERKRNPEKFKNQLTNQSTYAKLGLKQGWFAASLTHPSSRNIAQL
AKVRIMKRPGGQWEELKIPRSIRSIVCLNLPFSFGGLNPWGTPGTRKVQDR
DLTAPFVDDGLIEVVGFRDAWHGLVLLAPNGHGTRLAQAHRIRFEFHKG
AAEHTFMRIDGEPWKQPLPKDDDTVVVEISHLRQVTMLASDPCKSKSVN
DPSSPMCCSNHDDDERNSLEDEDEWEEGRKKFGAADTFKFPDEVDAHL
S

>Os08g08110 OsDGK2 (Peptid sekansi)

MEGEMDTVVGSSSKPCGPLTDYRIPDYILRPDAQRVLLDHAPPCPVLVFIN
SGSGGQLGSSLIKTYRELLGEAQVFDVSEEAPDKVLHRLNVNLEKLKMDG
DILAVQIWRTLRIIVAGGDGTASWLLGVVSDLKLSHPPPIATVPLGTGNNL
PFSFGWGKKNPCTDQESVKSFLGLVRHAKEMKIDSWHIMLRMRATKEGP
CDPIAPLELPHSLHAFHRVSSSDSLNMEGYHTFRGGFWNYFSMGMDAEIS
YGFHSERKKNPEKFKNQLTNQGTYAKVGLKQGWFCASLSHPSSRNIAQL
ASVKIMKRAGSHWQELNIHHSIRSIVCLNLPFSFGGLNPWGTPGTRKVEER
ELTAPFVDDRLIEVVGFRDAWHGLVLLAPNGHGTRLAQAQRIRFEFHKGA
AEHTFMRIDGEPWKQPLPKDDDTVVVEISHLGQVTMLANEPCKSKSVHD
DQSSHAQHSGHGNDDDDKDSMEDEDEWEDGRRKFGAADTFKIPDEVDA
HLS

>Os02g54650 OsDGK3 (Peptid sekansi)

MERAETPRAPSTAPSARVSIWESVRACGVWGKEVDKAEELRRQVVMPLY
ARRAVAAAVKAKDEAVGVAAAAEREGEEVEVEVEAAVTPVVVFNNSR
SGGRHGPELKVRLHELISEEQVFDLSVVKPSDFINYGLGCLEKLAEQGDNC
AETIRKKLRIMVAGGDGTGVGVLGCLTDLYRLKREPVPPTGIPLGTGND
LARSFGWGGSFPGWRSVAVKRYLSKAATAPTCSLDSWQAVVMMPDGEI
KELPYALKKTEPADCLELCQENGTELPEKASCYKGVFYNYLSIGMDAQV
AYGFHHLRDEKPYLAQGPVANKLIYAGYSCTQGWFCPTCTASPQLRGLK

NILRLYIKKVNCSEWEQVTMPSSVRSLVVLNLYNYGSGRHPWGDLKPDY
LEKKGFVEAHSDDGLLEIFGLKEGWHASFVMAELIKAKHIAQAAAIKFEM
RGGQWNRAYVQMDGEPWKQPLLQEQTIIINKVPYPPLMNGEQ

>Os12g38780 OsDGK4 (Peptid sekansı)

MYKMMYPSPWNDISVYISEYWSVIIATVIFASVTGVTIYYTVNQLNKNISLS
LMKAIRARARKYKKLKDKVPASSHIWRKELGSRSKGLKCCVCLKSVSSP
QYMGGVIHQCDICGATAHPSCSGNAHKDCKCVSMVGFEHVIHQWAVQW
IDTSDRSEEDSFCCYCDESCNGAFLAGSPIWYCMWCQRLVHVDCHNNLSI
ETGDICDLGPLKRLILSPLCVKELHWTGAAGLISSITHGANELASNVRRERIR
SRGKKYRKGTISVDSDSSTIDPPSDIEGDSQETNNAAKRREDHANGELPE
VHESSESENDKQLLTENKTSIPNGQHEDSHVHNNQKYEIVDVPSDSRPLL
FINKRSGAQCGDSLRLQILLNPIQVFELGKQQGPEVGLTLFRKVPFHRV
LVCGGDGTVAWVLDAIEKQKFEAPPPVAILPAGTGNDLARVLSWGGGLG
IVEKQGGLFSVLKDVEHAAVTVLDRWKITIKDNQGLMSQPKYMNNYFG
VGCDAKVALDIHNLREENPERFYSQFMNKVLYAKEGAKNMMDNTFDYF
PWDVKLEIDGSKINIPQDSEGILVANIQSYMGGVDLWKNEDDVSDNFHPQ
SMHDKMLEVVSFTGMLHLGRLQVGLSRAQRLAQGHHIKIEIKTKMPIQV
DGEPWSQDPCTIVVSHHCQAFMLKRVSEEPIGHAASIMADVLENAENNGII
TASQKRRTLLHEIASRLL

>Os03g31180 OsDGK5 (Peptid sekansı)

MMSSFQGYNFLEPSTSMIVWWRDQFRKLMFNWHSKTLNLSELWPIVVC
FTIGIVGLLTVLYLFSWLRRKISLSWMKMIARSKRKNFERTHKVPTAEHV
WSVESLLRAKGLKCCVCLESISPAQPLGQMTTSENMVHRCDVCGAAAHM
ICSSNSQKDCKCVSMFGSKHVHQQWTVLWTDIADQSEEAQYCSYCEEPC
SGSFLGGPPIYCCMWCQRLVHVDCHSSMATETGDICDLGPFKRLILSPLFV
KTRSKPGGILSSITHGANEFASVTRGHLNRNRSKKQKEHSRVPSDCNVGDS
NDDSSCDTAANANQRAKDLKSSGDNVQRSANEHDSSESDCKEVIPEPRR
LHHDDAEGAKLKYILDDLPAARPLLVFINKRSGAQRGDSLKHRLHFLN
PVQVFELSSSQGPEIGLLLFRKVPFHRILVCGGDGTVGWVLDAIDKQNYES
PPPVAILPAGTGNDLSRVLSWGGGLGAVEKQGGLCTVLHDIEHAAVTILD
RWKVAIEDKRGKNVLMVKYMNNYLGIGCDAKVALDIHNLREENPEKFY
SQFLNKVLYAREGAKSMIDRTFVDLPWQVRLEVDGTEIEIPEDSEGLVA

NIPSYMGGVDLWKSEDDNPDNFDPPQSIHDKMVEVVSISGTWHLGTLQVG
LSRRARIAQGQSIKIQIFAPFPVQVDGEPWTQNPCTLKISHHGQAFMLRRTI
EESLGHAATAIVTDVLENAESSHLITASQKRALLQEMALRLS

>Os01g57420 OsDGK7 (Peptid sekansi)

MKNLNLVKNMLKEFYIPTYIFVPESPVEKVSQIPSCPVIVFINTKSGGQLGH
DLIVTYRKLLNNSQVFDLLEEAPDKVLHKLHGNERLMRDGDTVAAEIH
RRLRLIVAGGDGTAGWLLGVVSDLKLVHPPPVATVPLGTGNNLPYSFGW
GKRNPQTDEKSVLSFLQSVRQAKEMKIDSWHIVMKMESPKSSTCDPIAPL
DLPHSLHAFHRVPNNPQDKEYSCTFRGGFWNYFSMGMDAQVSYAFHSER
KLHPEKFKNQLSNQKTYLKLACTQGWFCASLCHPMSRNIAHLSKVKIMK
KSGKWETLEIPQSIRSIVCLNLPFSGGLNPWGTPSERKQRKRDLVMPPLV
DDGLEIVGFKDAWHGLVLLSPKGHGTRLAQAHRVQFKFHKGATDHAY
MRLDGEPWNQPLPKDDGKVLVEISHAGQVKMLATKNCIAKGIHEALSMS
TVHPESSSSSDDTDDDDDDFAEERKNFGAALSFRYMDDVTKE

>Os12g12260 OsDGK8 (Peptid sekansi)

MDLVGSLLVNMTLHVDTSGLQFFGWLITAGSFGLAALIYALLRLQRAASL
YWIKAAREKKAAWKSLRCPSSGHTWTEDYFRGGQPSTCCVCLSSLTTA
QGVGSRGADAVVVHRCVCGVAAHSGCSRGAEKDCKCVSQHGASTLLH
HWSERWVELDDNPEMSSFCYYCDEPCGVPFLGVSPIWRLWCQRQIHVD
CHAKLLKETGNTCDLGLLRLIVPPLSVKEVAQGPATGMLNSIKEGLVTS
SVRGRIKRRGNKKRMNNHPGGKTSPVPTNSSILDSVLEGFARLQNLNGKY
ALANHKSSGDSVKQTHGYDSPNGGKKKYEIIDLPQDSRPLLVFINGKSGG
RNGPSLRRRLNMLLNPIQIFELSASQGPEVGLQFFHNVKHFRILVCGGDGT
VAWVLDAIEKQNYESPVPVSILPLGTGNDLSRVMRWGGGLSSVEGQGGIC
ALLNDVDHAAVTVLDRWNVAIKEKNGAEDQCTKQVKFMTNYIGVGCDA
KVAYDFHTTREETKPKFCFSQFVNKLIYAREGAKDIMDRSCSDLPWHVSLE
VDGKNVEIPEDAEGVIVLNIPSYMGGVDLWQNDNEHDDDFGLQSMHDK
MLEVVCISGTWHLGKLQVGLSRAHRLAQGKVIRLHLHSSFPVQVDGEPWI
QPPGCLEISHRGQMFMLRRTSEEPTGHAAAIMSEVLMNAECNGVIDAAQK
RLLLHEIALRLSS

>Phvul.003G185800 *PvDGK1* (Peptid sekansı)

MDDDRDFELLFYSWNAKNPTDRLFFVSCFVAALVGILTIAYTAFQWRRNI
NLSWMKAIARSKKNPKARHKIPVAPHSWELESVSRAKNLNCCVCFKSMS
PSQTLGPIVASEGFIHRCCICGAVAHLSCTSSSAHKDCKCVSMIGYEHVTHQ
WAVRWTDVADQPDETALCSYCEEPCGGTFLSGSPIWSCLWCQRLVHVDC
HSTMSNETGDICDLGQFRRLILSPLYVKELNWNMPGGFLSSITHGANEIAS
SVRASIRNQSKKYKHENEPSVESGNTENIGEMSTESTGNSHQIQNGHHEV
DEKSSSNKEVRHQDSEVDNKMMDRKPSSLGRSSSINQRDESHTLGVKQKYD
LVDLPPDARPLLVFINKKSGAQRGDSLRLNILLNPVQVFELSSTQGPEN
GLYLFKKVSHFRVLVCGGDGTVGWVLDAIDKQNFVSPPPVAILPAGTGN
DLARVLSWGGGMGPVERQGGTSTFLQQIEHAAVTVLDRWKVTISNPQKG
QQQLQPTKFMNNYIGIGCDAKVALDIHNLREENPDKFYNQFMNKVLYARE
GAKSIMDRTYADLPWQIRVEVDGVEIEVPEDAEGVLVANIGSYMGGVDL
WQNEDDNYDNFDQQSMHDKVLEVVSISGTWHLGKLQVGLSRARRLAQG
QSIKIQLFAMFPVQIDGEPWFQQPCTITISHHGQAFMLKRVAEEPLGPASAI
IAEVLENAETHNVINASQKRALLHEMALRLS

>Phvul.002G276700 *PvDGK2* (Peptid sekansı)

MSLTMIDLGISFLRLITSPDASSLSILGWLITGSFGLMAVIYAVLKWQRRSS
LNWIKAAAREKKKVWKKFKVPLSDHSWVEDFTYREQPSTCCFCLTSLWP
SQNLGTTASPHTPLHRCSVCGVAAHFLCSQFAAKDCKRVAQAGFGDIRH
HWSERWVNVYENHEMSAFCFYCDEACGVPFVKASPTWHCQWCQRLIHV
KCHNKLTRDSGDFCDLGPLRRFILSPLCVKEVDEDQKGGRLSSIISVVNG
QIRKRRNRNKQGGGYNANGKLRGSSVTDATLFEYVLNGLSWNKSSSEKF
SDQLSGSRVLGNELTSTHTHIKKYTLVDLPQDATPLLIFINARSGGQLGPSL
HRRNLNMLLNPVQIFELSASQGPEVGLEFFKSVRYFRVLVCGGDGTVAWV
LDAIERRSYESPVPVAILPLGTGNDLSRVLNWGRGFSTLDGEGGLTMLLHD
MGNAAVTMLDRWKVKISEESSEGKSNKVTKSMMNYLGIGCDAKVAYK
FHVNRQISPEKFSSQFLNKLRYAKEGARDIMDRTCADLPWQVWLEVDGR
DIEIPKDSEGLIVLNIGSYMGGVDLWQNGYEHDDDFSLQSMHDKMLEVV
CVCGAHWHLGKLQVGLSQARRLAQGVITIHCSPPFPVQIDGEPFILQPGFL
EITHRGQAFMMRKTSEDEPKGRAAAIMTEVLLDAECKGIINASQKKVLLQ
DVAINLS

>Phvul.003G149800 *PvDGK3* (Peptid sekansi)

MDSPAPTGETKKIAVRSSIVESFRGCGLSGIRIDKDELKKQLTMPQYLYA
MRDSIRLQDPAAGESRYINRADGEDSAAPPCPMVVFINSRSGGRHGPALK
ERLQQLMSEEQVFDLSDVKPHEFVRYGLSCLEMLAGLGDSKAKETRERIR
VMVAGGDGTVGWVLGCLTELRTLVPREPVPVGIPLGTGNDLSRSFSWGG
SFPPAWRSAIKRTLQRASTGTVKRLDSWRVSLAMPEGTSVKLPKCLKPAE
EFTLDQGFIEGELPEKVASYEGVYYNYFSIGMDAQVAYGFHHLRDEKPY
LASGPISNKIYSSYSCTQGWFFTPCVSDPGLRGLKNILRMHIKRVNSSEWE
QIAIPTSVRAIVALNLHSYGSGRNPWGKPKPEYLDKRGFVEADVADGLLE
VFGLKQGWHASFVMVELISAKHLAQASAIRLEVRGGRWKNAYMQMDGE
PWKQPLSKDFSTYVEIKREPFQSLVISGKK

>Phvul.005G108700 *PvDGK5a* (Peptid sekansi)

MASQSSHGNFMKNFLIPAYVLVPESVVEGSNTDIDGPDGPVLVFNNSKSG
GQLGGDLLKTYQELLNENQVFDLGKEAPDKVLSRIYVNLENLKLKGDRIA
IKVMEKLRLIVAGGDGTAGWLLGVVCDLELSHPPPIATVPLGTGNNLPFA
FGWGKKNPPTDEQSVKSFMHQVMKAKEMKIDNWHILMRMRAPKVGDC
DPIPPLELPHSLHAFHRVSEADELSMEGCHTFRGGFWNYFSMGMDAQISY
AFHSERKLHPEKFKNQLVNQSTYAKLGCTQGWFFAPLFHPPSRNIAHIAK
VKVMKRHGHWQDLPIPSSIRSIVCLNLPSFSGGLNPWGTPNKHKRRDRDL
TPPYVDDGLIEVVGFRDAWHGLVLLSPNGHGTRLAQAHRIREFHKGAAE
ETFMRIDGEPWKQPLPVELMNPSLKV

>Phvul.011G110600 *PvDGK5b* (Peptid sekansi)

MASSPFINNFLIPDHILVPGSRVQNEGHVPECVPLVFNNSKSGGQLGGDLL
QTYRNLLNPKQVFDLGEQAPDTVLRVYANLESLNLQGHQFAETMMKK
LKLIVAGGDGTAGWLLGVVCDLKLSPPIATVPLGTGNNLPFAFGWGK
KNPTTDQVSVEAFLDQVMKANEIKIDNWHILMRMRAPKEGSCDPIAPLEL
PHSLHAFHRVSEADELNIEGCHTFRGGFWNYFSMGMDAQVSYAFHSERK
KNPEKFKNQLINQTTYAKLGCSQGWWFTPLLHPADRNIGQLAKVKFMKR
HGEWQDLQIPPSIRSIVCLNLPSFSGGLNPWGTPNRRKQSDRDLTTPPFVDD
GLLEIVGFRNAWHGLVLYAPKGHGTRLAQANRIRFEFCKGAADHTFMRI
DGEPWKQPLPVDDDTVVVEISHLGQVNMLATRNCQSQSMYNPSSPRQED
EEDDSDEESSVAEEFRKFGAADTFKIPDDIDPSRLS

>Phvul.011G155800 PvDGK6 (Peptid sekansı)

MAMRDGDYSRKSSWEIPMGDGSYDRTLREFCIPDYILVSGSERRNVSHVP
ACPVIVFINSKSGGQLGGELLVSYSTLLNKNQVFDLGKNAPDKVLQKLYA
TLETLKHNGDNFAAEIHNRLRIIVAGGDGTASWLLGVVSDLKLPHPPPIAT
VPLGTGNNLPFAFGWGKKNPPTDLQSVTSFLKDVRLANQMKIDSWHIVM
RMKAPKEGSCDPIAPLELPHAMHAFHRVSSTDKLNMDGYHTYRGGFWN
YFSMGMDAQVSYAFHSERKLHPEKFKNQLYNQSAYLKLGCSQGWFFSSL
FQSSRNIAQLAKVKIMKKGHWEDLHIPRSIRSIVCLNLPSFSGGLDPWGKP
NRKKSİYRDLTLPYVDDGLFEVVGFRDAWHGLVLLAPNGHGTSLAQTSLI
RFEFHKGAAADCTFMRVDGEPWKQPLPKDDDTVVVEISHHGQVSMLATPL
CRSKSMYDPSSPSVDREEDDSSDDELQEDWEERRKFGAADTFKYPDGIDI
AQVS

EK 2 *Arabidopsis thaliana* (At) ve *Phaseolus vulgaris* (Pv)'de tanımlanan DGK genlerinin CDS sekansları

>AT5G07920_AtDGK1 (CDS sekansı)

ATGGACGACGATGGAGAATTGGGGATGTTCTTTCCTAGCTGGACCAGC
AAGAATCCTATTGACACGGTTGAATCTCGTGGTTTAATGTTCTCTTGTT
TTGTTGCTGCCCTTGTTGGTATATTGACCATCGCCTACACTGCTTTTCA
ATGGCGAAGAAATATTAATTTAAGTTGGACGAAAGCCATAGCCAGGTC
AAAGAAAAATCCAAAGGCACGACATAAGGTTCTGTTGCCCCACATA
GCTGGGAACCTCGACCCTATAGCTCGTGCGAAAACTTGAACCTGTTGTG
TTTGCTTGAAGTCCATGTGCGCATCTCAGGCAATTGTAGCTTCAGAAA
GTTTTTTCCACAGGTGCACAATCTGTGGAGCAGCAGCACATTTTAACT
GTTCTTCAAGTGCGCCAAAAGATTGCAAATGTGTCTCCATGGTTGGAT
TTGAGCATGTGGTGCACCAGTGGGCAGTGCGGTGGACAGAAGGGGCT
GATCAGACTGATGACTCCTCGTTTTGTAGCTACTGTGACGAGTCATGTA
GTAGCTCCTTTCTTGGGGGTTCTCCTATATGGTGCTGCTTGTGGTGTCA
ACGTCTTGTGCACGTTGACTGTCACAGTAACATGTCAAATGAAACTGG
TGACATTTGTGATTTAGGCCCGCTTAGAAGGTTAATATTGTGCCCACTC
TACGTTAAGGAATTGACGCGGAATCCCTCTGGAGGATTTCTGAGCTCA
ATCACTCATGGTGCTAACGAACCTGCATCTACCGCCCTTGCCAGTATCA

GGATTCAAAGCAAAAAATACAAGCAAATAATGAACTTCAGCTGAC
ACTGGTAATAGTGGTAGCAATTGCGATGAATCCACAGAAAGCACAGCT
GATACAGGTCCAACCTGTTAATGGCGCTCATGCCGTACTGGAAAATTCT
ATCAGCGTTATGAATGGGGATTCTTCTAACGGGGACAGTGACAGCAAT
GGCAAGCTGGAAAAGAAGCCGAGTGTTAAAAGAACCGGGTCTTTTGG
TCAGAAGGAATATCATGCACTAAGGTGCAAACTTAAGTATGAACTAGC
TGATTTGCCTTCAGATGCAAGACCGTTGTTGGTTTTTTATTAACAAAAG
AGTGGTGCTCAACGAGGTGATTCCCTTCGTCAACGTCTTCATCTTCATC
TAAATCCTGTGCAGGTATTTGAATTGAGTTCAGTGCAGGGACCAGAAG
TGGGACTTTTTCTCTTCAGGAAGGTTCCCTCACTTTAGAGTTCTTGTTTGT
GGTGGAGATGGCACCGCTGGTTGGGTATTAGATGCCATAGAGAAACA
GAATTTTATTTCTCCTCCTGCAGTTGCTATACTGCCTGCTGGAACCGGG
AATGATCTATCCCGAGTATTAAATTGGGGTGGTGGTTTGGGTTCTGTTG
AGAGACAAGGAGGCTTGTGACAGTATTACAGAACATAGAGCATGCT
GCAGTCACTGTCCTTGATCGTTGGAAAGTATCGATTCTGAATCAACAA
GGAAAGCAACTCCAGCCGCCAAAATATATGAACAATTATATAGGGGTT
GGGTGTGATGCTAAGGTTGCCCTTGAGATTCACAATCTACGGGAGGAG
AATCCAGAGAGATTTTATAGCCAGTTTATGAACAAAGTCCTCTATGCC
AGAGAAGGTGCAAGGAGTATAATGGACAGAACATTCGAAGATTTCCT
TTGGCAAGTTCGAGTTGAGGTGGATGGTGTGACATCGAGGTTCTCTGA
GGATGCGGAAGGAATACTGGTTGCAAACATTGGAAGTTACATGGGAG
GGGTGGATTTATGGCAGAATGAAGATGAAACATATGAAAACCTTTGATC
CGCAATCGATGCACGACAAGATAGTTGAAGTTGTGAGTATATCTGGGA
CATGGCACCTTGGGAACTTCAGGTCGGGTTGTCTCGTGCGAGAAGGC
TAGCTCAAGGGTCAGCAGTCAAGATACAACCTTTGTGCGCCTTTACCAG
TGCAAATTGATGGAGAGCCTTGGAATCAGCAACCATGTACCTTAACCA
TATCGCACCATGGCCAGGCTTTCATGCTAAAGAGAGCCGCGGAAGAGC
CACTGGGTCACGCAGCAGCTATAATCACAGATGTTCTAGAGAATGCAG
AAACCAATCAAGTGATAAACGCTTCTCAGAAACGAACGCTGCTTCAAG
AAATGGCTCTACGGCTAACTTAA

>AT5G63770_*AtDGK2* (CDS sekansı)

ATGATGGAAGTGGGGTTCTCTCTTATTCAGTGGTTGATCAGTTCTGGTG
CTGACAGTCCGTTTATATTTGGATGGCTTGTAAGTGGATCTGTTGGCCT

TCTGGCTGTTATCTACACATTTCTTAAATGGCAGAAAAAACTTCTTTA
AATTGGGTAAAGCTGCTGCTAGAGAGAAGAAGAAGGTATGGAAAAG
ACTGAGAGTTCCACTTTCTCATCATCAATGGACTGATGATTATGGTTAT
GGGCAACAGCCATCCACTTGCTGTGTTTGTCTCTACTCCCTTGTTCCAG
GTCAAAATGTTTCTAATAAAGCATCTCTGAGTATTCCCGTCCACCGATG
TGCTGTATGCGGTGTAGCAGCTCACTTTTATTGCTCAAGCTCTGCAGCA
AAAGACTGCAAATGTGTTGCACAGGCTGGGTCTGACCATGTCCGACAT
CACTGGTCTGAGCGATGGGTAAACATGGATGATAATGCTGACATGACT
GCCTTTTGCTTCTACTGTGATGAACCTTGTTGGTATTCCTTTCATTGAAG
CTTCTCCTATGTGGCACTGTCTTTGGTGCCAGCGCCTCATACATGTAA
GTGTCACATGATTATGTCCAAGGAATCTGGTGATGCTTGTGATCTTGGC
TCTCTCAGAAGAGTAATCCTCTCTCCAGTACATGTAAAACCTCAATGAA
GCAAATGGTGTGATGGAGTACTGACTACTATTAAAAACGAGTTAGCA
TCTATACGAGGGCATGTGAGAAGAAAGCGCCACAGGGGAAAAAATGG
GAATGGCCAATCTTTAAATGGTAAGCTACTGGAGGATTCAGTCAGCGA
TCCAGTAAAAACCGTAGTTAATGGGCTTGTAGTGAAGAACTACGCAG
AGATAGGAGCATAGATTGCTTAAAGCAAGTCTCGGACATGCCTAATGC
CAAAGGGTTGCAAATGGTATAGGCGGGCACAAACGAAATAAAAGTG
CCGCTTTAAATTTTATGAAGAAGTTTTCTTGGTTGATTTGCCCCCAGA
TGCAAGACCGCTTTTAGTCTTTATTAACGCCAAAAGCGGAGGTCAACT
CGGTCCTTTTCTTCACAGGAGACTTAATATGCTATTGAATCCAGTACAG
GTCTTTGAACTTGGCTCTTGTCAAGGGCCAGACGCTGGTTTAGACCTAT
GTAGCAAAGTGAAGTATTTTAGAGTTTTGGTGTGTGGAGGAGATGGAA
CAGTTGCATGGGTGCTTGATGCTATTGAGAAGCGCAATTTCGAATCCC
CTCCACCTGTCGCTATTCTTCCTTTAGGCACAGGAAATGATTTATCTAG
AGTTTTGCAGTGGGGAAGAGGTATTTAGTAGTTGATGGACAAGGAAG
TCTAAGAACGTTTTTGCAAGACATTGATCATGCTGCAGTTACAATGTTG
GATCGATGGAGTGTTAAAATTGTAGAAGAGAGTACAGAAAAATTTCC
AGCAAGAGAAGGCCATAAGTTTATGATGAATTACTTAGGTATTGGCTG
CGATGCAAAAGTTGCATATGAATTTTCATATGATGCGGCAAGAGAAACC
TGAGAAGTTTTGTAGTCAGTTTGTAATAAATTACGATATGCTAAAGA
AGGTGCGAGGGATATAATGGATCGAGCATGTGCCGATTTACCATGGCA
AGTTTGGCTTGAAGTTGATGGAAAAGACATTGAAATTCCTAAGGATTC
AGAGGGTCTAATAGTACTTAACATTGGAAGCTATATGGGTGGAGTAGA

TCTTTGGCAAAATGATTATGAACACGATGATAATTTTAGCATTTCAGTGT
ATGCACGACAAGACTCTAGAGGTGGTATGTGTCCGTGGAGCGTGGCAC
CTTGGCAAACCTACAGGTCGGTCTTTCTCAGGCTAGGAGGTTAGCACAG
GGAAAGGTAATAAGAATACATGTTTCTAGTCCTTTTCCTGTTCAAATA
GATGGAGAACCGTTTATCCAGCAACCTGGCTGCTTGGAGATAACTCAC
CACGGGCAGGTGTTTATGCTAAGAAGAGCATCGGATGAACCACGAGG
GCATGCCGCAGCCATAATGAATGAAGTGTTACTCGATGCAGAATGCAA
AGGAGTCATAAATGCATCTCAAAAGAAAGTACTACTACAGCAAATGG
CTCTCCATCTCTCGTAG

>AT2G18730_AtDGK3 (CDS sekansı)

ATGGAATCTCCGGTATCAAAAACCGATGCATCGAAAGAGAAATTCGTG
GCTTCACGACCATCAACGGCTGATTCAAAGACGATGAGAGGTTGTGGA
CTCGCGAATCTGGCATGGGTTGGTGTAGATAAAGTAGAGCTTCGTCAG
AGGTTGATGATGCCTGAGTATCTTCGTCTCGCTATGCGTGAATGTATCA
AACGCAAAGATTCCTCGGCTATTCCTGATCATTTACTTCTTCCTGGTGG
TGCTGTTGCTGATATGGCTCCTCATGCTCCTATGGTTGTTTTATTAAAC
CCCAATTCTGGTGGTCGTCATGGTCCTGTTCTTAAAGAGAGGCTTCAAC
AGTTGATGAGCGAGGAACAGGTGTTTGACCTCACGGAAGTGAAGCCG
CATGAGTTTGTTCGATACGGGTTGGGGTGTGGGAGAAAGTGGCAGCG
GAAGGAGATGAATGTGCAAAAGAATGCAGAGCAAGGTTGAGGATTAT
GGTTGCAGGAGGTGATGGTACTGTTGGTTGGGTTCTTGGATGTCTTGG
AGAGCTTAATAAAGATGGAAAGTCGCAAATTCCTCCTGTTGGAGTTAT
TCCTCTCGGTACAGGGAATGATCTTTCAAGGAGTTTTGGTTGGGGTGG
TTCGTTTCCTTTTGCCTGGAGATCTGCTGTTAAAAGAACAACCTCCATCGC
GCAAGTATGGGTCCAGTTGCTAGACTTGACAGCTGGAAGATTTTAGTG
TCAATGCCATCTGGAGAAGTCGTAGATCCTCCTTATTCTTTAAAACCCG
CTGAAGAAAACGAACTTGATCAGGGTTTGGACGCGGGAATTGATGCG
CCTCCACTTGCAAAGGCTTATGAAGGTGTTTTCTACAATTACTTAAGCA
TAGGTATGGATGCTCAAGTTGCATATGGCTTCCACCATCTTCGCAACA
CTAAACCATATCTTGCTCAAGGCCCTATTTCAAATAAGATTATATATTC
AAGTTTTGGTTGCAGTCAGGGTTGGTTTTGCACGCCTTGTGTCAACGAT
CCAGGTTTAAGGGGACTTAGGAACATAATGAAAATTCACATCAAAAA
GGTTAACTGCTCTCAGTGGGAAGAGATCGCAGTCCCGAAAAATGTGAG

ATCAATTGTCGCATTGAATCTTCACAGCTATGGAAGTGGAAGCCATCC
TTGGGGCAATCTAAAACCGGACTATCTAGAGAAGAGAGGCTTTGTGGA
AGCACATTGTGATGATGGTTTGATAGAGATTTTCGGTTTTAAGCAAGG
ATGGCACGCGTCATTTGTCATGGCTGAGCTCATCTCTGCCAAGCACAT
AGCTCAGGCTGCTGCGGTAAGATTTGAGCTAAGAGGAGGTGACTGGA
GAGACGCATTCTTGCAAATGGATGGTGAGCCATGGAAGCAACCAATG
AGCACTGAGTACTCAACATTTGTGGAGATCAAGAAGGTTCTTATCAA
TCTCTGATGATAAATAATGAATGA

>AT5G57690_*AtDGK4* (CDS sekansı)

ATGGAATCACCGTCGATTGGTGATTCAATTGACGGCGAGGATGATTCCA
CGACATTCATCTCTCGACTCATTCGGAGCAATGAAAGTCTCTTTATTGG
TCAATCTCGCGAGCATAAGAGTCTCTAAAGCAGAGCTTCGTCAAAGAG
TTATGCTTCCTCAATATCTCCGCATTGCAATACGCGATTGCATTCTTCG
TAAAGACGATTCTTCGACGCTTCCTCCTCTGTAGCACCACCGTTAGAA
AACAACGCGTTGACGCCTGAAGTTCCTTTGATGGTCTTCGTTAATCCCA
AAAGCGGTGGTCGTCAAGGTCCACTCATTAAAGAACGTCTCCAGAATC
TTATTAGCGAAGAACAGGTGTATGATTTAACGGAAGTGAAGCCTAATG
AGTTTATTCGATATGGATTGGGATGCTTAGAGGCATTTGCGTCTCGAG
GAGACGAATGTGCTAAAGAGATTTCGTGAAAAGATGAGAATTGTGGTT
GCAGGTGGAGATGGAACCGTTGGTTGGGTTCTAGGATGTCTCGGTGAA
CTTAATTTACAAAACCGGTTACCCGTTCTCCGGTTTCGATAATGCCAC
TCGGAACGGGAAACGATCTTTCAAGAAGTTTCGGATGGGGAGGTTTCAT
TCCCATTTGCGTGGAATCTGCGATAAAACGAACACTTCATAGAGCAA
GTGTTGCTCCTATAAGCCGTTTAGATAGTTGGAATATTCTGATTACAAT
GCCTTCTGGTGAAATTGTGGATCCTCCTTATTCTTTAAAGGCTACACAA
GAATGTTACATTGACCAGAATTTGGAGATAGAGGGAGAGATCCCTCCA
TCGACGAATGGCTATGAAGGAGTCTTCTACAATTACTTTAGTATAGGT
ATGGATGCTCAAGTGGCTTACGGTTTTACCATTTGCGCAACGAAAAG
CCTTACCTTGCAAATGGCCCTATCGCCAATAAGATTATATACTCGGGA
TATGGTTGCTCTCAGGGTTGGTTCCTCACTCACTGCATAAATGACCCAG
GTTTAAGGGGTCTCAAGAACATTATGACATTGCATATAAAAAAGTTGG
ACTCATCCGAGTGGGAGAAAGTACCAGTTCCCAAAAGTGTAAGAGCA
GTTGTTGCATTGAATCTACATAGCTATGGAAGTGGAAGAAACCCTTGG

GGAAATCTCAAACAAGATTATCTTGAAAAAAGAGGTTTTGTGGAGGCA
CAAGCCGATGATGGACTACTTGAGATCTTTGGGTAAAGCAAGGATGG
CATGCTTCCTTTGTTATGGTTGAGCTTATATCTGCCAAACACATTGCAC
AGGCGGCAGCGATAAGGCTGGAGATAAGAGGAGGAGACTGGAAAGA
TGCGTTTATGCAAATGGATGGAGAGCCATGGAAACAGCCTATGACCAG
AGACTACTCTACCTTTGTTGACATTAAGAGAGTCCCTCACCAGTCTTTG
GTCGTCAAAGGAGATTGA

>AT2G20900_AtDGK5 (CDS sekansı)

ATGGAGAAATACAACAGTTTATCAGATTTTCTCAAGGAGTTCTACATC
CCTACGTACGTCCTCTCGGCGGAAACAGAAGAGGAGGAGGAGGAGGA
GAGTCGTCCTACACCTGCGAGCCCCGTCCTTGTCTTCATCAACTCCAAA
AGCGGTGGTCAGTTGGGTGGCGAACTCATTCTCACCTACCGATCTCTTC
TCAATCACAATCAGGTCTTTGATCTCGACCAGGAGACTCCAGATAAAG
TGCTCCGCAGAATCTATCTTAACCTGGAGAGGCTCAAAGATGATGATT
TCGCTCGTCAGATTCGGGAGAAATTAATAATCATTGTTGCAGGAGGTG
ATGGCACTGCTGGGTGGCTCCTTGGAGTTGTATGTGACCTTAAATTGTC
ACATCCTCCTCCAATTGCCACTGTACCTTTGGGTACAGGAAACAACCTT
CCCTTTGCTTTTGGATGGGGAAAGAAGAATCCAGGAACAGATAGGACT
GCAGTGGAGTCGTTTTTGAACAAGTGTTGAAGGCAAAAAGTGATGAA
GATTGACAATTGGCACATACTTATGAGGATGAAAACCTCCCAAAGAAG
GTGGTTCTTGTGATCCTGTTGCTCCTCTTGAGTTACCACATTCTCTACAT
GCATTTACCGTGTTTCTCCAACCTGATGAACTAAACAAGGAAGGCTGC
CACACTTTTCGAGGAGGGTTCTGGAATTACTTTAGCCTCGGAATGGAT
GCTCAGATTTCTTATGCGTTTCATTCTGAGAGGAAGCTTCACCCTGAAA
AGTTTAAGAATCAGCTGGTTAATCAGAGTACGTATGTAAAGCTTGGTT
GCACGCAAGGATGGTTTTGTGCCTCTCTTTTCCACCCTGCTTCACGGAA
TATAGCTCAGCTTGCCAAGGTAAAGATTGCAACTAGAAATGGCCAGTG
GCAGGACCTCCACATACCACATAGCATCAGGTCCATTGTATGTCTGAA
TCTGCCCAGCTTTTCGGGAGGATTAAATCCTTGGGGCACACCAAATCC
CAGGAAACAACGTGATAGAGGCTTGACTCCACCATTTGTAGATGATGG
CCTCATTGAGGTTGTTGGGTTTAGAAATGCTTGGCATGGTCTTGTTCTG
CTCGCTCCCAATGGACATGGGACACGACTTGCCCAGGCAAATCGTATT
CGCTTCGAATTTACAAAGGTGCAACCGACCATACATTCATGAGGATG

GATGGGGAGCCCTGGAAACAGCCACTGCCACTGGATGATGAAACTGT
GATGGTAGAGATTTACACCTTGGCCAAGTGAACATGCTTGCAACTCA
TGA CTGCCGGTCCAGAAGTGTGTTTGACCCTTCAACACCCCGCCATCA
GGATGGTGCAGAAGATTATGATGATAATGAAGACGACTCAGTGGCTG
AAGGCGAAGAATTTAGAAAGTTTGGTGCTGCGGATACCTTCAAGATTC
CTGATGAGGGAGAACACAGTAATAAAAAAGGAAGGGCTTCAAGGAGG
AGAAATTCAAATGTTTCATGGTTGGTCACATGTGCTCTGA

>AT4G28130_AtDGK6 (CDS sekansı)

ATGGTTCAGTCAGAGACGAGTATGGAAAAATACAAGAATTTATCAGAT
TTCCTTAAGAAATTCTTCATACCTTCGTACGTTCTCTCGCCTGAAGACG
AGCCTGAGGCGCAAATCAGTTGTACAACTGCACCTGAGAACCCAATCC
TCGTATTCATCAACTCCAAAAGCGGAGGTCAACTAGGTGCAGAACTCA
TCCTTACCTACCGTACTCTGCTCAACGACAAGCAGGTTTTTGATCTGGA
GGTAGAGACCCAGATAAAGTGCTGCAGAGAATTTATCTTAACCTAGA
GAGGTTAAAAGACGATAGTTTGGCTAGCAAGATTCGGGACAAGTTGA
AAATCATTGTTGCAGGGGGAGATGGAACAGCTGGTTGGCTCCTTGGAG
TTGTTTCTGATCTTAATTTATCCAATCCACCTCCAATTGCTACGGTTCCT
TTAGGTACCGGTAACAACCTTCCATTTGCATTTGGATGGGGTAAGAAA
AATCCTGGAACAGATAGGTCTTCGGTGGAGTCTTTTTTGGGTAAAGTG
ATCAATGCAAAAGAGATGAAGATAGACAATTGGAAGATACTTATGAG
GATGAAGCATCCCAAGGAAGGCTCTTGTGATATTACTCTTAAGCTACC
ACATTCTCTTCCTCGTATTTTCCCATCAGATCAAGAAAATATGGAAGGT
TACCATACATATCGTGGGGGATTCTGGAATTACTTCAGCTTGGGAATG
GATGCTCAAGTATCTTATGCATTTTCATTCCCAGAGAAAACCTGCACCCG
GAAAGGTTTAAAAATCAGCTAGTTAATCAGAGCACATATCTAAAGCTT
AGTTGCACACAAGGATGGTTTTTTGCCTCTCTTTTTTACCCTTCTTCAC
AAAACATAGCTAAGCTTGCAAAAATTTCAGATTTGTGATAGAAATGGCC
AATGGAATGATCTTCATATTCCCCAAAGCATAAGGTCCATAGTATGTT
TGAATCTTCCTAGTTTTTCTGGAGGACTAAATCCTTGGGGAACACCAA
ATCCTAAGAAACAACGTGATAGAAGCCTAACTGCACCATTCTGTTGACG
ATGGACTCATCGAAATCGTTGGGTTTCGAAATGCTTGGCATGGTCTTAT
TCTGCTCTCTCAAATGGTCATGGGACAAGACTTGCACAGGCAAACCG
AGTTTCGATTAGAGTTTAAGAAAGGTGCGGCGAAGCATGCTTATATGAG

AATAGATGGAGAGCCATGGAAACAACCACTGCCATCAAATGATGAAA
CTGTGATGGTAGAGATCTCACATCATGGACAAGTCAACATGCTTGCAA
CCCAAAATTGCAGGTCCAAAAGCATGTATGAGTCTTCTTCTATAATCC
GGTTTAGTAATGATGAAGATGACTCATCAGTGGTTGAAAATGAGGAGT
TTTAG

>AT4G30340_*AtDGK7* (CDS sekansı)

ATGGAGGAGACGCCGAGATCAGTCGGCGAAGCATCGACGACTAATTT
CGTGGCGGCGAGACCGTCGGCGAAGACCGATGATGCAGTGACGATGA
GAGGTTGTGGTTTTGCTAATCTTGCCTTGGTTGGTATAGACAAAGAAG
AGCTTCGAGGGGAGACTAGCGATGCCTGAGTATCTTCGTATAGCTATGA
GAGATTGTATCAAGAGGAAAGATTCAACAGAGATTTCTGATCATTGT
TACTTCCTGGAGGCGCCGCGCTGATATGGCTCCTCACGCGCCAATGG
TTGTGTTTATTAACCCGAAAAGTGGTGGTCGTCATGGTCCTGTTCTTAA
AGAGAGGCTTCAACAATTGATGACTGAAGAACAGGTATTTGATCTCAC
AGAAGTGAAGCCTCATGAATTTGTACGGTACGGTTTGGGGTGCTTGGA
CACATTGGCTGCTAAAGGAGATGAATGTGCAAGAGAATGCAGAGAAA
AGATACGGATCATGGTAGCAGGCGGTGATGGTACCGTTGGTTGGGTTC
TTGGATGTCTCGGTGAGCTTCATAAAGATGGTAAATCACATATTCCTCC
TGTTGGAGTTATACCTCTTGGTACAGGAAATGACCTCTCCAGGAGTTTT
AGTTGGGGTGGTTCATTCCCTTTTGCTTGGAGATCTGCTATGAAAAGA
ACATTACATCGAGCAACTTTAGGTTCCATTGCTCGATTAGATAGCTGG
AAGATTGTAGTGTGATGCCATCTGGAGAAGTCGTTGATCCTCCTTATT
CTTTGAAGCCTACAATAGAGGAAACTGCACTTGATCAGGCTTTGGATG
CTGATGGAGATGTACCTCCTAAAGCAAAGTCTTATGAAGGAGTGTTCT
ACAACCTACTTCAGCATAGGTATGGATGCTCAAGTTGCATATGGGTTC
ACCATCTTCGCAATGAGAAACCGTATCTAGCTCAAGGCCCTGTTACAA
ATAAGATTATCTATTCGAGTTACAGTTGTACTCAAGGTTGGTTTTGCAC
GCCTTGTGTCAACAATCCAGCTTTAAGGGGACTAAGAAACATTATGAA
AATCCATATTA AAAAGGCAAATTGTTCCGAGTGGGAAGAGATCCATGT
TCCTAAGAGCGTAAGATCTATTGTGGTGTGAATCTTTATACTATGGA
AGTGGAAGACATCCATGGGGTAATCTCAGACCAAAATATTTAGAGAA
GAGAGGATTTGTGGAGGCGCATTGTGATGACGGACTGATAGAGATCTT
CGGTTTAAAGCAAGGTTGGCATGCGTCATTTGTAATGGCTGAAATTAT

CTCAGCTAAGCACATTGCTCAGGCGGCTGCGATTAGATTTGAACTAAG
AGGAGGTGATTGGAAAAATGCATTCTTGCAAATGGATGGTGAACCATG
GAAACAACCGATGAAGAGTGATTATTCGACTTTTGTAGAGATAAAAAA
GGTTCCTTTTCAATCGTTAATGATCAATGGCGAATGA

>Phvul.003G185800_PvDGK1 (CDS sekansi)

ATGGATGATGATAGAGATTTTGAGTTGCTGTTTTACAGTTGGAATGCA
AAGAATCCAACCTGATCGGCTTTTCTTTGTATCTTGTTTTGTTGCTGCTCT
TGTTGGAATATTGACCATAGCCTACACGGCCTTTCAATGGAGGAGAAA
CATCAATCTAAGTTGGATGAAAGCCATAGCTAGATCTAAGAAAAACCC
AAAGGCGAGGCACAAAATTCCTGTGGCCCCCTCATTCATGGGAGTTAGA
ATCCGTGTCTCGTGCAAAGAATTTAAACTGCTGTGTATGTTTTAAGTCC
ATGTCACCCTCTCAAACCTCTTGGGCCTATTGTAGCTTCTGAAGGCTTCA
TCCACCGTTGCTGTATTTGTGGTGCTGTTGCTCATTAAAGCTGTTCCCTCT
AGTGCCCAAGGACTGCAAGTGTGTTTCAATGATTGGATATGAGCAT
GTCACACACCAATGGGCTGTTTCGTTGGACTGATGTAGCTGATCAACCT
GACGAAACTGCTCTCTGTAGTTACTGTGAAGAGCCATGTGGTGGGACG
TTCCTCAGTGGTTCCCCTATATGGTCGTGCTTGTGGTGCCAACGTTTAG
TACATGTTGATTGTCACAGTACAATGTCTAATGAAACGGGTGATATTT
GTGATTTGGGCCAATTTAGAAGATTGATACTATCACCCTGTATGTGA
AGGAGTTAAACTGGAACATGCCAGGTGGATTTTTTGAGCTCAATTACTC
ATGGGGCAAATGAGATAGCATCTTCTGTTTCGGGCAAGTATTAGGAACC
AGAGCAAAAAGTACAAGCATGAAAATGAACCATCAGTCGAATCAGGG
AATACTGAGAACATTGGTGAAATGTCCACAGAAAGTACAGGTAATTCT
CATCAAATACAGAATGGTCATCATGAAGTGGATGAAAAAAGTAGTTC
AAATAAGGAGGTACGACATCAAGATAGTGAAGTAGACAATAAGATGG
ATAGAAAACCCAGTCTTGGACGCAGTTCATCAATCAATCAGAGGGATG
AATCCCACACATTAGGAGTGAAGCAGAAATATGATTTGGTTGATTTGC
CTCCAGATGCAAGACCATTTGTTAGTTTTTATAAACAAGAAGAGTGGTG
CCCAGCGAGGAGACTCACTCAGGACACGTCTGAACATTCTTTTAAATC
CTGTTTCAGGTGTTTGAATTGAGCTCAACACAGGGGCCAGAAATGGGAC
TGTATTTGTTTAAAAAGGTGTCTCACTTCAGAGTTCTTGTATGTGGGGG
AGATGGTACTGTTGGTTGGGTTCTGGATGCGATAGACAAGCAAAATTT
TGTTTCCCCTCCCCCAGTTGCTATTCTTCCTGCTGGTACAGGAAATGAT

CTTGCTAGAGTTCTATCTTGGGGAGGTGGCATGGGTCCAGTGGAGAGG
CAAGGGGGCCTTAGTACATTTTTGCAACAAATAGAACATGCTGCCGTT
ACTGTTCTTGACAGGTGGAAGGTAACAATTAGTAATCCACAAGGCAAG
CAACAGTTGCAACCCACAAAGTTTATGAACAACCTATATTGGAATTGGT
TGTGATGCAAAGGTTGCTTTGGACATTCATAATCTGCGTGAAGAGAAT
CCAGATAAGTTTTATAACCAGTTTATGAATAAAGTTCTATATGCAAGA
GAGGGTGCAAAAAGCATTATGGATAGGACATATGCAGATTTACCTTGG
CAGATTCGTGTTGAGGTGGATGGAGTTGAAATTGAGGTCCCTGAGGAT
GCAGAAGGCGTGCTTGTTGCAAATATTGGGAGTTACATGGGAGGTGTA
GACTTGTGGCAAAATGAGGATGACAATTATGATAATTTTGATCAACAA
TCCATGCATGATAAGGTACTTGAAGTTGTAAGCATATCGGGAACATGG
CACCTGGGAAAGCTTCAGGTAGGGCTCTCCCGCGCTCGAAGACTTGCA
CAAGGACAGTCAATTAAGATACAATTGTTTGCCATGTTTCCTGTTCAA
ATTGATGGAGAGCCTTGGTTTCAGCAACCCTGCACAATTACCATAAGC
CATCATGGCCAGGCTTTCATGTTGAAGAGGGTGGCTGAGGAACCTCTT
GGCCCTGCATCTGCAATAATTGCTGAAGTACTGGAGAATGCTGAAACA
CATAATGTAATTAATGCTTCACAAAAGAGAGCTCTTCTTCATGAAATG
GCACTGAGGCTGTCCTAG

>Phvul.002G276700_PvDGK2 (CDS sekansi)

ATGAGTTTAACCATGATAGATTTAGGGATTTCAATTTCTGAGGTTGATCA
CGAGCCCTGATGCTTCCAGTTTATCTATTCTTGGATGGCTCATCACTGG
ATCATTGACTGATGGCAGTCATATACGCTGTTCTTAAGTGGCAGCG
TAGGTCCTCGTTGAATTGGATTAAAGCTGCAGCAAGAGAAAAGAAGA
AAGTTTGGA AAAAGTTTAAAGTACCATTGTCTGATCATTCTTGGGTTG
AAGATTTCACTTACAGAGAACAGCCATCCACTTGTTGTTTCTGCTTGAC
TTCCCTTTGGCCTTCTCAAAATCTAGGTACAACAGCCTCACCACACACA
CCTCTCCATCGTTGCTCTGTTTGTGGTGTGCTGCTCATTTCCTTTGTTT
ACAGTTTGCAGCAAAGGATTGCAAACGTGTGGCTCAGGCTGGTTTTGG
CGATATTCGACACCACTGGTCAGAAAGATGGGTAAATGTGTATGAAAA
TCACGAGATGTCTGCCTTCTGTTTTTACTGTGACGAGGCATGCGGTGTT
CCCTTTGTTAAAGCTTCTCCACATGGCATTGCCAGTGGTGTGAGCGCC
TCATTCATGTTAAATGTCATAACAAATTGACTAGAGATTCTGGTGACTT
TTGTGATTTGGGTCCCTTGAGGCGATTTATCCTTTCTCCTCTTTGTGTCA

AAGAAGTTGATGAAGATCAAAAAGGAGGACGGCTAAGTTCTATTATA
AGCTCTTCTGTTAATGGCCAGATTAGAAAGCGACGCAATCGCAATAAA
CAGGGAGGTGGTTACAATGCTAATGGTAAGTTACGTGGTTCCTCAGTT
ACTGATGCAACGCTTTTCGAATATGTGTTGAATGGTCTCAGCTGGAAT
AAGTCCAGTAGTGAAAAGTTTTCTGATCAATTAAGTGGGAGTAGAGTA
TTAGGAAACGAGTTAACTTCTACCCATACCCACATCAAGAAATACACA
CTGGTTGATTTGCCACAAGATGCAACCCCACTTTTGATCTTCATAAATG
CCAGGAGTGGTGGTCAGCTTGGGCCTTCTCTTCATAGGAGATTGAATA
TGCTATTAAATCCTGTTTCAGATATTTGAATTGAGTGCTTCTCAGGGCCC
TGAAGTGGGCCTGGAATTCTTCAAAAGTGTAAGATATTTTAGAGTACT
GGTATGTGGTGGGGATGGCACGGTTGCATGGGTCCTTGATGCTATAGA
AAGACGCAGTTATGAGTCACCTCCACCTGTGGCAATTCTTCCCCTTGGC
ACTGGAAATGATTTGTCCAGGGTACTGAATTGGGGAAGAGGCTTCTCT
ACCCTTGATGGAGAAGGTGGATTGACCATGCTTTTGCATGACATGGGC
AATGCAGCAGTCACTATGTTAGATCGCTGGAAAGTTAAAATCTCAGAA
GAAAGCTCTGAAGGAAAATCAAATAAAGTGAAAACATAATCCATGAT
GAACTATCTAGGCATTGGATGTGATGCAAAGGTTGCATATAAATTTCA
TGTTAATCGACAAATAAGTCCTGAAAAGTTTTCTAGTCAGTTTTTGAAT
AAATTGCGATATGCGAAAGAGGGAGCAAGAGATATTATGGACAGAAC
TTGTGCTGACTTGCCATGGCAAGTATGGCTTGAAGTTGACGGGAGAGA
CATTGAGATTCCCAAGGATTCTGAGGGCTTAATTGTGCTCAATATCGG
GAGCTATATGGGTGGAGTAGATCTTTGGCAAAATGGTTATGAGCATGA
TGATGATTTTAGTCTGCAATCCATGCATGATAAAATGCTGGAGGTGGT
ATGTGTATGTGGAGCATGGCACCTGGGAAAACCTTCAGGTTGGACTTTC
ACAAGCAAGAAGGCTTGCACAAGGTAAAGTCATCACGATACACTGTTC
CAGTCCTTTCCCGGTTCAAATTGATGGGGAGCCATTTATCCTACAACCA
GGATTCTTAGAAATTACTCATCGCGGACAGGCATTCATGATGAGGAAG
ACTTCAGAAGATGAGCCTAAGGGAAGAGCAGCTGCAATTATGACAGA
GGTATTACTAGACGCCGAGTGCAAGGGAATTATTAATGCATCTCAGAA
GAAAGTTCTTCTCCAGGATGTGGCCATTAATCTTTCATAA

>Phvul.003G149800_PvDGK3 (CDS sekansı)

ATGGATTGCGCCGGCGCCGACCGGTGAGACTAAAAAGATAGCGGTGCG
GTCGTGATTGTGGAGTCATTTGCGCGGTTGCGGTCTGTCCGGGATCCG

AATTGACAAGGACGAGTTGAAGAAGCAGCTCACCATGCCGCAGTACC
TGCGTTACGCAATGCGCGATTCCATTCGCCTTCAGGACCCCGCCGCCG
GTGAGTCCCGCTACATCAACCGCGCCGACGGCGAGGATTCCGCCGCTC
CGCCATGTCCCATGGTCGTCTTCATCAACTCCCGCAGCGGTGGCCGCC
ACGGCCCCGCTCTCAAGGAGAGACTCCAGCAACTCATGAGTGAAGAG
CAGGTTTTTTGACTTATCAGATGTGAAGCCTCATGAATTTGTACGGTATG
GATTGAGTTGTCTGGAGATGTTGGCGGGCCTTGGTGATTCTTGTGCCA
AAGAACTCGTGAAAGAATCAGGGTTATGGTTGCTGGAGGTGATGGT
ACAGTTGGTTGGGTATTAGGATGTCTTACAGAACTTCGCACACTGGTT
CGAGAGCCAGTTCCTCCGGTAGGGATCATAACCGTTGGGTACAGGCAAT
GACCTTTCTAGGAGTTTTAGCTGGGGTGGGTCAATTCGGTTTGCATGGA
GGTCTGCTATCAAGAGAACTCTTCAAAGGGCTAGTACTGGGACTGTCA
AGCGTTTGGATAGTTGGCGAGTTTCACTTGCAATGCCAGAAGGCACAT
CTGTGAAGCTACCACATTGTTTGAAGCCTGCAGAGGAGTTCACTCTTG
ATCAGGGCTTTGAAATTGAGGGAGAACTACCAGAGAAAGTTGCAAGT
TATGAAGGCGTGTACTATAATTACTTCAGCATAGGAATGGATGCCCAA
GTGGCTTATGGCTTCCATCATCTACGCGATGAAAAACCTTACCTTGCA
AGCGGTCCAATTTCAAATAAGATTATATACTCAAGTTACAGCTGCACA
CAGGGCTGGTTTTTTCACACCTTGCCTAAGTGATCCAGGTCTAAGGGGA
CTTAAAAACATTTTGCCTGATGCATATCAAAGGGTCAATAGCTCAGAG
TGGGAGCAGATTGCAATTCCTACAAGTGTAAGGGCAATAGTTGCTCT
GAATCTTCACAGCTATGGAAGTGGGAGAAATCCATGGGGTAAACCAA
AACCAGAATATTTGGATAAGAGAGGCTTTGTTGAAGCTGATGTTGCCG
ATGGGCTCTTGGAAGTATTTGGTTTAAAACAAGGATGGCATGCATCGT
TTGTCATGGTTGAACTGATATCTGCAAAGCACCTAGCTCAGGCATCAG
CTATTCGATTGGAAGTGAGAGGTGGACGGTGGAAAAATGCCTATATGC
AAATGGACGGAGAACCCTGGAAGCAGCCATTGAGCAAGGACTTCTCA
ACATACGTGGAAATAAAGAGGGAGCCTTTCAGTCACTAGTTATCAGT
GGAAAAAAGTAA

>Phvul.005G108700_PvDGK5a (CDS sekansi)

ATGGCTTCTCAATCCTCTCACGGCAATTCATGAAAACTTCTTGATCC
CGGCCTACGTGCTGGTGCCGGAATCCGTGGTTGAAGGTAGCAACACTG
ATATCGACGGACCTGATTGTCCGGTGCTCGTTTTTCGTTAACTCCAAGAG

TGGTGGTCAGCTGGGAGGAGACCTCTTGAAAACGTACCAGGAGCTTCT
TAACGAAAATCAGGTTTTTCGACTTGGGGAAAGAGGCTCCTGATAAGGT
TCTGAGCAGGATCTATGTGAATTTGGAAAATCTCAAGCTTAAGGGCGA
TCGAATTGCCATAAAGGTCATGGAGAAATTGAGATTAATTGTTGCAGG
GGGTGATGGAACAGCTGGCTGGCTACTTGGAGTTGTTTGTGATCTCGA
ATTGTCTCATCCGCCACCCATTGCCACGGTCCATTGGGCACAGGGAA
TAATCTGCCGTTTGCATTTGGTTGGGGAAAGAAGAACCCAGGAACAGA
TGAACAGTCGGTCAAGTCATTTATGCATCAAGTAATGAAAGCTAAGGA
AATGAAAATAGACAACCTGGCACATTCTTATGAGAATGAGGGCTCCAA
AAGTAGGTGACTGTGATCCAATTCCACCTCTTGAGCTACCACACTCTTT
GCATGCCTTCCATCGTGTATCTGAGGCAGATGAGCTTAGTATGGAAGG
CTGCCATACTTTTCGTGGGGGGTTTTTGAATTACTTCAGCATGGGAATG
GATGCTCAAATCTCGTATGCATTTTCATTCTGAACGGAAATTGCATCCTG
AAAAGTTCAAAAATCAGTTGGTCAATCAGAGCACTTATGCTAAGCTTG
GATGCACACAAGGATGGTTTTTTTGCTCCTCTGTTCCACCCTCCTTCCAG
AAACATAGCACATATTGCAAAAGTAAAAGTCATGAAGAGGCATGGTC
ATTGGCAAGACCTGCCGATTCCGTCCAGCATCAGGTCCATTGTATGCC
TCAACTTGCTAGCTTTTCTGGTGGATTGAATCCATGGGGTACACCGA
ACAAGCACAAGAGGCGTGATAGAGATTTGACACCTCCATATGTAGATG
ATGGCCTAATAGAGGTGGTAGGCTTTAGGGATGCTTGGCATGGTCTTG
TTTTGCTTTCTCCAAATGGACATGGAACCCGCCTTGCCCAGGCACACA
GAATCCGCTTCGAGTTTCACAAAGGTGCAGCAGAAGAGACATTCATGA
GGATTGATGGGGAACCTTGGAAGCAACCCCTCCCAGTTGAACTCATGA
ATCCAAGTCTAAAAGTGTGA

>Phvul.011G110600_PvDGK5b (CDS sekansi)

ATGGCTTCTTCTCCCTTCATCAACAACCTTCCTAATTCCCGATCACATTC
TCGTACCGGGCTCCCGCGTTCAAATGAGGGCCACGTGCCTGAGTGTC
CCGTCCTCGTTTTTTGTTAACTCCAAGAGTGGAGGACAACCTCGGAGGAG
ATCTCTTACAAACCTATCGCAATTTACTTAATCCGAAACAGGTTTTTTGA
TTTGGGGGAGCAAGCGCCTGATACGGTTCTCAGAACAGTGTATGCTAA
TTTGGAAGCCTTAATCTACAAGGTCATCAGTTTGCTGAAACGATGAT
GAAGAAATTGAAGTTAATTGTTGCAGGGGGTGATGGGACAGCAGGCT
GGCTTCTTGGAGTTGTTTGTGATCTCAAATTATCTCATTCTCCACCTATT

GCCACGGTGCCATTGGGAACAGGGAATAATCTGCCTTTTGCTTTTGGTT
GGGGAAAGAAGAACCCGACAACAGATCAAGTATCAGTTGAGGCATTT
TTAGATCAAGTCATGAAAGCAAATGAAATAAAAAATAGACAACCTGGCA
CATTCTCATGAGAATGAGAGCTCCTAAAGAAGGTTCTGTGATCCAAT
TGCGCCACTTGAGCTACCACATTCTTTGCATGCCTTCCATCGTGTATCT
GAAGCAGATGAGCTTAATATTGAAGGTTGCCACACATTTTCGTGGGGGA
TTTTGGAATTACTTCAGTATGGGAATGGATGCTCAAGTTTCTTATGCAT
TTCATTCAGAACGAAAGAAGAATCCTGAAAAATTCAAAAACCAGTTG
ATTAATCAGACTACTTATGCTAAGCTTGGATGCTCACAAGGATGGTTTT
TACTCCTCTTTTGCACCCTGCCGACAGGAACATAGGACAACCTAGCTA
AAGTAAAATTCATGAAAAGGCATGGTGAATGGCAAGACCTACAGATA
CCTCCTAGTATCCGGTCAATTGTATGTCTTAACCTGCCCAGCTTTTCTG
GTGGACTGAATCCATGGGGTACACCAAACAGGAGGAAGCAGAGTGAC
AGAGATTTGACACCACCATTGTGTTGATGATGGCCTTCTAGAAATTGTTG
GGTTTAGAAATGCATGGCATGGGCTTGTTTTGTATGCTCCAAAAGGAC
ACGGAACGCGTCTTGCTCAGGCAAACAGAATCCGGTTTGAGTTTTGCA
AAGGTGCTGCAGATCATACTTCATGAGAATTGATGGGGAGCCTTGGA
AGCAACCCCTTCCAGTTGATGATGATACAGTTGTGGTTGAGATTTCTCA
CCTTGCCAGGTTAACATGCTAGCCACGCGTAATTGCAAGTCTCAAAG
TATGTATAATCCTTCATCACCACGCCAAGAGGATGAGGAAGATGACAG
TGATGAAGAGTCCTCTGTAGCAGAGGAATTCGGAAGTTTGGTGCGGC
TGATACATTTAAAATCCCAGATGACATTGACCCTTCTCGGCTTAGTTAG

>Phvul.011G155800_PvDGK6 (CDS sekansi)

ATGGTGGCGAGAGATTACAAGCGTTCGTTTTTTCGTTTCCTCGTTAGGA
GTTGTGAAATGGCAATGCGTGATGGTGATTACTCTAGAAAGTCGAGTT
GGGAAATACCAATGGGTGATGGTAGTTATGATAGAACTTTGAGGGAGT
TCTGTATTCCGGATTACATATTAGTGTCTGGATCTGAACGAAGAAATG
TCTCGCATGTACCTGCGTGCCCTGTGATTGTTTTCATAACTCCAAAAG
TGGTGGTCAGCTTGGAGGGGAGCTTCTTGTTTCCTATAGTACACTTCTT
AACAAAAACCAGGTTTTTGATTTGGGAAAAAATGCTCCGGATAAGGTT
CTGCAGAAGCTTTATGCTACTTTGGAAACACTCAAGCACAATGGGGAT
AATTTTGCAGCAGAAATTCACAATAGATTGAGAATAATTGTTGCCGGT
GGAGATGGTACTGCTAGCTGGCTTCTTGAGTTGTATCTGACCTTAAAT

TACCTCATCCTCCACCAATTGCAACGGTGCCATTGGGGACGGGAAATA
ATCTTCCCTTTGCGTTTGGATGGGGAAAGAAAAATCCAACCACGGATC
TTCAATCAGTGACGTCATTCCTAAAGGATGTAAGATTGGCAAACCAAA
TGAAAATAGACAGCTGGCATATTGTAATGAGAATGAAGGCTCCAAAA
GAAGGTTTCATGTGACCCTATTGCTCCCCTTGAGCTGCCTCACGCTATGC
ATGCATTTTCATCGTGTCTCTTCAACAGATAAGCTTAACATGGACGGTTA
CCACACTTACCGTGGAGGATTTTGGAACTACTTTAGCATGGGAATGGA
TGCTCAAGTATCTTATGCATTTTCATTCTGAGAGGAAGTTACATCCAGA
AAAATTTAAAAATCAGTTATATAATCAGAGTGCCTATCTGAAGCTTGG
ATGTTACAAGGGTGGTTCTTTTCTTCTCTGTTTCAATCTTCACGGAAT
ATAGCTCAGCTAGCAAAGGTTAAGATTATGAAAAAAGGTCATTGGGA
AGATCTCCACATACCTCGCAGCATTCCGGTCTATAGTTTGCCTCAACTTG
CCCAGCTTTTCTGGTGGACTCGATCCTTGGGGAAAACCAAATAGGAAG
AAATCAATTTATAGGGACCTGACTCTTCCCTATGTGGATGATGGCCTAT
TTGAGGTAGTTGGTTTTAGAGATGCTTGGCATGGTCTTGTTTTGCTTGC
ACCAAATGGACATGGGACTCGTTTGGCACAGACAAGCAGAATCCGATT
TGAGTTTCACAAGGGTGCAGCTGACTGCACATTCATGAGAGTTGATGG
AGAGCCATGGAAACAACCCCTCCCAAAAGATGATGACACAGTTGTTGT
TGAGATATCACACCATGGTCAAGTTAGCATGCTTGCCACCCCATTTGTG
CCGTTCTAAAAGTATGTATGATCCCTCCTCACCTTCCGTTGACCGGGAA
GAAGATGATAGCAGTGATGATGA ACTACAAGAAGATTGGGAAGAACG
GCGCAAATTTGGTGCAGCTGATACATTCAAATATCCTGATGGAATTGA
TATAGCTCAAGTAAGTTAG

EK 3 *Phaseolus vulgaris*'te tanımlanan DGK genlerinin 5' promotör bölgesi, sekansları (2000bp)

>Phvul.003G185800_PvDGK1 (5' promotör bölgesi, 2000bp)

GATTGTAAGTTTCAAATGTATTTTCGGATAAAAAACATCAGATTGTG
TAAAAAAAACACATTTCAAATAATAAAATTTTAAAAATACTTTTAGA
TTTAAAATTACCTTTTAAATTTTATAATCATAATATATGAAAAAAT
AATTTATTCATCAAACATATTTGGTTATAGAGTTGTTATGGAGGTGCTG
GAAGAGACCACTTTAAAAGAGTTTTTGTGTAAATGTGGACAATGAAGT
AGCAATAAATGAGGAGAATTCTATAGTTTTGTAGTTGGAGCGTGAAAA
GTTTGGCCACGTGTGAGACGCGCGTCTTCCCTATTTTGAACGACAA

CAATGCATCACGTTGCCGACGGACCCGCATTAGTTATTCCGTTAATTCT
CTTACACGTGTCTTCATATCACCAATTTAATTTATACCAATTCATTAAT
AAAGAACATACATTTTAATAACTTATTAATTCAAATAATGTTATGTGT
TAATACAAATGAAGAGACAACATTTATTTACAAAGAATAAATAAATTT
TATTCTTTTTATTGCTATGAAAACACAAAAAAGTTATGGCACGTATGTT
TTCAATAATAGCTGTAATAATGTAATAAAAAATATATAACTATAATAA
TAGCTGTAAGTATGTAATAAAAGTGCTAAAAAATGTGTTCCCGAACAA
ATAATTATAAAAAACAATTCAAATTATTAATTGTTATAAATAATGCAA
TGAAAAAATAATAAGAATAATTTTATACATACGAGATATTATGTAGC
TGCTTTTGACTGGATTTTTTTTTTATAGTTATATGTTTTGCTTAATGAAGA
TTTTTTTTAAATTTGTTAAAACTAACATTTTCTAATTAAAAAATACAC
TCAAATATATTATGTAATTGCTATTAAGTATAGATAAGTTTTTAAAGTTAT
ATATTTTGTTAAATACCTTTTTTAAATTTTATAAAAAATAACACTGTATA
GTTAAAAAACACAGCCAAATAGTTATAAAAGGTGTATACTCTAATAT
AGTTTTTATATAGTGACGATGATATAGATATAGTACTATTTTAACATGT
ACATCAAACAAAGAAAAAATAGATGCACTAAAGTTGTTGTAAATGA
AGCCTTAAATGGGATTTGCGAACAGTGAGAGAAAAAATACTTAATTA
ATAAAAAATACAATTGCAATGACTTAATTAAAAAATTTGAAAACCTAAA
GGAAAATGATAAAAAAGTTGAATAAGCTACAAGCAATTTAATCTTATT
ATTATTATTATTATGTGGAAGTATATCTGAAAGAGAATTGTCTAGTGTC
GAGGAATACACGTGGCTTGCGAACAAAACGTAGAAATCCAATTCCTATG
AAGATTCTTCCATGTCACATCTACAGCACAGAATCTTCCCCAAACAAA
CAAGTTATTAAATAATTATAAAATATATAAATTTCACTCTTATAAGTTA
TATGAAGCGCCCCAAAAAGCAAAAGAGAGAATCAGATTTAATTTTCTT
CGAGTTTTTCATTTCTATAAATATTTTCTTTTCTTCCTTATTAAGAAAAG
AGGAACGCTCTGTTTGGGACTTGCTTGCATAGATTGTATCTTTCTCCAT
TCTTAATTGATCGCCTCATCTTCGACTTTAACTTTCTTTCTATCAACTAG
GGTTTGATCCAACCCTTCAGGTTACCTCGATCTCTCAGACGCATCAGC
AACTGTATTCTGTATTCTTGTCGTTTATACCTTACTGGGGCTTGGAAG
TTTGGAGTTAACAAGCAGAGATTAGCAGAAGATGCTTTTGAGAAAAA
ATAGGGATGAAGAATCAGTTTCTTGTTAATATGCTTCTTGAGAGAAG
GAGGATGAGTGTTTATGTATTACACAACGTGGGGATTGCCTGTGTATG
AATTTTGTTTGAAGAATGAGATTAATGGGTGTGATTTCTGTATGTTGTT

TACAACCAAGCAAATTATAGTATTATAATACAGTTGATTTTAGAATTA
TATAGTCTAGGA

>Phvul.002G276700_PvDGK2 (5' promotör bölgesi, 2000bp)

TTTTCAAACCACTCCCACACAACATCATGGCTATAAAAGTGACATTGTC
CTCTCCAAATTTTAAATACAAAATCACCCAAATTCAAAGTCCTGTATA
ATCCAAAACCCAATTAGTTAAAAGCACTTAAGATTGTTAACGAGGGTA
TCCCTTCCACAAAATCAGACCATAAATCAAACCACATTAAAAAGGCAA
TTAAAGAAGACAACATTAAACGTGAGTTGAACCATTCACAAAACCTCT
TGAACAGTAAAAAAAAAAGAACGAAAATTTGTTTACCTATTTGGAGCA
AATGCACCGACACACTTCAGCAGAAGACAAATGTCTTTTAAAGAATTC
AGAACAAGTTTTTCTTAATGTTACAGCTGTTTCCATTCATCATGTTTC
TAGTTAATACCCTAGCTTAATTTTATCCTGGATAGGCTTTTCAGTACAT
TCAAGAACCTGTATTTTCATTCAAAAAGAATCAAGAACATGAGAACTG
GTGTGAATAACTGCATTCTATAAAGTTTTTTTTTTTGTGAGAACTTCAT
TAATGAACGCATGAAAATCAAAATCAAATCCCTGCAACATGCAAAGTT
GAAGCAGACCTTAATCAACGACCATAACCACAAAGACGTCGAACTGAG
GCCACGAAACACAAACTTGTCTCGTGCTCATCACCTGGCACCGTGCG
AGAATCGCAAACTGATAAACACATTATCGCAACATGGAACGAACGAC
GCAAGGAATAAAGCCAGGACCTACCTTATTTGGTTGGTGAGTATGTGC
CAAGATTTTTACAAAACGTTAGGATTGTTTCTTCTTACACTTTTATTCC
ATCTAGAGAGACGGAATTTGAAATAATTATAAGTTTTTTATTGAGATTTT
CAAATCAACTTTTGATACAGGTTTTTGAAATAAATATTTGGCAATCGCC
CTTAATTAAATATATTGTTGAGATTATATTAATTTGTCCTTAAAATCAT
TATTTTTTTTAGTTTGTATTAAAAATATAATTAATAATATTTATAGTTTA
TGATAATTTTTAATAAAAACATTTCTGTAAAATAAACAAAAAATTAAT
TAATTAGTTTTGATTAAATAAACATTTAAGATTAGAATATTTTTAAAA
GGTTTTACATGTCTAAACTTACACTTTTAAAAATTTAAAGAATTTAGTT
ATCAAATCTATTAAAATTATTTTTTATTCATTTATTTATTGATATTTGA
CTGGTAAAATGTTATTTAGATAAACACGTGTTATTGGATAAATAAAT
TTTTTATATTATTTAGGCGAAAAAACTTGTTAACAGATATAAATATAGT
GTACAAGGTTACCCTTAAAACGAGAAATTAAATAAAAAATTTCAATTAAT
AATAAAATTTGCTATTATTATTGTGTAGTTTTTTAAATATAATCACAGA
TAAATAGAAATATATTATTATAAATAATATAAGATATAAGTTGTATG

AAAAGAAGGGATAAAATGGTAAATAAACATGAAACGCGTTTGGCATT
CGTATGTTCTGGTGAATCTAACAGGGAAGCGTGTTTCATCGTGCGTTGG
AAATACCGCCCTTTTTCCGTTTCTCTCTCTCAAACCTGTTTCTTTCCCTTT
TCATTATTTATTTAACTATTAAATAATATATATATATTATATTCTATTGC
TTTTGCATTCAGTGAGGTGAAAGGAAGGAAGGGCATAAAATCAAAT
GAAACGTTGAATTTTAAAATCTGATAATGGTAACAGTAATATATAGGA
TTTGCATTAACGTATTCTTCTTCGAAGGGGAAGAAGAAGACGAAGAAG
AGAAGGGTTGCATTGCAACCGTATTCTGTTAAGCTCCAAAATCCAATT
CCGTCTCTAACCTAACTTCCTCTCAGGTTGCCGCAATACTCAATTCGGT
TTGGAATATTAAGGCCGCACCGTGCGTGCGTACACGCCATAGAATTC
GTTTTATTTTCGTTCTTAATCGAGCAATTAGTTTGTGTTTTATGTTTGACGG
AAGAGTTCAGTTGA

>Phvul.003G149800_PvDGK3 (5' promotör bölgesi, 2000bp)

AAAGCACACACCCAACAATATTTATGTTTGTGTAATGTTATAGTT
CTCATAGACAAAGATTTAATGTCTTTATTTTCACCATAAAAAACAAC
GATTATCTATCACCGTTCAAGTTAATCTAAATACATTATTTCTCTAAAT
ATAAAAGTGATTTTTGTTTTAAAACATCCCAGGAAATTTTAATAGTAG
AAAATGAATCATTTTCAGTTTTAAATTAAAAAATAATTATTTCTTTAGT
TACTTAAGTAATGTCGCATTATTATTTTATTTTAAGAATTATTTTAATTT
TTTATATATAATTAGTAAAACATTTTAATTTTCTTATCACATTCAGCAA
GTAATGATTGAAAAAATGGTCAACTTTAATATACCAAATATAAGTATA
ACACCAAATCGGTTTTCTAAAATACGATAAAGTAATTTTTTTAACCATT
ATTATTATGATAAAGTAATTTTGTTAACGCATGTATATTCACATTTTTA
TTAGATTAATACATATATATAATTTATTATTTTTATGAATAATTAATTA
AAATAATGATACGATTTAAAAAAATATAAAAATTTATAAAAATAGTAC
TACAAAAATATACAATCATTATTTATTATTAGAAAGGAAGTTATTTA
GTTATTTTAAAATAAAAAATCTATTTAATTATTTATTTTATTAAATAAA
TAAATAAATAAAATATTTTTTAGTTATTAAAAAGTAAAATTATCCAATT
AAAAGATGACACAAAAGAAGTTAACAAATATTGTATCTTTTTATATTG
TGGTATGAATTATTATTATTATGTCAAGGTAATTATTAGAGAAATA
TTTTTTATTAGATGTTACATTATTTAACTATATATATCGTGATTATTAA
TAACTTTATTATTTGCTTAAGTATTATTAGACAATGAATAGGAAAACCTG
ATACTCAGTATGAATTAAAATTTTAATATCTAAAAAGTATTAATCAAC

AGGTATTTATTTGACACTTATTCTACAAAATTAGCATTCTACATAATTG
TCCTATATTTCTTGAATAGGTAAAGATGGTAAATTAATTTTGGATATAT
GAAATAGTTGAGTTGGCAGCCAACTCTTAGCAGCAACAGCAAATCTAA
ATCACAGTTATTATTTAACTAAAATAGGGTTAAAATTACACAGATATG
GCCTGTGTCGTTCTGTGTCTGAAGACTCGTCTTGGACCAAAGACGGAAC
AAATTGTTCAATTTAACTCTAAATTGGCACAACCTTGAAAGTGTCTTTTCG
TTCCTGCGAGTTTCTCTATCAATTTTTTCTTGTTTTCCGTGTGCTACC
ATTCTCAGAGGCGTCATGCAATTGCCCAACCAAACCCTCTTGAGTAAC
GGTGTGCTCGTTAACACACACTGGAAATTTGAGAAAAAGATGGAAGA
TTCAATTCAAACCTTCGCTTTCATCCACGAACGACCGGTATGTGTATTAT
TTATCGTTTTCAGGGAGTTACATCATTAAAGTCACATAACTGGTTGAATAT
CATAAAAATAAATGTTACAATTCATATAAAAAAATAGAAATAAGGTG
GACAAATATGGTTGGGTGGGGACGTGTGAGTTGGAGAAATAATGCCTT
TTCATTTGTTGTAAATAGAGGTAACATGTGGGGGCATTTTCCCCATCAC
AAGAAAAAGAGTTTAAGGAACGGCATTAGCAAAAATTTCTTTATTTT
TTCGAAAGTAAATTATAGGATTGGCGAGCCTCCAATAAACTCAAATT
TACTGGTTGGACTTTTCGTCTTTGCCTGCGCGCTGCAAAAACCTGCCTTGA
GAGTCAAGAGTTGCTTCACACATGCACTCTTTTCTTTTTGTTTCATTATT
CATAAATTATAATATGATAATGAAATTATAAAGAGATTTCGTCTTTTGA
TTTAAATTTTCTGCAGAGGACAGAGGAGAGACGGGCCAGAGGGTTTGC
CTCAGAGAAGAAAAGAATCGAGTCGTGCGCCGAGAGAAAAGGAGAGCG
AGGAAGAAG

>Phvul.005G108700_PvDGK5a (5' promotör bölgesi, 2000bp)

CCAATACGTTATTTTCCAACCTCTACCAAACCTCTCTCACCCAAATGTCC
TATATTCTTAACTTCATATTCTCTTGCAATTAATTAATTAGCCACATACTT
ATGCACAATAAAAAGTTGAGCCATCTAGATTGTAAAGATTGTTTATTTT
GACTTCTTTAGAACTATACATGCTCCATTTAAATCTTTATCATGCCAT
GTTCAATATTGATTGACATACCTAGAAGATCAAACAAGTTGGTTAACA
AAAGATTTCTTTTCAACTTTGGAACATACCTTAAACTTTGCAACAACAT
CTCCTAGTTGTTGAACATCTTCAATCTGACTAACCCCTTGATTTGTAAT
CTACATACTTTATTGTTCCCTAATGAGAATCACATTTCAATTCCTTCTATTT
TATAGTTCTAAAACCTCTCTTTTAAGAGACACATGTTGTAAAGGCAATC
CAATTCATGATAAAAATCATCTTTGTATTTGAAATTAATATCACTAAC

ACCTCTTCATACTCGTAATTGTCAGTTACAACACTACAACATTTATAGACT
CTAATGAGAATTAGAAGCTTTTACCTTTTATCCTCTCTTTTACAATCTTT
CTTAAAGTAATCCCTTTTCTAATAGTTATAGTACTATTTGGGCCCTTTT
TCTCATTTGCCTTCTCCCTGGTGATTTCTTGAATTTCTTTCTCTTTCATTT
CTTCTTCTTGCTCTTGAACCTTTGAGACATTTAAACCAATCTCTTTATCAT
TTCCTTATATTCTTAAAGTTTTTGAAGATCCTTAGTTTGAATGGAGGTT
TTTAGAGTAATGATTTATTCCTTCTCAAATAAAAAAATCATTGAAATGT
TCAAATATTTTAATTAATGCATTAAGAAGAAGCAAAACCTTATCTTCA
TCATCAAATTTCACTTCAATGTTCTCAAGATCATCCATAATCTTGTTAA
AGTTTACTAGTTTTTCCATTTATTATTCTGGAGTTTGTTCATCTTAAATGA
ATATAATTGTTGCTACAAATAATGTTTATACATTAGAGATTTATTTATA
TACAACAACCTCAAACCTTTATCTATATTGATATGAGAATTCTCTCCTTTA
CATCTTCCATTAGTACCTTATTAGTAAGACACAATATTATAATACTTCT
TACTTTATTTCATCATGTCAATTTTTTTCTTTTATCACAAATAAAATAAG
ATGTTTGTCTCATTCTTTATTAATACTTTATAATTGTATCAAGATAATTT
TCATCTTTATCTTCCAAGAGAAAACCTTTTTGATATAAAACTTATAGATT
ATCTTTGATATGTTTTTTACTTTCTTTCTGATTCTAATAAACAATATTAA
TGGTTGAATTTACAACAATAAAAAACATAAAAAATCAAGAGAACAAAA
ATAATTATTATGTTGTTATGATTAAGGTTTATAGGTATATTCTAGTTTC
ACGATTTATTTAGAAAAATATTTTTTTTTTGGTACATAAACATACACTTCA
TAAACTAATAAAATAATATTTTAATTATATTTAATTTATTTTTAAATTTT
AAATATTATAATAATATAATTAATAATATTATTTTATTAGTTTGTAAATG
TACGCTTTCTACTTGTTAACATATCACCACCCCCACAATTAGCCTACTA
CGTTAACGCGTTAAATTCCGACGGTAGAGGACCAATGTCCCCACACCT
CAGTATTCACTTTCCTTCTTCTTTTCTTAGGCAAGGGACCCGCCAATA
AAAACGCACTTCTCTATCACATTCCGCTTCGCTCTTACACAACCTCGCTT
CTCTCCGTTTGGTAATAATCTCAGTTTCGCTTCTGCGTCACCACGCCAC
TCTGATCCAGCTAAATTAATCACGTTTCACCTACGCAATTTACAGATC
AAACACTCGCATTGCTCAATCTGAGAACATTTTCCAATAACTCTCGTCA
TCGCCTCGCACTGCATGTGCTTTTGAAATCACTTTCTAATCTATCTGTC
GCAAACCTTGCTTCGGGTGTCTCAGCTGAATGCGGCA

>Phvul.011G110600_PvDGK5b (5' promotör bölgesi, 2000bp)

AAAGATGGTTAAGGCTAATAACCTTGGTTTACAAGTTTTTTGGGTGTTG
TTTTGCTATTGTAGGTCTGGCAGGAGAGTTGAGTTGTCAAAGGAGGTG
TAGGCAGTGCAGGGTGTCTGTATTGATGATAATTAATCAGATGGGTTA
TCAGTCAATTCAAATCCGAAGAGGTTGGTTTACCTTTGTCTGGAGCTTC
ACAATTCACACCTGATGCGTTGCCAAAGCTGTTGTGTTGGTTTTTTGTG
TGGTTAGAGCTGCTGGTTGGTTGCATGTGAAGTTCACTGGTATGCAGC
AAGGGCCATCAAATGTAGCAGGATTCATCTATGTTCCCTGATGTTTTTAG
CTTGGCATTCAATGCATCATTCAAGGGGGGTTGTTGAATATGGTGTTTGC
TTTAAGCCTCAAGGAGGGCTTAATTGCTAGATGATGCTCCTTTTTTGAG
AGGTAGGTCTTCTAGTTTTGGTGTGGTAGATGCAGGGTAGACTCAAATC
AAGTGCAATTGATTGTTTGCCTATGTCTGGAGCTCCGAATGGTGCACA
TGATGTGCTGCCAAAGCTGGGTTGGGAAATAGTTGATGGTTGGTGCTT
CGAGGAAGGAGCTATCAAGTGCAACACGTTTTTTTTGTTTTATTACCTA
TGCTAGGGTGCATTGTAGGACCACAAATAGTTTTACAACCAAACATG
TAGCTGCTGGTTTTCTTTTTTGATGCTATGTTTGGGTCTGGTGCGAACC
TCTAGTGGGTGGGGAACTTGTGGTTTGTCTTATATAGTAGGTATGCTTT
GGTAGCAAATTGCTGTTGTTTTGTTTCCGTTTTTGTATATGGGTGGGA
ACATCCCTAAAGTAGTCCCCTTAATTCAATTAATTCTTTACTGATAAA
AAAAATTTTATACTGACTTGCGAAGAACCTTTCAAGATTTATTCCTTTT
AAATGTTTATCACATTAGATGATCTCTTTCCCAACATTTATGTGATTTG
TTTTACATTGATTTAAAGTTTTTTAGAGTAGGTTTTTGCATTGTCATGTT
TCAAAAGTGAAGCATGATTGTAATAAGATATTATCAATATTGTATAAC
CAATCATTCTTAGGTTGAGTGATTCTAATTAGACGTAGAATAAGAAGA
TTCAACCGATCTAAATCTTTTGTGTCTTCTCTTTTGTATTTATCTTTTGC
TTTATTGAAGTTCTTCTTGATATTGTTTGAAATTTAAATTCAAATCTTCT
GAATTACTTTTACTTCAGAAATTTTTTCTAATGTTTATTAATATTTTAAG
AAAAAATATTTTAAACATCAATTCACCTTTCTAACCAAAATATAAGAC
AAAATGAATGTTCAAATTTATTGATTGGCCAAAATCAAGTTCTCTTAG
TCACCATGTCAAGAATTGAACCTCACACAAGTTTACATTTAACATGAG
ACAGAGATTACTTAAGTACCAAAATAAAAAAATAACCCCAAACCTTA
AGTCAATTTGAACGCTCCCATTTAACATCAACATTTGATTAAAGTTTCA
AAATTAATAGTCTTATTTAATGTTATTATTTAAAAAAGATCCTTATGTT
TAAATATGTACACTATTCCTATTATTATAATCTAAAGCAATTTAGAAA

TCACACTTCTTTATTTTATGAAATAAAAGCATTAAATAAAGGCTTTCAC
TTACACATATTTCTTTACTTAAGTCCCTTTTACCAGTATACCCACAGG
GATCCCAAAAACAAACAAACAAACAAGATACCTTGTATTGTAGATCCT
TTCCAACGTTTTTCATTCCAGTTGCACACAGTTAAAGGTCAACTCAACTT
TTTCTCTCAACTTTTGCTTCGCATTCTTCTTTCCTCTTCAGCTCACACTC
CCAATCCCAATTCTCACCATTGCCCCCTTCCAATTCCCAAACCTCAATTC
GAAGATAATCGGAGAATTATAGCAGCAACGTCACGTGACGTTGCCTCA
ATTTGTTGCTCTCTCTGCGCTGCTGCACGTGACCTCGCACCCACACCAAG
CA

>Phvul.011G155800_PvDGK6 (5' promotör bölgesi, 2000bp)

AACAAGTTATTCCTGACTTAAGATGAGACAAGTAAATTGTTTTTGTGA
TCAATAAATCACAAGGTTTGCTCACTACAGAGGAGTTGCGTCTTTTGG
ACATTTACAAAGTTAAAAATTTTCTCCTAATTTGCTAAAGATTGAATGC
AAATTGTGTTCTTACAAAAATTTAAAGGCACAAAATTGTTCTTCTCTTT
GAAGCATGTCATTATATAAGTTTGAAGAATGCAATTGTTGCATTTCTTT
TCTTCTTTTGTCTTTAAGTAGTTTTGAACTCATTTTAATGTTTTCTTCCTT
TTCTTTTATCATTTGTCGATTTTGAGCTTGAGCCTTGAAAAACATTTGA
TTCACTTCATGTAACATTAATTGTCCTCTTCTTCACACAATTTCCCTGAT
AGTTGACAATATTTATCGTCCTTGGTAGTAGAACTTGTGCACCAAAC
TATAGTAAAAGTGAACATTGTATTAGATAGATAGTTATGTCTGAAACA
TGTTTATGTTAGGATAGTTGTTGAATAGTGCAACTTTAGTCAAACCTTAA
GAGATCTTGATGTTGACTTATCTTGAGTGTGGAATCTCTTTACAAAAGA
CGTTGAAAACATTCTTGCAATACAACTTAAAGAAGTATTCCTTATGTT
TACACTAGCTTTAAAATATGTTAGCATTTATCACTTTATGTTTCATCAAC
ACCTATCAAACAAAATGAAAAGTAAGTTGAATGTTTTGTCTTTTGTTA
GACAAAACATTTGCACTTACATAATCTGTTATTTTTCTTTAACATCTAT
ACATACATGTTACACACCCCATATGCATAGACGGACACACACATATAC
GTACACATACACAAAGTTGTATTTTGAAATGCTACATGTATATTCTCTA
GTGGATTATATTATATTTTCTCATGCTCTTAAGTGGTTGTTACACTTGTT
TCAATGAGTTTTATTATTTTACAGAATTTTTTTTATTTTTTATTATCATT
ACAATCTTATTCATCTAAATTGAAAATTTATAAGAATAATTAATTGAA
GTAAAATTAATTCATAATTACTATTTTATTTTTAAAAGTAAACACTAGTC
CAATCAAGCTAGACACCAGTTCCACTGCTCAAATAGTCTAATCAAATC

TAAGTAAAAAATAAATACCACATAATATAAAATAAGTAGCATCAATA
 ACTAAATTTTGTGAAAAAATAATATAGTACAAAATTTATTAACCTTA
 ATGATAATTACTTTAATTTTTATTTGTCCAATATACTAATATTTTACTCT
 CCTGTGTTTTCTTTTATTACATTACATTTATGTCTTTTTTATACACAGA
 AGAGAAAGAAAACAAAAGGAAAAAAGAGTTAGGAAATTTCCACCTC
 ACACAATTCCGTTGGAGCGTGGGCCCCACTCCTAAAAGACGAACTCAA
 CAATCAATAAAGCCACTGAAACCGTGGCCTGACGTGGCAAACCCTCGC
 AGTAATCTTTCATTGTTTGAAAGCCTCCATCTTCCTCTGTCACATTCAA
 CCTTCACCTTTTTCGTCTATATAACCTTAATCGTTCCTGCAATAATCAC
 CCTTCACGTATCTTCTCTTCGCGCACTCCATAGAAATCTTCTAAGGAAT
 CTCCTCTTGCTTCGTAGCTAAACAAACCAAACGCGCTTTCTCTGGATCG
 CTCTGAATATCTCGTTACAAAAGCAACTCATCACGCTTATACGGTACC
 GTTTCGGTAAGGCATCTTCTTCTTTTCTCCTTTTCAAATATCTGCGCACT
 GCTCACATACGTTGCGTGATGCCTGTTTCGTACTACTGCTGCAAGGTCCT
 GTTTGGAACCTCCGAATAAATTAGCTTTTGTTCGCTTTTGCCGAATCC
 GGTTCTTGAAAAGTTCAAGTCAAAGACAGTTCGTTTGTTAAAAGTTC
 ATTCTCTTTGTTGTGCATGCTTGCTTTGCTTAACTTTGCTGCGTTCGCCG
 AAGTGGCAAAACGACACGCGTGATTATCTTTCGTGTCGTTTAAGGGAA

EK 4 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde *L* değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri

Varyans analizi *L* değeri 0 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	16,56	1,34	1,67
Genotip	60	24,70	2,00**	7,51
Hata	120	12,34		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi *L* değeri 5 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	2,90	0,26	1,67
Genotip	60	23,85	2,13**	7,15
Hata	120	11,18		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi L değeri 10 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	9,03	1,27	1,26
Genotip	60	18,10	2,55**	5,70
Hata	120	7,10		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi L değeri 15 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	1,31	0,18	1,29
Genotip	60	17,38	2,35**	5,81
Hata	120	7,39		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi L değeri 20 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	0,71	0,11	1,23
Genotip	60	17,33	2,59**	5,53
Hata	120	6,70		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

EK 5 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde b değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri

Varyans analizi b değeri 0 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	22,06	1,97	1,59
Genotip	60	28,33	2,53**	7,16
Hata	120	11,22		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi b değeri 5 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	10,63	0,22	1,59
Genotip	60	63,45	1,30**	7,16
Hata	120	48,67		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi b değeri 10 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	17,84	2,16	1,36
Genotip	60	16,83	2,04**	6,14
Hata	120	8,24		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi *b* değeri 15 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	1,10	0,16	1,23
Genotip	60	19,53	2,88**	5,56
Hata	120	6,77		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi *b* değeri 20 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	7,13	1,22	1,15
Genotip	60	14,20	2,42**	5,18
Hata	120	5,86		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

EK 6 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde *chroma* değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri**Varyans analizi *chroma* değeri 0 derece**

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	8,60	0,83	1,52
Genotip	60	27,24	2,64**	6,86
Hata	120	10,31		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi *chroma* değeri 5 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	1,16	0,10	1,60
Genotip	60	26,94	2,37**	7,20
Hata	120	11,35		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi *chroma* değeri 10 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	14,01	1,53	1,43
Genotip	60	19,79	2,16**	6,47
Hata	120	9,16		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi *chroma* değeri 15 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	3,26	0,44	1,29
Genotip	60	20,38	2,76**	5,81
Hata	120	7,38		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi chroma değeri 20 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	3,52	0,49	1,27
Genotip	60	19,08	2,65**	5,74
Hata	120	7,21		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

EK 7 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde Hue değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri**Varyans analizi Hue değeri 0 derece**

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	2,34	1,01	0,72
Genotip	60	6,49	2,82**	3,24
Hata	120	2,31		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi Hue değeri 5 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	15,86	2,04	1,32
Genotip	60	41,39	5,31**	5,97
Hata	120	7,79		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi Hue değeri 10 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	32,10	0,83	2,95
Genotip	60	124,42	3,22**	13,29
Hata	120	38,69		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi hue değeri 15 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	80,20	4,96	1,91
Genotip	60	38,52	2,38**	8,59
Hata	120	16,16		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi Hue değeri 20 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD 0,01
Tekerrür	2	71,65	1,38	3,42
Genotip	60	140,02	2,69**	15,42
Hata	120	52,05		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

EK 8 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde SPAD değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri

Varyans analizi SPAD değeri 0 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,52	0,04	1,78
Genotip	60	47,28	3,33**	8,05
Hata	120	14,18		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi SPAD değeri 5 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	11,69	0,79	1,82
Genotip	60	47,10	3,18**	8,23
Hata	120	14,83		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi SPAD değeri 10 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	1,91	0,15	1,70
Genotip	60	46,67	3,65**	7,64
Hata	120	12,79		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi SPAD değeri 15 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	21,20	1,74	1,65
Genotip	60	48,77	4,00**	7,46
Hata	120	12,18		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi SPAD değeri 20 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	23,15	2,10	1,57
Genotip	60	63,44	5,75**	7,10
Hata	120	11,03		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

EK 9 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde F_v/F_m değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri

Varyans analizi F_v/F_m değeri 0 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,002	0,37	0,04
Genotip	60	0,01	1,13**	0,17
Hata	120	0,01		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi F_v/F_m değeri 5 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,01	0,70	0,04
Genotip	60	0,01	1,70**	0,18
Hata	120	0,01		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi F_v/F_m değeri 10 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,0003	0,22	0,02
Genotip	60	0,002	2,03**	0,07
Hata	120	0,001		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi F_v/F_m değeri 15 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,002	4,88	0,01
Genotip	60	0,001	4,25**	0,04
Hata	120	0,0003		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi F_v/F_m değeri 20 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,0004	0,35	0,02
Genotip	60	0,004	3,90**	0,07
Hata	120	0,001		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

EK 10 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde PI_{abs} değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri

Varyans analizi PI_{abs} değeri 0 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,0002	0,17	0,17
Genotip	60	0,001	1,05**	1,05
Hata	120	0,001		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi PI_{abs} değeri 5 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,01	0,46	0,05
Genotip	60	0,02	1,44**	0,25
Hata	120	0,01		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi PI_{abs} değeri 10 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,27	1,69	0,19
Genotip	60	0,32	1,99**	0,85
Hata	120	0,16		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi PI_{abs} değeri 15 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,50	7,44	0,12
Genotip	60	0,18	2,69**	0,56
Hata	120	0,07		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi PI_{abs} değeri 20 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,03	0,26	0,15
Genotip	60	0,42	4,29**	0,67
Hata	120	0,10		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

**EK 11 Fasulye genotiplerinin soğuk stresine karşı fenotiplenmesinde
NES değerinin farklı sıcaklıklara ait varyans analizleri**

Varyans analizi NES değeri 0 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	0,81	0,04	2,16
Genotip	60	131,65	6,35**	9,73
Hata	120	20,73		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi NES değeri 5 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F değeri	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	1,36	0,05	2,37
Genotip	60	223,13	8,93**	10,68
Hata	120	24,97		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık

Varyans analizi NES değeri 20 derece

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	LSD _{0,01}
Tekerrür	2	5,25	0,10	3,49
Genotip	60	94,27	1,74**	15,72
Hata	120	54,11		
Toplam	182			

SD: Serbestlik derecesi, KO: Kareler ortalaması, LSD: Asgari önemli farklılık