



T.C.

HALIÇ ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**SALATALIKTA (*Cucumis sativus*) PATOJEN İLİŞKİLİ PROTEİN 1
(PR-1) GEN AİLESİNİN GENOM ÇAPINDA *in-silico* ANALİZİ VE
KAREKTERİZASONU**

**HAMİZ NASRULLAZADE
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİMDALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emin URAS**

İSTANBUL – 2025



T.C.

HALIÇ ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**SALATALIKTA (*Cucumis sativus*) PATOJEN İLİŞKİLİ PROTEİN 1
(PR-1) GEN AİLESİNİN GENOM ÇAPINDA *in-silico* ANALİZİ VE
KAREKTERİZASONU**

**HAMİZ NASRULLAZADE
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİMDALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emin URAS**

İSTANBUL – 2025



T.C.
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ
TEZ/PROJE SAVUNMASI
TUTANAK FORMU

DOKÜMAN NO: ENS.FR.007
İLK YAYIN TARİHİ:
REVİZYON NO:
REVİZYON TARİHİ:
SAYFA NO: 3 / 3

Tez Savunma Tarihi: 16/01/2025

Hamız Nasrullazade (Adı-Soyadı) tarafından hazırlanan "**SALATALIKTA (*Cucumis sativus L.*) PATOJEN İLİŞKİLİ PROTEİN 1 (PR-1) GEN AİLESİNİN GENOM ÇAPINDA in-silico ANALİZİ VE KARAKTERİZASYONU**" adlı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Haliç Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Moleküler biyoloji ve genetik Anabilim/Anasanat Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emin Uras
Moleküler biyoloji ve genetik, Haliç Üniversitesi
İmza.

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum.~~

Üye: Prof. Dr. İbrahim İlker Özyiğit
Biyoloji, Marmara Üniversitesi
İmza

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum.~~

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Zafer Karagözlü
Moleküler biyoloji ve genetik, Haliç Üniversitesi
İmza.

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora/Sanatta Yeterlik Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum.~~

Üye: Ünvanı, Adı-Soyadı
Anabilim Dalı, Üniversite Adı

İmza.....

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora/Sanatta Yeterlik Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Üye: Ünvanı, Adı-Soyadı
Anabilim Dalı, Üniversite Adı

İmza.....

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora/Sanatta Yeterlik Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....Ünvanı, Adı-Soyadı

.....Enstitüsü Müdürü

%7

BENZERLİK ENDEKSİ

%6

İNTERNET KAYNAKLARI

%6

YAYINLAR

%5

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

%1

2

www.mdpi.com

İnternet Kaynağı

<%1

3

link.springer.com

İnternet Kaynağı

<%1

4

Yinghui Li, Lina Qiu, Qiang Zhang, Xiangxi Zhuansun, Huifang Li, Xin Chen, Tamar Krugman, Qixin Sun, Chaojie Xie. "Exogenous sodium diethyldithiocarbamate, a Jasmonic acid biosynthesis inhibitor, induced resistance to powdery mildew in wheat", Plant Direct, 2020

Yayın

<%1

5

acikerisim.avrasya.edu.tr

İnternet Kaynağı

<%1

6

ijcmass.com

İnternet Kaynağı

<%1

7

Submitted to University of Delhi

Öğrenci Ödevi

<%1

TEZ ETİK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Salatalıkta (*Cucumis sativus*) Patojen İlişkili Protein 1 (PR-1) Gen Ailesinin Genom Çapında *in-silico* Analizi ve Karakterizasyonu ” ismi altında olan bu çalışmayı başından sonuna kadar danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emin URAS sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgilerin hepsinde metinde ve referans bölümünde eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türle yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

(İmza)

Hamiz Nasrullazade

16/01/2025

ÖZET

SALATALIKTA (*Cucumis sativus*) PATOJEN İLİŞKİLİ PROTEİN 1 (PR-1) GEN AİLESİNİN GENOM ÇAPINDA *in-silico* ANALİZİ VE KAREKTERİZASONU

Haliç üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emin Uras

Ocak 2025, 69 sayfa

Salatalık (*Cucumis sativus* L.) biyolojik ve ekonomik açıdan önemli ve global ölçekte tarımı yapılan bir bitkidir. *C. sativus* yüksek ilgi ve tüketime sahip, üretimi ile üretici ülkelerin ekonomisine ve besin güvenliğine katkıda bulunan bir bitkidir. Salatalık üretiminde başta mantar ve virüs kaynaklı olmak üzere çeşitli patojen organizmalar hasat verimini ve ürün kalitesini önemli ölçüde düşürmektedir. Bu bağlamda biyotik ajanlara karşı dirençli bitkilerin seçilmesi ve geliştirilmesi için, bu patojenlere karşı yanıt oluşturan moleküler mekanizmanın anlaşılması yüksek önem arz etmektedir. Bu çalışmada biyotik stres faktörleri etkisi ile aktivite gösteren moleküler yanıt sisteminin önemli bir parçası olan patojen ilişkili 1 (PR1) genlerinin *C. sativus* genomunda *in-silico* analizi gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizlerde *C. sativus* genomunda 17 farklı PR1 geni/proteini tanımlanmıştır. Çoğunlukla tek ekzonlu olan bu genler 15-21 kDa aralığında proteinler (CsPR1) üretimini kontrol etmektedir. Bu proteinlerin anti bakteriyel, antifungal ve antiviral özellik kazandıran CAP_PR-1 (IPR001283/IPR034113) domainine sahip, genellikle hücre dışı boşlukta lokalize olmuş proteinler olduğu tespit edilmiştir. CsPR1 proteinlerinin çoğunlukla hidrofilik karakterli olduğu ve 6 adet korunmuş motif içerdiği tespit edilmiştir. Proteinlerin 3D yapıları daha önce karakterize edilmiş olan *Solanum lycopersicum* 1CFE PR14A proteini homolojisine dayalı olarak oluşturulmuş ve sekonder yapı analizleri gerçekleştirilmiştir. Filogenetik analizler ML dayalı olarak gerçekleştirmiş ve CsPR1 proteinlerinin filogenetik ağaçta familya ayrımı olmadan diğer organizmalarda tespit edilen PR1 proteinleriyle beraber dağınık olarak yer almıştır. Salatalık genomunda tanımlanan PR1 genleri ve proteinleri ile ilgili elde edilen bilgiler hastalıklara dirençli varyetelerin geliştirilmesine katkı sağlaması amacıyla literatüre sunulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Biyotik faktör, bitki patojeni, tolerans; moleküler yanıt*

ABSTRACT

GENOME-WIDE *in-silico* ANALYSIS AND CHARACTERIZATION OF THE PATHOGEN-RELATED PROTEIN 1 (PR-1) GENE FAMILY IN CUCUMBER (*Cucumis sativus*)

Haliç University

Institute of Graduate Studies

Department of Molecular biology and Genetic, Master's Thesis

Supervisor: Assist Prof. Dr. Mehmet Emin Uras

January, 2025, 69 pages

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) is a biologically and economically significant crop that is cultivated on a global scale. *C. sativus* is a field crop of high interest and consumption, contributing to the national production and food security of producing countries. In cucumber production, various pathogenic organisms, especially fungi and viruses, have been shown to significantly reduce harvest yield and product quality. Consequently, there is a pressing need to elucidate the molecular mechanisms underlying the plant's response to these pathogens. In the present study, an *in-silico* analysis of pathogenesis related 1 (PR1) gene was performed in the *C. sativus* genome. PR1s represent a pivotal component of the molecular response system activated by biotic stress factors. The analysis yielded the identification of 17 distinct PR1 genes/proteins within the *C. sativus* genome. These genes, which are mainly characterized by a single exon, regulate the synthesis of proteins (CsPR1) with a molecular weight ranging from 15 to 21 kDa. These proteins are typically localized in the extracellular space and possess a CAP_PR-1 (IPR001283/IPR034113) domain that confers antibacterial, antifungal, and antiviral properties. CsPR1 proteins exhibit a predominant hydrophilic character and are comprised of six conserved motifs. Three-dimensional structures of the proteins were generated based on the homology of the previously characterized *Solanum lycopersicum* PR14A protein, and secondary structure analyses were also performed. Phylogenetic analyses were performed based on maximum likelihood (ML) and CsPR1 proteins were distributed in the phylogenetic tree together with PR1 proteins identified in other organisms without family distinction. The information obtained about PR1 genes and proteins identified in the cucumber genome is presented to the literature to contribute to the development of disease-resistant varieties.

Keywords: *Biotic factor, plant pathogens, tolerance, molecular response*

TEŞEKKÜR

“Salatalıkta (*Cucumis Sativus*) Patojen İlişkili Protein 1 (PR-1) Gen Ailesinin Genom Çapında *in-Silico* Analizi ve Karakterizasyonu” adlı tez çalışmamda Salatalık bitkisinde bulunan PR-1 proteinlerinin fizikokimyasal özellikleri, 3D yapıları, filogenetik ilişkileri gibi özellikleri araştırılmış ve yorumlanmıştır.

Bu çalışmanın her aşamasında beni destekleyen ve her zaman sorularıma çok iyi şekilde cevap verip bana destek olan, yeni fikirler oluşturan çok anlayışlı öğretmenim Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Emin Uras’a derin minnettarlığımı sunuyorum.

Tez dönemine başladığım zamandan beri beni maddi, manevi her zaman destekleyen babam Ramiz Nasrullayev’e, arkadaşlarım İbrahim Murtuzov ve Elgün Hamidov’a derin teşekkürümü ve minnettarlığımı sunuyorum.

Ocak, 2025

Hamiz NASRULLAZADE

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	V
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
KISALTMALAR DİZİNİ	IX
SİMGELER	X
1.GİRİŞ	1
1.1. Bitki Savunma Mekanizmalarının Temel İlkeleri	2
1.2. Biyotik stresler	3
1.2.1. Viral enfeksiyonlar. Salatalık Mozaik Virüsü (CMV)	3
1.2.2. Bakteri enfeksiyonları	4
1.2.3. Mantar hastalıkları	4
1.2.4. Hayvan Patojenleri	5
1.3. Bitki koruma stratejileri; Fiziksel ve kimyasal savunmalar	8
1.4. Moleküler Savunma	8
1.4.1. Reaktif oksijen türleri (ROS)	9
1.4.2. Aşırı duyarlılık tepkileri (Hypersensitive Response)	10
1.5. Patogenezle ilişkili (PR) proteinler	12
1.5.1. PR proteinlerinin aktivasyonu ve yanıt mekanizmaları	14
1.6. Salatalık bitkisi (<i>Cucumis Sativus</i> L.)	15
2. LİTERATÜR TARAMASI VE GENEL BİLGİLER	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23

3.1. PR1 gen/protein dizilerinin belirlenmesi.....	23
3.2. <i>CsPR1</i> genlerinin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi	23
3.3. <i>CsPR1</i> proteinlerinin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi	24
3.4. <i>CsPR1</i> proteinlerinin ikincil ve üçüncül yapılarının incelenmesi	25
3.5. <i>CsPR1</i> proteinlerinin protein-protein interaksiyonlarının belirlenmesi	25
4. BULGULAR	26
4.1.Genlerinin belirlenmesi	26
5. TARTIŞMA	40
SONUÇ.....	49
KAYNAKLAR.....	51
EKLER.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	69

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Salatalık bitkisinde biyotik streslere neden olan patojenler.....	7
Tablo 1.2. Reaktif oksijen türleri çeşitli hücreler türlerinde.....	10
Tablo 1.3. PR proteinlerinin sınıflandırılması, fonksiyonları, hücre içi lokalizasyonları.....	14
Tablo 1.4. 2018 ve 2022 yılları arasında salatalık tarımı üretim miktarı.....	18
Tablo 4.1. <i>C. Sativus</i> genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin karakteristik özellikleri.....	28
Tablo 4.2. <i>C. sativus</i> genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin hücre içi konumları....	31
Tablo 4.3. 3D yapı üretilirken kullanılan ayrıntılı şablon ve CsPR1 proteinlerinin uyum ve benzerlik değeri.....	35
Tablo 4.4. Tersiyer (3D) yapının kapsam ve model güvenilirlik değerleri ile 3D yapılarda saptanan sekonder yapılara ait oransal sonuçlar.....	36
Ek-Tablo 1. CsPR1 proteinlerinin +3000 ön (up-stream) bölgesinde yer alan cis etkili elementler.....	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Yüksek hassasiyet cevap sistemi aktivasyonu mekanizması.....	11
Şekil 1.2. Savunma sisteminin patojenlere karşı aktivasyonunun genel görünümü ve PR proteinlerinin lokal ve sistemik indüklenmesi.....	15
Şekil 4.1. <i>CsPRI</i> genlerinin salatalık genomundaki dağılımları.....	27
Şekil 4.2. <i>C.sativus</i> genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin ekson-intron genomik yapı analizi.....	29
Şekil 4.3. <i>C.sativus</i> genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin amino asit dizilerinin hizalaması.....	30
Şekil 4.4. <i>C.sativus</i> genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin NJ bazlı filogenetik analizi.....	30
Şekil 4.5. <i>CsPR-1</i> proteinine ait tahmini fosfarilasyon bölgeleri.....	32
Şekil 4.6. <i>CsPR-1</i> proteinlerinde saptanan korunmuş motifler.....	33
Şekil 4.7. <i>CsPR-1</i> proteinlerine ait 3D yapı modellemeleri.....	34
Şekil 4.8. ML bazlı birleşik filogenetik ağaç.....	37
Şekil 4.9. <i>CsPR1</i> protein-protein interaksiyonları.....	38

KISALTMALAR

Avr	: Avirulans Gen
CC	: Sarmal Yapı
CMV	: Salatalık Mozaik Virüsü
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
ETI	: Efektör Tetiklemeli Bağışıklık
HR	: Hipersensitif Yanıt
ISR	: İndüklenmiş Sistemik Direnç
kDa	: Kilodalton
LRR	: Lösün Açısından Zengin Domein
MAMP	: Mikropla İlgili Moleküler Birleşik
MTI	: Mikroplarla Tetiklenen Bağışıklık
NBS	: Nükleotit Bağlanma Bölgesi
PAMP	: Patojenle İlgili Moleküler Birleşik
PCD	: Programlanmış Hücre Ölümü
PR	: Patojenle İlişkili Proteinler
PRR	: Model Tanıma Reseptörü
PTI	: PAMP Tetiklenen Bağışıklık
R	: Dirençli Gen
RO	: Serbest Oksijen Radikalleri
SAR	: Sistemik Edinilmiş Direnç
TIR	: Toll İnterlökin Reseptörü
UV	: Ultraviyole
CBM	: Caveolin - Bağlayıcı Motif

SİMGELER

Na	: Sodyum
K	: Potasyum
O₂	: Oksijen
O	: Reaktif oksijen
H₂O₂	: Hidrojen peroksid
NO	: Nitrojen dioksid
h	: Hektar
t	: Ton

1. GİRİŞ

Dünya nüfusundaki sürekli artış, şehirleşme ve endüstrileşme gibi faktörler bitki yetiştirme için uygun olan alanların azalmasına yol açmıştır (Sharma vd. 2021). Tarım için uygun alanlarda meydana gelen azalma ile beraber oluşan ekonomik kayıpları önlemek ve ürünleri böcekler, nematodlar ve bakteriler gibi patojenlerden korumak amacıyla çeşitli çalışmalar yürütülmektedir. Ürünlerin üretim miktarını ve kalitesini artırmak için kültürel kontroller, pestisit uygulamaları ve ekim nöbeti gibi yöntemler geliştirilmiştir (Kaur vd. 2023).

Biyotik ve abiyotik birçok faktöre karşı ortaya çıkan çoğu savunma tepkisi, genomun %1'inden fazlasını kapsayan çok sayıda transkripsiyonel aktivasyonla karakterize edilir; ancak, bu aktivasyonların çoğunun işlevleri hala bilinmemektedir (Maleck vd. 2000). Patojen tanıma, reaktif oksijen türlerini, protein kinazları, fitohormonları, fitoaleksinleri, fenolik bileşikler ve patogeneze ilişkili (PR) proteinleri aktive eder (Sharma vd. 2021). PR proteinlerinin üretimi ve birikimi, bitkilerde yabancı saldırılar sırasında hayati bir rol oynar (Van Loon vd. 2006). PR proteinlerinin ana işlevlerinden biri, enfekte olmuş bitkilerde patojen bütünlüğünü bozmak ve diğer savunma sinyal yollarını aktive etmektir. Ayrıca, bu genlerin kullanımının patojene dirençli bitki türleri elde etmekte etkili olduğu da gösterilmiştir (Moosa vd. 2017).

Biyotik faktörler ile salatalık arasındaki ilişkinin anlaşılması, yeni ve etkili yönetim stratejilerinin geliştirilmesinde önemlidir. Bu bize zararlılarla ve onların olumsuz etkileriyle nasıl başa çıkacağımız konusunda yardımcı olacaktır. Bu çalışmada salatalık bitkisinin (*Cucumis sativus* L.) stres etmenlerine karşı verdiği tepkinin moleküler temellerinin anlaşılabilmesi için, genomunda yer alan PR1 gen ve proteinlerinin belirlenmesi ve karakterizasyonu *in-silico* yöntemle gerçekleştirilmiştir.

1.1. Bitki Savunma Mekanizmalarının Temel İlkeleri: Biyotik ve Abiyotik Faktörler

Bitkilerde, stres, ontojenez süresinde büyüme, gelişme, verim ve genel verimliliği olumsuz etkileyen koşulları ifade eder (Verma vd. 2013). Hayvanların aksine, bitkiler bir yerden başka bir yere göç edemezler, bu nedenle sürekli olarak stres faktörlerine maruz kalarak, belirli adaptasyonlar geliştirmişlerdir. Stres, gen ifadesinde, hücre metabolizmasında ve büyüme hızlarında değişikliklere yol açan çeşitli bitki savunma mekanizmalarını aktive eder (Gull vd. 2019). Bitkiler iki ana stres faktörü türüne direnir ve adapte olur: abiyotik ve biyotik stresler. Abiyotik stresler, bitkiyi çevreleyen fiziksel ve kimyasal faktörleri içerir. Fiziksel faktörler arasında kuraklık, UV radyasyonu ve aşırı sıcaklıklar bulunur. Kimyasal faktörler, tuzlu topraklar ve ağır metaller gibi alt kategorileri içerir (Patel vd. 2021).

Hareketsiz doğaları nedeniyle bitkiler, çevrelerinde meydana gelen fizyolojik, gelişimsel ve biyokimyasal değişimlere sürekli olarak dayanmak zorundadır (Mahajan & Tuteja, 2005). Abiyotik faktörler, dünya çapındaki tarımsal ürün kayıplarının ve ürün tahribatının %50'sinden fazlasını oluşturur (Alcázar vd. 2006). Özellikle uzun süreli ve şiddetli stresler, ürün kaybına yol açabilir, çiçeklenmeyi engelleyebilir, tohum oluşumunu aksatabilir, yaşlanmayı hızlandırabilir ve nihayetinde bitkinin ölümüne neden olabilir (Verma vd. 2013). Kuraklık, aşırı sulama, tuzluluk ve aşırı sıcaklıklar gibi abiyotik stres faktörleri, bitki büyümesini, gelişimini ve ürün kalitesini önemli ölçüde etkiler. Ayrıca, gelecekteki su kıtlığı nedeniyle bu abiyotik streslerin daha da şiddetleneyeceği açıktır. Bu nedenle, önümüzdeki yıllarda gıda kalitesi ve güvenliği önceliklendirilmelidir ve tarım sektöründe hem abiyotik hem de biyotik faktörlere karşı dirençli bitki türleri geliştirilmelidir.

Bitkiler, abiyotik ve biyotik faktörlere karşı belirli yanıt mekanizmaları geliştirmiş ve bu mekanizmalar evrim süreci boyunca devam etmektedir. Virüsler, mantarlar, böcekler, nematodlar ve bakteriler gibi kendilerine saldırma kapasitesine sahip olan çevredeki tüm abiyotik ve biyotik faktörlere karşı direnç mekanizmaları geliştirirler. Hem dışsal hem de hücresele seviyede (sinyal yolları aracılığıyla) etkili olan bu direnç mekanizmaları, bu faktörlere karşı koyar ve bitkiyi ölümden koruyan yanıt mekanizmalarını aktive eder (Ficke vd. 2018). Toprak, bitki sağlığını ve biyolojik çeşitliliği korumada önemli bir rol oynar ve böylece zor koşullar altında

bitkinin hayatta kalma şansını artırır (Gull vd. 2019). Abiyotik strese verilen başlıca tepkilerden biri, sitoplazmada Na^+/K^+ seviyelerinin düzenlenmesini içerir. Abiyotik faktörlere, örneğin tuzluluk, kuraklık, sıcaklık ve mekanik hasarlar aittir. Bitki korunmasında ve evrim sürecinde oluşan adaptasyonda bitki hormonu olan absisik asit de önemli bir rol oynar (Ali vd. 2020).

1.2. Biyotik Stresler

Salatalık (*Cucumis sativus* L.) mikroorganizmalar ve böcekler gibi çeşitli biyotik faktörlerden zarar görebilir ve bu durum verim kaybına neden olabilir. Tablo 1.1.'de gösterildiği gibi bu hasarlara mantarlar, bakteriler, virüsler ve böcek gibi parazitler neden olabilir. Ayrıca kabakgiller sıklıkla böcekler, meyve sinekleri, yaprak bitleri, beyaz sinekler ve akarlar gibi çeşitli zararlıların saldırısına uğrar (Qureshi, 2018).

1.2.1. Viral Enfeksiyonlar. Salatalık Mozaik Virüsü (CMV)

Salatalık mozaik virüsü (CMV), dünya çapında tarımsal kayıplara yol açan önemli bir patojendir ve bitki virüsleri arasında en geniş konukçu yelpazesine sahip olan virüslerden biridir. CMV, konukçu bitkinin yapraklarında lekeler ve mozaikler oluşturarak bitkileri etkiler ve özellikle yaşlı türlerde CMV enfeksiyonundan kısa bir süre sonra bitki hızla ve tamamen solabilir. Bu virüs, sarı lekeler, yaprak çürümesi ve mozaik gibi şiddetli semptomlara neden olur. Meyve şekli bozulur ve bu, meyve tutumunu azaltır (Güller vd. 2024). Bitki virüsleri, birçok ürünü ve alanı etkileyen mantar hastalıklarından sonra ikinci önemli hastalık grubudur. Ancak, ana farklardan biri, mantar hastalıklarıyla başa çıkmak için geniş bir yelpazede fungusitler ve mantar hastalıklarına karşı korunma ve tedavi yöntemleri kullanılabilirken, viral hastalıklar koruyucu önlemlere dayanır. Örneğin, birçok böcek, salatalık türlerini etkileyebilir ve ürün kaybına yol açabilir; ancak, böceklerin vektör olarak taşımadaki özellikleri nedeniyle daha tehlikeli olmaları muhtemeldir. Birçok vektör doğrudan bitkilere zarar vermez, ancak beslenme sırasında ve benzer durumlarda bu vektörler virüsleri yayar. Bu nedenle, salatalık üzerinde viral enfeksiyonları önlemenin yollarından biri, böcek vektörlerini öldürmek için insektisitler kullanmaktır (Gallitelli, 2000).

1.2.2. Bakteri enfeksiyonları

Köşeli yaprak lekesi (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*)

Pseudomonas syringae pv. *lachrymans*, salatalıkta köşeli yaprak lekesi hastalığına neden olan gram-negatif bakterilerden biridir. Bu parazit salatalığın hem seralarda hem de tarlalarda üretimini etkiler; bu nedenle, önemli miktarda mahsul kaybına neden olur. Haşere, tohum çimlenirken kotiledonlara yayılmak için kış mevsiminde toprak yüzeyinde kalır. Genellikle parazit, stomalar, mercimekler ve yara izleri yoluyla doku yardımıyla bitkiyi istila eder. Bu hastalığın belirtileri yapraklarda, gövdelerde ve meyvelerde görülür. Bu hastalığı önlemek için en etkili strateji patojen içermeyen tohumlar kullanmaktır ve ayrıca patojenlerin popülasyonlarını azaltmak için kimyasal, kültürel, biyolojik ve bütünleşmiş yöntemler düşünülmektedir (Akbaba & Ozaktan, 2018).

Bakteriyel solgunluk hastalığı

Bakteriyel solgunluk hastalığı *Erwinia tracheiphila* bakterisinin neden olduğu, dünyanın her yerinde ekinlere zarar veren bakteriyel bir hastalıktır. Salatalık böcekleri genellikle bu hastalığı taşır. Bu nedenle, bir vektör olarak, salatalık böcekleri, bir dizi hastalığın bitkiyi enfekte etme olasılığını artırmaktadır. Böcek daha sonra bitkiye sızar ve yayılmaya başlar. Sonuç olarak, su kaynağının kesilmesi sonucu bitki solar. Enfeksiyondan sonra, hastalık neredeyse her zaman ölümcüldür. Salatalık böceklerini ortadan kaldırmak için böcek ilacı kullanmak, parazitleri önlemenin bir yöntemidir ve entegre haşere kontrolün de yararlı bir strateji olabilir. Ek olarak, hastalık enfeksiyondan sonra ölüme neden olduğundan, paraziti yenmek için etkilenen bitkileri mümkün olan en kısa sürede tanımlamak ve uzaklaştırmak çok önemlidir (Sasu vd. 2010).

1.2.3. Mantar hastalıkları

Tüylü ve külleme mantarları

Tüylü küf (*Pseudoperonospora cubensis*) tüm dünyada salatalık, balkabağı, karpuz ve kabakta ürün kayıplarına neden olur. Bununla birlikte, kronik lezyonlar yaprakların yüzeyine yayılır, ancak kabakgil türleri ve çeşitleri nedeniyle ana semptomları söylemek zordur. Özellikle bitkilerdeki lezyonların şekli ve büyüklüğü birbirinden farklıdır. Bu haşere, genel bitkinin sağlık sistemini etkiler ve hatta bitkinin

ölümüne neden olur (Savory vd. 2011). Bitki bir patojenle enfekte olduğunda, ilk belirtiler yaprak yüzeyinde görülür ve zamanla renk sarı köşeli lekelere dönüşür. Çoğu zaman, patojen tarafından enfekte olmuş yapraklar ölür, ancak yapraklar dik kalabilir. Enfekte bölge dışı doğru yayılır ve anormal büyümenin yanı sıra meyvelerin zayıf gelişmesine neden olur. Tarımda bu zararlıya karşı başa çıkmak için, sağlık ve çevresel açıdan tehlikeli durumlar nedeniyle uzun vadede birden fazla mantar ilacının etkinliği olmamasına ve patojenin evrim boyunca kimyasallara karşı direnç kazanması nedeniyle mantar ilaçlarının birkaç kez kullanılmasının etkili bir yöntem olmamasına rağmen, mantar ilaçları, biyolojik kontrol ajanları gibi çeşitli yöntemler araştırılmıştır. Bu nedenle, biyolojik kontrol ajanlarının etkili ve çevre dostu bir yaklaşım olması daha olasıdır (Mohamed vd. 2016).

Kabakgiller külleme (*Podosphaera xanthii*) yıkıcı patojenlerden biridir. Parazitin semptomları yaprak yüzeylerinde, saplarda ve nadiren meyvelerde görülür. Bitkiyi istila ettikten sonra, semptomlar aynı zamanda meyve miktarının düşmesine, bitki büyümesine, yaprakların erken kurummasına neden olur. Bitkinin enfekte olabilmesi için bazı hava koşulları patojen için önemlidir. Uygun sıcaklık, bağlı nem ve yağmur durumunda, külleme spor çimlenmesini, enfeksiyonunu, kolonizasyonunu ve diğer amaçlarını salatalık üzerinde uygulayabilir (Trecate vd. 2019). Salatalık tarlasında külleme ve tüylü küflerin neden olduğu kayıplar %30-80'leri bulabilmektedir. Hem külleme hem de tüylü küfler birden fazla mantar ilacı ile kontrol edilebilir, ancak etkili kontrol biyolojik kontrol ajanlarının kullanılmasıdır ve bu kesinlikle antagonistik mikroorganizmanın potansiyeline bağlıdır (Safaei vd. 2022).

1.2.4. Hayvan Patojenleri

Yaprak bitleri

Salatalık türleri, sıklıkla afidler (*Aphis gossypii*) tarafından enfekte edilir ve bu durum büyük ekonomik kayıplara yol açar. Afidler, belirli bir bitkiyle etkileşim kurduklarında, çeşitli virüsler gibi parazitlerin taşınmasına yardımcı olur ve fitotoksin üreten hücrelere salya enjekte ederler. Böcekler, bitki yapraklarına isli mantarlar bırakır ve bu mantarlar bal özü üretir. Sonuç olarak, mantarlar bitkinin ışık kaynağını engeller ve fotosentezi durdurur (Liang vd. 2015). Afidlere karşı pestisit kullanımı, bu sorunla başa çıkmanın bir yoludur. Ancak, parazitin dayanıklılığı nedeniyle, bu yöntem etkili olmasına rağmen genellikle yetersiz kalır. Ev sahibi dirençli türlerin

kullanımı ise bir başka stratejidir. Çoğu üretici için bu yaklaşım, pestisit kullanımından daha uygun bir seçenektir (Rahsepar vd. 2016).

İki Noktalı Örümcek Akarı

İki noktalı örümcek akarı (*Tetranychus Urticae*) salatalıkta seyrek görülen bir zararlıdır. Zararlı, özellikle serada, abaksiyal yaprak yüzeyinden beslenir ve yaprak yüzeyinde küçük beyaz ve sarı lekeler bırakır. Zararlı, hücresel hasar nedeniyle klorofilde hasara neden olur ve bu da bitkilerde fotosentez oranının azalmasına yol açar (Park & Lee, 2002). Hasarların ve genel olarak haşerelerle mücadelede kullanmamız gereken yöntemlerin başında; seraya kontrolden geçen yeni bitkilerin ekilmesi, ot çapasına önem verilmesi, azotlu gübrelerin kullanılmasına ve dozuna dikkat edilmelidir (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2024).

Kök-nematod

Kök-ur nematodu (*Meloidogyne incognita*), kavun (*Cucumis melo*) ve salatalık gibi kabakgiller ailesine mensup bitkilere saldıran bir kök-ur nematodu türüdür. Bu nematod, bitkilerin köklerine zarar vererek önemli ekonomik kayıplara neden olur. Kök-ur nematodları, kabakgillerde solgunluk hastalığına (*Fusarium wilt*) neden olan patojenlerin taşıyıcısı olarak da işlev görür. Bu nematodlar, bitkilerde besin alımını, fotosentezi, mineral taşınımını ve su alımını olumsuz etkiler. Su ve mineral hareketinin bozulması, kök ve sürgün oranını değiştirir ve bu durum ürün üretimini olumsuz etkiler. Fitopatogenik nematodlar, duyarlı türlerde %30'a varan ürün kayıplarına yol açabilir. Bu patojeni yönetmek için tarımda yaygın olarak nematositler kullanılır. Ancak, diğer pestisitlerde olduğu gibi, nematositler de çeşitli çevresel ve sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Sürdürülebilir tarımı teşvik etmek amacıyla, yetiştiriciler giderek biyolojik kontrol etmenleri kullanma ve bütünleşmiş zararlı yönetimi sistemleri geliştirme gibi alternatif yöntemlere yönelmektedir (Kayani vd. 2017).

Tablo 1.1. Salatalık bitkisinde biyotik streslere neden olan patojenler.

Hastalık/zarar verici	Tipi	Organizma	Belirtiler	Kontrol metotları	Referans
Tüylü küf	Mantar	<i>Peronospora sparsa</i>	Salatalık yaprakları üzerinde büyük sarı lezyonlar oluşturur ve yaprakta keskin şekilde diğer kısımlardan ayrılır	Gerekli fungusit önlemi ve parazitinin ideal şartlarının karşısına geçmek	Savory vd. 2011, Mohamed vd. 2016
Külleme	Mantar	<i>Podosphaera xanthii</i>	Salatalık yaprakları ve meyvelerinde beyaz tozlu lekeler oluşturarak, zamanla tüm yapraklara ve gövdelere ulaşır	Dirençli türler seçmek, hava koşullarını göz önünde bulundurmak, uygun fungusitlerin kullanımı	Safaei vd. 2022, Trecate vd. 2019
Salatalık böcekleri	Böcek	<i>Acalymma vittatum</i>	Topraktaki boşluklardan girerek bitkinin köküyle besleniyor, bakteri taşıma ve uygun hastalıklara neden oluyor	Polyester gibi örtüler, yabancı yırtıcılar, seralarda yabancı otların kaldırılması, uygun insektisitler	Zehnder vd. 1997
Yeşil küf	Mantar	<i>Botrytis cinerea</i>	Bitkinin yaprak, meyve, kök, gövdesinde nekrotik lekeler oluşturuyor ve dokuların çürümmesine neden oluyor	Biyolojik kontrol için ajanlar ve uygun fungusitlerin kullanımı	Elad, Malathrakis, & Dik, 1996
Salatalık mozaik virüsü	Virüs	<i>Cucumovirus</i> genus	Virüs salatalık yapraklarında bodur bırakarak, mahsul verimliliğini çok büyük ölçüde azaltıyor, meyvelerde lekeler ve mozaikler oluşturuyor	Virüsleri taşıyan vektörlerin karşısına geçmek, enfekte olmuş bitkileri ortadan kaldırmak	Güller vd. 2024, Gallitelli, 2000
Kök düğüm nematodları	Nematod	<i>Meloidogyne spp.</i>	Yaprakların sararması, bitkinin kökünde şişlerin oluşması	<i>Paecilomyces lilacinus</i> biyolojik kontrol ajanı gibi, uygun nematositlerin kullanımı	Kayani vd. 2017
Afidler	Böcek	<i>Aphis gossypii</i>	Bitkinin öz suyunu emer, yaprak kıvrılması, kahverengi olmuş yapraklar ve virüsler için vektör	Biyolojik kontrol ajan olarak doğal düşmanlar, uygun insektisitler, sabunlu su, alüminyum folyo kullanımı	Rahsepar vd. 2016, Liang vd. 2015
Köşeli yaprak lekesi	Bakteri	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	Yara izleri yoluyla bitkiyi istila eder, mahsul kaybına neden olur	Patojen içermeyen tohumların kullanımı, uygun kimyasalların kullanımı	Akbaba & Ozaktan, 2018
Bakteriyel solgunluk hastalığı	Bakteri	<i>Erwinia tracheiphila</i>	Salatalık böcekleri genellikle bu bakterileri taşır ve patojen susuzluğa yol açarak bitkinin ölümüne neden olur	Salatalık böceklerinin karşısına geçmek, insektisitler kullanmak, enfekte olan bitkileri uzaklaştırmak	Sasu vd. 2010
İki noktalı kırmızıörümcek	Örümcek	<i>Tetranychus urticae</i>	Bitkilerin özsuyunu emerler ve yapraklarda şekil bozukluğu	Gereğinden fazla azotlu gübreler kullanılmamalı, ot çapasına önem verilmeli	Park & Lee, 2002

1.3. Bitkinin Koruma Stratejileri “Fiziksel ve Kimyasal Savunmalar”

Bitkiler, stres faktörlerine karşı kendilerini korumak için birçok savunma mekanizmasıyla donatılmıştır (Bartels & Sunkar, 2005). Kendilerini savunmak için bitkiler, enfeksiyonları ve hastalıkları önlemeye yardımcı olan hem fiziksel hem de kimyasal savunmalar kullanır. Fiziksel savunmalar arasında kabuk, dikenler, tüyler (trikomlar) ve sarkan yapraklar bulunur.

Kabuk ve Kütikül

Bitkiler dışarıdan, onları yabancı parçacıklardan ve enfeksiyonlardan koruyan ölü hücrelerden oluşan dış bir tabaka olan kalın kabukla kaplıdır. Yapraklar, patojenlere karşı ek bir bariyer sağlayan mumsu bir kütikül ile çevrilidir. Kabuk tabakasının arkasında, her bitkinin hücre duvarlarında enfeksiyonlara karşı bir bariyer görevi de gören bir selüloz tabakası vardır. Bazı patojenler bu bariyeri aşmak için enzimler salgılar.

Dikenler ve Tüyler

Güller gibi bazı bitkiler, hayvanların onları yemesini engelleyen büyük dikenlere sahiptir. Bu adaptasyonlar, bitkileri fiziksel zararlardan ve patojenlerin taşıyabileceği zararlı hastalıklardan korur. Ancak bazı durumlarda, fiziksel savunmalar bitkileri tüketen zararlıları uzaklaştırmada yeterli olmayabilir. Bu nedenle, bitkiler kimyasal savunma mekanizmaları da geliştirmiştir. Bazı bitkiler, kendileriyle beslenmeye çalışan otçullara karşı kimyasal bileşikler salgılar. Bu kimyasallar, zaten enfekte olmuş bitkileri korumaz, ancak bazı bitkiler saldırılara yanıt olarak toksinler üretir ve bu toksinleri havaya salarak benzer organizmaları uzaklaştırır. Örneğin, bitkiler kendilerini korumak için bakterileri öldürebilen kimyasallar üretir ve böylece yalnızca fiziksel bariyerlerin sağlayamayacağı bir savunma seviyesi elde ederler. Bazense insanlar, bu bitki kimyasallarını antiseptik ilaçlar olarak kullanır (Mithöfer, A. vd. 2012).

1.4. Moleküler Savunma

Bitkiler sıklıkla potansiyel patojenlerin tehdidiyle karşı karşıya kalsa da hastalık oluşumu nadirdir. Patojenlerin bitkileri başarılı bir şekilde istila edememelerinin üç nedeni vardır. Birincisi, bazı bitkiler, belirli patojenlerin hayatta kalması için gereken spesifik koşulları sağlamaz. Bu, bitkilerin uygun konaklar olmadığı anlamına gelir.

İkincisi, bitkiler, yapısal bariyerler veya toksik bileşikler gibi patojenlerin bitki içindeki kritik alanlara ulaşmasını engelleyen fiziksel ve kimyasal savunmalara sahiptir. Son olarak, bir patojen bir bitki tarafından tespit edildiğinde, bitkinin savunma mekanizmaları devreye girerek enfeksiyonu lokalize alanlarda sınırlandırır (Hammond-Kosack & Jones, 1996). Bu bağlamda, reaktif oksijen türleri, hipersensitif yanıt ve patogenezele ilişkili proteinler gibi bitki özelliklerinin bazılarına değinilmiştir.

1.4.1. Reaktif oksijen türleri (ROS)

Kloroplastlar, mitokondriler ve peroksizomlar, bitkilerde aerobik metabolizmanın yan ürünleri olan reaktif oksijen türlerini (ROS) üreten hücresel bölmeler arasındadır (Tablo 1.2.) (Dietz vd. 2016; Huang vd. 2016). DNA'yı parçalama ve hücre ölümüne neden olma yeteneklerinin yanı sıra, bu bileşikler hem stres tepkilerini hem de normal büyüme süreçlerini başlatan önemli sinyal molekülleri olarak kritik bir rol oynar (Huang vd. 2019). Genel olarak, hücresel çoğalma ve farklılaşma gibi birkaç temel biyolojik sürecin gelişimi, düşük ROS seviyelerine bağlıdır (Tsukagoshi vd. 2010). Buna karşılık, yüksek ROS seviyeleri DNA hasarına neden olabilecek ve programlanmış hücre ölümünü erken tetikleyebilecek ciddi bir sorun teşkil eder (Silva ve Coutinho, 2010). Tüm ROS'un kaynağı olan oksijen (O₂), sabit bir moleküldür ve bitkilerde çok reaktif değildir. Ancak, ontogenez sırasında, farklı organellerdeki çeşitli süreçlerle enerji ROS'larına dönüşebilir ve bu da bitki metabolizmasını etkiler (Mittler, 2017). Reaktif bir molekül olarak ROS, hücresel unsurları oksitleyerek hem bu unsurları değiştirebilir hem de onların gerçek işlevlerini yerine getirmesini engelleyebilir (Mittler vd. 2004). Baskı koşulları altında, bitkiler, patojenlere karşı savunma, programlanmış hücre ölümü (PCD) ve değişen stoma davranışı gibi çeşitli süreçlerin düzenlenmesi için önemli miktarda ROS türü üretir (Gill ve Tuteja, 2010). Ayrıca, ROS, büyüme sırasında ve stres faktörlerine karşı epigenetik ve hormonal kontrollerin düzenlenmesinde de hayati bir rol oynar (Kong vd. 2018). Isı, kuraklık, toksisite, organik kirleticiler ve patojenler gibi çevresel faktörlerin, bitki hücrelerindeki ROS seviyelerini tetikleyebileceği gösterilmiştir (Zhao vd. 2018; Lee vd. 2012; Kim ve Hwang, 2014; Yang vd. 2017). ROS, bu streslere yanıt olarak sinyal iletim yollarını indükleyen bir sinyal molekülü olarak işlev görür. Bitkilerin normal yaşamında, oksidatif özelliklerinden dolayı ROS sentezlenebilir. Bu nedenle, ROS güçlü oksidatif özellikleriyle kalıcı hücresel hasara neden olabilir. Bu özellikleri sayesinde ROS, bitkilerin morfolojik yapılarında

değişikliklere yol açarak direncin artmasını sağlar (Wahid vd. 2007; Bose vd. 2014). Belirli bir ROS'un tetiklediği sitotoksik ve sinyal faktörleri arasında ayırım yapmak zordur. Patojenler bitkilere saldırdığında, bitkiler, bir zararlının algılanmasının hemen ardından hızla indüklenen ROS molekülleri salgılar ve bu moleküller sinerjik olarak hipersensitif yanıtı (HR) aktive edebilir (Delledonne vd. 2001). ROS, istilacı patojenlerin yayılmasını önlemek amacıyla çevredeki hücre duvarlarının kalınlaşmasını teşvik ederek olumlu bir rol oynar (Wang ve Higgins, 2005).

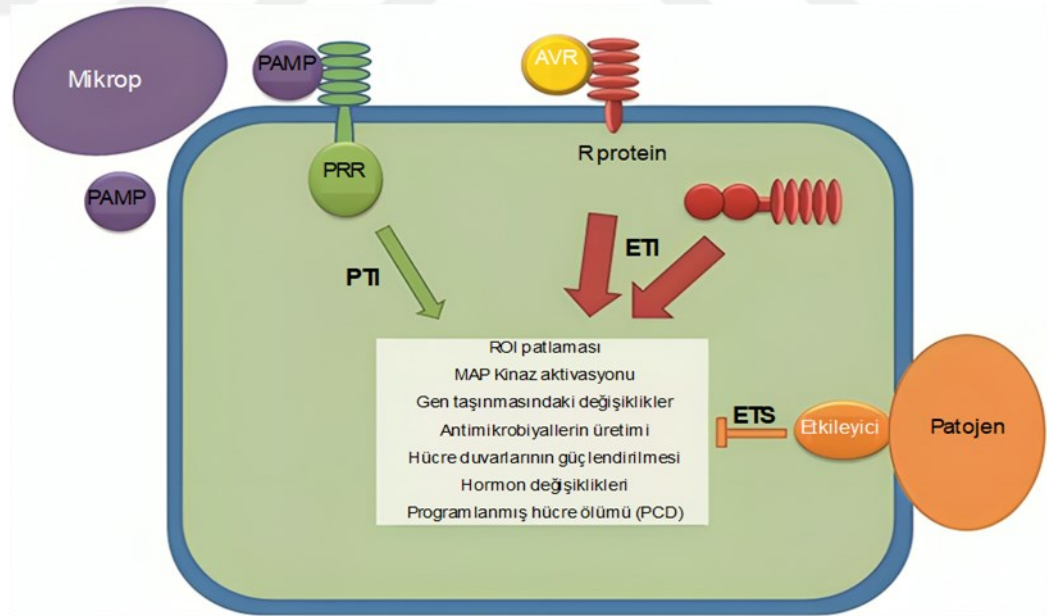
Tablo 1.2. Reaktif oksijen türleri çeşitli hücresel türlerde (Huang vd. 2019'den uyarlanmıştır).

Bitki savunma tepkisinde yer alan ROS				
Stres	İlgili ROS türleri	Organizma	Gen veya fitohormon	Referans
Aşırı sulama	O_2^- , H_2O_2	Pirinç	Etilen, <i>OsRBOHH</i>	Yamauchi et al., 2017
Su stresi	H_2O_2	Pirinç	ABA, <i>OsCATB</i>	Ye et al., 2011
Yüksek sıcaklık	O_2^- , H_2O_2	Pirinç	<i>OsCATB</i>	Zhao et al., 2018
Hastalık direnci	H_2O_2	Pirinç	Etilen, <i>OsEIN2</i>	Yang et al., 2017
Soğuk sıcaklık	O_2^- , H_2O_2	<i>Aradiopsis</i>	<i>AtSRC</i>	Kawarazaki et al., 2013
Bitki bağışıklığı	-	<i>Aradiopsis</i>	<i>AtRBOHD</i>	Kadota et al., 2014
Kuraklık	O_2^- , H_2O_2	<i>Aradiopsis</i>	ABA, <i>AtNTL4</i>	Lee et al., 2012
Organik kirleticilerin artımı	H_2O_2 , NO	<i>C. Sativus</i>	24-Epibrasinolid	Ahammad et al., 2017
Mikrobiyal patojen	H_2O_2	Biber	SA, <i>CaPAL1</i>	Kim and Hwang, 2014

1.4.2. Aşırı duyarlılık tepkileri (Hypersensitive Response)

Tüm yüksek bitkiler, patojen saldırı bölgesinde hızlı hücre ölümü ile karakterize edilen bu hipersensitif savunma (HR) tepkisini sergiler (Balint-Kurti, 2019). Bu reaksiyon, bitkilerin doğuştan gelen bağışıklığının temel bir bileşenidir ve birçok hastalığın büyümesini ve yayılma yeteneğini kontrol etmeye yardımcı olur. Mantarlar, bakteriler, virüsler ve oomisetler, HR'ye neden olan mikroorganizmalar arasında yer alsa da böcekler ve nematodlar gibi diğer organizmalar da HR'ye yol açabilir (Rossi vd. 1998; Dropkin, 1969). Patojenin her baskın avirülans (*Avr*) geni, konakçının karşılık gelen baskın direnç (*R*) geni ile eşleşir. Yalnızca patojenin *R*-geni ile karşılık gelen *Avr* geninin aynı anda bir araya gelmesi durumunda direnç mümkün olabilir. Çoğu *R*-geni, sitoplazmada bulunan, lösün açısından zengin (LRR) ve nükleotit bağlanma bölgesi (NBS) domainlerine sahip proteinleri kodlar; bu proteinlere NBS-

LRR proteinleri veya NLR'ler denir. Ayrıca, çoğu NLR, N-terminal bölgelerinde toll-interlökin reseptörü (TIR) veya sarmal yapı (CC) domainlerini içerir. Özellikle, bu proteinlerin aktivasyon mekanizmalarının önemli ölçüde farklılık gösterdiği görülmektedir (Wang ve Balint-Kurti, 2015). Genel olarak, N-terminal domainlerinin hücre ölümü yollarını aktive ettiği düşünülmektedir. NBS ve LRR domainleri ise R-proteininin aktivitesini düzenler (Wang ve Balint-Kurti, 2015; Wang vd. 2015). Bir diğer protein grubu olan model tanıma reseptörleri (PRR'ler), zarla bağlantılıdır ve mikrop veya patojenle ilgili moleküler birleşikleri (MAMP'ler veya PAMP'ler) doğru bir şekilde tanır. Tanıma sırasında, NLR'lerin tetiklediği bağışıklığa oldukça benzer bir savunma yanıtı olan MAMP/PAMP-tetikli bağışıklık (MTI/PTI) indüklenir. Ancak bu bağışıklık genellikle daha düşük şiddette olup programlanmış hücre ölümünü içermez (Şekil 1.1.) (Feechan vd. 2015). Patojen/mikropla ilgili moleküler birleşikler (PAMP), model tanıma reseptörleri (PRR) tarafından tanınır. Avirulent (*Avr*) efektörler, efektör tarafından tetiklenen bağışıklığı indükleyen direnç (*R*) proteinleri tarafından doğrudan veya dolaylı olarak tanınır (ETI). Hem PTI hem de ETI, programlanmış hücre ölümüyle sonuçlanır (Feechan vd. 2015).



Şekil 1.1. Yüksek hassasiyet cevap sistemi aktivasyon mekanizması (Feechan vd. 2015'ten uyarlanmıştır).

1.5. Patogenezle ilişkili (PR) proteinler

Patogenez ile ilişkili (PR) proteinler, gen ekspresyonu, plazmoliz, çiçeklenme, olgunlaşma ve yaşlanma gibi çeşitli bitki süreçleri sırasında biriken düşük moleküler ağırlıklı bir protein grubudur (Breen vd. 2017). Çalışmalar, PR proteinlerinin patojenlerle enfekte olmuş bitkilerde biriktiğini ve enfeksiyona ve patojen kaynaklı toksinlere karşı koymak için çeşitli biyokimyasal bileşiklerin (örneğin, peptitler, proteinler) üretimine yol açtığını göstermiştir (Punja, 2001). PR proteinleri ayrıca kuraklık, UV ışınları, ozmotik stres, ışık ve sıcaklık gibi abiyotik faktörlere yanıt verir (Akbulak vd. 2020). Bunun yanı sıra, absisik asit, salisilik asit, jasmonik asit ve oksinler gibi bitki hormonlarına da tepki verirler (Alhudaib vd. 2022). PR proteinleri termostabil, düşük pH'ta (<3) çözünebilir ve moleküler ağırlıkları 5–43 kDa arasında olan proteazlara dirençli proteinlerden oluşur; tüm bitki organlarında eksprese edilirler (Bartels & Sunkar, 2005). PR proteinlerinin yaklaşık %5–10'u bitkilerin yapraklarında birikir (Van Loon vd. 1994). Patojenlere karşı korunmak için bitkiler hem yapısal hem de indüklenebilir savunma sistemleri geliştirmiştir (Kaur vd. 2023). PR proteinleri, indüklenebilir sisteme aittir ve yalnızca bitki-patojen etkileşimlerine yanıt olarak aktif hale gelir (Antoniw ve Pierpoint, 1978). Bitki PR proteinleri ilk olarak tütün mozaik virüsü ile enfekte olan tütün bitkilerinde tanımlanmıştır (Kaur vd. 2023). Tütünde PR-1, PR-2, PR-3, PR-4 ve PR-5 protein sınıflarının keşfedilmesinden sonra, diğer PR proteinleri çeşitli bitki türlerinde tanımlanmıştır (Breen vd. 2017). PR-1 proteinlerinin domates, patates, mısır gibi bitkiler üzerinden yürütülmüş çalışmalarda bazı PR-1 proteinlerinin üyeleri IgE duyarlılaştırma kapasitesine sahiptir. Ve buda bitki alerjenleri olarak görev yapmaktadır (Wangorsch vd. 2022). PR-1 proteinleri CAP süper ailesinin bir üyesidir. CAP protein ailesi, ismini üç kurucu üyesinden almıştır. İnsanlardan elde edilen sistein açısından zengin salgı proteinleri, böcekler tarafında elde edilmiş antijen 5 (Ag5) ve bitkilerden elde edilen patogenezle ilişkili PR-1 proteinleri. Birçok PR-1 ailesinin üyeleri sadece CAP domeini içermektedir. Ve bu nedenle kısa C ve N-terminal bölgelerini de ihtiva etmektedirler. PR-1 proteinleri, PR protein ailesi içinde önemli bir grup olup, antifungal aktivite gösterir. Bu proteinler patojenler ve salisilik asit tarafından salgılanır (Van Loon ve Van Strien, 1999). Daha sonra, hem tek çenekli (monokotiledon) hem de çift çenekli (dikotiledon) bitkilerde birkaç PR-1 proteini tanımlanmış ve karakterize edilmiştir; bu proteinlerin stres faktörlerine karşı savunma tepkileri sergilediği gösterilmiştir (Ryals vd. 1994). PR-1

proteinlerinin ekstraselüler ya da apoplastik alanlarda biriktiği düşünülmektedir (Akbulak vd. 2020). Buna karşılık, bazı PR-1 proteinleri, tütün bitkilerindeki protoplastların vakuollerinde birikir (Sessa vd. 1995). PR-1 genleri, yalnızca biyotik faktörlere karşı değil, aynı zamanda abiyotik faktörlere karşı da önemli roller oynar. PR proteinleri, şu anda 19 farklı sınıfa ayrılmıştır (Tablo 1.3.) ve bu sınıflandırma, enzimatik aktiviteleri, biyolojik roller ve amino asit dizilimlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Ali vd. 2018). PR proteinlerinin lokalizasyonu diğerlerinden farklıdır; hatta aynı PR proteinleri hücrelerin farklı bölgelerinde bulunabilir, bu nedenle PR proteinlerinin kesin lokalizasyonu hakkında konuşmak bazen oldukça zor olabilir ve bu durum onların türüne, parazit tipine vb. bağlıdır.



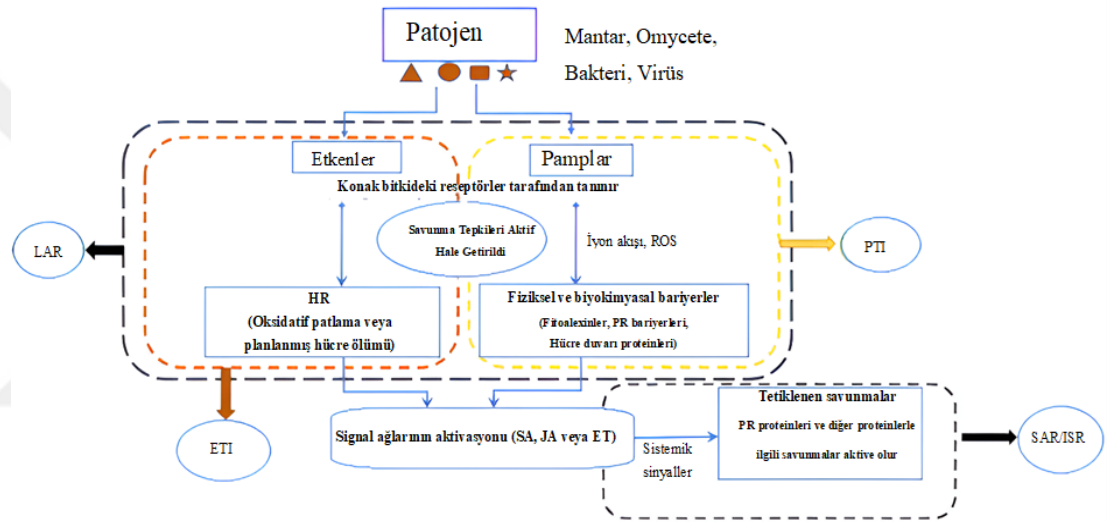
Tablo 1.3. PR proteinlerinin sınıflandırılması, fonksiyonları, hücre içi lokalizasyonları.

PR ailesi	Fonksiyonu	Hücre içi lokalizasyonu	Referans
PR-1	Antifungal ve antiviral aktiviteye sahip	Apoplast	Akbudak vd. 2020
PR-2	β -1-3-Glükonaz, Hücre duvarı (β -1,3-glükan)	Apoplast	Enoki ve Suzuki (2016), Boccardo vd. 2019
PR-3	Bitki hücre duvarı, kitinaz aktivitesi	Vakuol	Enoki ve Suzuki (2016)
PR-4	Hücre duvarı kitinaz, antifungal	Apoplast	Enoki ve Suzuki (2016)
PR-5	Thaumatococcus benzerlikler, antifungal aktivite	Apoplast, vakuol	Dos Santos & Franco, 2023, Midoro-Horiuti et al. (2001)
PR-6	Proteinaz inhibitörü, bakteriler, böcek ve mantarlara karşı aktivite	Apoplast, Vakuol	Rodríguez-Sifuentes vd. 2020, Kaur vd. 2020
PR-7	Endoproteaz, patojen hücre duvarının bozulması	Apoplast, Vakuol	Dos Santos & Franco, 2023, Irigoyen vd. 2020
PR-8	Kitinaz tip III, antibakteri ve antifungal aktivite	Apoplast, Vakuol	Kaur vd. 2023, Dos Santos & Franco, 2023
PR-9	Lignin oluşturuucu peroksidaz	Apoplast	Kaur vd. 2020, Midoro-Horiuti et al. (2001)
PR-10	Ribonukleaz, antifungal, antinematod aktivite, aşırı hassas reaksiyonlarda programlı hücre ölümü	Sitoplazma	Kaur vd. 2020, Dos Santos & Franco, 2023
PR-11	Kitin hidrolizi, tuz toleransı, antifungal aktivite	Apoplast, Vakuol	Kaur vd. 2020, Dos Santos & Franco, 2023
PR-12	Defensinler, antibakteri aktivite, bitki patojen etkileşiminde artan bolluk	Apoplast, Vakuol	Kaur vd. 2020, Dos Santos & Franco, 2023
PR-13	Tiyoninler, bakteriyel membran lizisi, çeşitli patojenlere karşı savunma	Apoplast, Vakuol	Farvardin et al. (2020), Kaur vd. 2020, Dos Santos & Franco, 2023
PR-14	Lipid transfer protein, savunma sinyal yolağına katılım	Apoplast	Enoki ve Suzuki (2016), Kaur vd. 2020,
PR-15	Oksalat oksidaz aktivitesi, hidrojen peroksid, patojen saldırılarında ROS salınımı	Apoplast	Kaur vd. 2020, Kaur vd. 2023
PR-16	Antimikrobiyal aktivite	Apoplast	Farvardin et al. (2020), Kaur vd. 2020, Dos Santos & Franco, 2023
PR-17	Proteolitik, antifungal ve antiviral aktivite	Vakuol	Dos Santos & Franco, 2023, Kaur vd. 2020
PR-18	Karbonhidrat özellikleri, antibakteri aktivite	Apoplast, Vakuol	Dos Santos & Franco, 2023, Kaur vd. 2020
PR-19	Antimikrobiyal aktivite	Apoplast	Dos Santos & Franco, 2023, Kaur vd. 2020

1.5.1. PR proteinlerinin aktivasyonu ve yanıt mekanizmaları

Patojene ilişkin proteinler (PR proteinleri), bitkilere saldıran patojenlere karşı ana savunma mekanizmalarının oluşumunda kritik bir öneme sahiptir. Bu proteinler, bitkinin patojen saldırılarına karşı savunmasında, enfeksiyon sırasında meydana gelen hasarların onarılmasında ve diğer stres faktörlerine yanıt vermesinde önemli bir rol oynar. Bir patojen saldırısının ardından, bitki öncelikli olarak koruyucu mekanizmalarını aktive eder; bunlar, patojene ilişkin moleküler modellerin

(PAMP'ler) tanınması yoluyla düzenlenen desen tetiklemeli bağışıklık (PTI) (Şekil 1.2.) ve efektör tetiklemeli bağışıklığı (ETI) içerir (Bigear d vd. 2015). PTI ve ETI, patojenlere karşı yapısal ve biyokimyasal bariyerler oluşturarak ve hipersensitif reaksiyonlar gibi savunma yanıtlarını teşvik ederek çalışır (Van Baarlen vd. 2007). Hem oksidatif stres hem de fiziksel ve biyokimyasal bariyerlerin (fitoaleksinler, hücre duvarı bileşenleri, PR proteinleri) sinyal yolları bitki hormonlarını (SA, JA, ET) aktive eder. Daha sonra, indüklenmiş PR proteinleri ve diğer savunma proteinleri aktive edilerek, metabolik değişimlerin koordineli ve entegre bir dizisiyle ilişkili olan sistemik edinilmiş direnç (SAR) ve indüklenmiş sistemik direnç (ISR) sağlanır (Van Loon, 1999).



Şekil 1.2. Savunma sisteminin patojenlere karşı aktivasyonunun genel görünümü ve PR proteinlerinin lokal ve sistemik indüklenmesi (Kaur vd. 2023'ten Türkçeleştirilmiştir).

1.6. Salatalık bitkisi (*Cucumis sativus* L.)

Salatalık, Himalayalar'ın güney eteklerinden köken alan kabakgiller (*Cucurbitaceae*) ailesine aittir (Naegle & Wehner, 2017). Coğrafi dağılımlarına göre salatalıklar, Hindistan, Avrasya, Doğu Asya ve Xishuangbanna gibi bölgelerde bulunan dört gruba ayrılmaktadır (Feng vd. 2020). Salatalıkların yaklaşık 3000 yıl önce Hindistan'da yetiştirildiği ve zamanla Batı Asya'ya, ardından Güney Avrupa'ya yayıldığı tahmin edilmektedir (Li vd. 2015). Modern dünyada salatalık bitkileri, ağırlıklı olarak tropikal ve sıcak bölgelerde yetiştirilmektedir (Zhang vd. 2021). Salatalık, 14 kromozoma sahiptir. Hem biyolojik hem de ekonomik açıdan çok önemli

bir sebze ürünüdür (Naegele & Wehner, 2017). Çeşitli organik ve inorganik bileşikler içeren salatalık, yüksek besin değerine sahiptir. Salatalık, çeşitli vitaminler, çözünebilen katı maddeler, proteinler ve demir, kalsiyum ve potasyum gibi besin maddeleri açısından zengindir (Li vd. 2015). Ayrıca, salatalığın tat kalitesi, uçucu bileşikler ve uçucu olmayan aroma maddeleri ile ilişkilidir (Malundo vd. 1995). Son yıllarda, çeşitli bitkilerin tatları ve aromaları üzerine pek çok deney yapılmış ve bu çalışmalar, salatalığın tadı ve benzer özelliklerinin iyileştirilmesine katkı sağlamıştır (Zhang vd. 2021). Salatalık, polisakaritler ve flavonoidler içerir, bu maddeler antioksidan aktivite göstererek normal fizyolojik süreçler sırasında ortaya çıkabilecek serbest radikalleri ortadan kaldırmaya yardımcı olur. Bu aktivite, insan bağışıklık sistemini güçlendirir ve yaşlanmayı geciktirir (Shi vd. 2010). Salatalıkta bulunan kukurbitasin C (cucurbitacin C), çeşitli tümörlerin çoğalmasını engeller ve karaciğer iltihabını önlemeye yardımcı olur (Yang vd. 2005). Salatalığın yabani türleri, sağlıkla ilgili farmasötik ürünlerde kullanılmaktadır (Qi vd. 2013). Salatalık, üç açıdan tanımlanabilir: Ticari değer, besin değeri ve tat kalitesi (Zhang vd. 2021). Ticari kalite, boyut, şekil, meyve diken özellikleri (renk, boyut, yoğunluk) ve meyve kabuğunun özellikleri (renk, çıkıntılar) gibi unsurları içerir (Wang vd. 2007 ve Lu vd. 2015). Meyvenin boyutu ve oluşumu, salatalık kalitesinin en önemli iki özelliğidir ve salatalık yetiştiren çiftçiler tarafından yüksek oranda tercih edilir. Salatalıkların dışsal özelliklerinin kalitesi, örneğin kabuk, diken rengi, yüzeydeki balmumu varlığı ya da yokluğu, dikenlerin sayısı, boyutu, dağılımı ve yoğunluğu, salatalık ihracat ve ithalatında önemli bir rol oynamaktadır (Lu vd. 2015). Salatalık üretimi sıralamasında Çin, küresel üretimin %54'ünü karşılamaktadır. Bu hızlı üretim, sadece salatalıklara olan yüksek talepten değil, aynı zamanda biyotik ve abiyotik faktörlere karşı dirençli yeni yüksek kaliteli çeşitlerin geliştirilmesinden kaynaklanmaktadır (Naegele & Wehner, 2017). Tablo 1.4. 'de dünyada en çok salatalık üreten 10 ülke ele alınmıştır. Çin 2018 ve 2022 yılları arasında en çok salatalık üreten ilk ülkedir ve 5 yıllık ortalama üretim (2018-2022 yılları arasında) 72639703.75 tondur. Ortalama üretimde Türkiye 1904498.6 tonla ikinci sırada, Rusya 1631248.53 tonla dünya üzerinde 3. en büyük salatalık üretimine sahip ülkedir (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO, 2024).

Tablo 1.4. 2018 ve 2022 yılları arasındaki salatalık tarımı üretim miktarı

Bölge/Ülke	Yıllar	Hasat edilen alan (h)	Yıllık üretim (t)	5 yıllık ortalama üretim (t)
Dünya	2018	2.128.731	8.497.410.918	90.248.988.14
	2019	2.165.145	8.819.385.721	
	2020	2.153.402	9.074.518.385	
	2021	2.161.283	9.261.339.391	
	2022	2.174.347	9.471.839.655	
Çin	2018	1.242.030	6.765.505.252	72639703.75
	2019	1.260.360	7.038.990.027	
	2020	1.280.062	7.298.124.605	
	2021	1.287.062	748.650.211	
	2022	1.311.461	773.072.988	
Türkiye	2018	35.697	1.890.904	1904498.6
	2019	36.018	1.916.645	
	2020	26.048	1.886.239	
	2021	25.930	1.890.160	
	2022	35.333	1.938.545	
Rusya	2018	42.830	1.604.346	1631248.53
	2019	40.851	1.626.412	
	2020	40.029	16.869.755	
	2021	36.434	1.602.606	
	2022	36.506	163.590.313	
Meksika	2018	19.597	107.204.761	1108159.7
	2019	16.008	11.916.079	
	2020	15.742	115.993.369	
	2021	18.102	103.899.886	
	2022	19.123	107.821.046	
Ukrayna	2018	49.500	1.079.960	987474
	2019	52.100	1.034.170	
	2020	54.100	1.012.530	
	2021	53.300	985.120	
	2022	45.100	825.590	
Özbekistan	2018	23.077	857.076	863937
	2019	23.580	855.058	
	2020	23.993	812.728	
	2021	25.616	890.433	
	2022	27.489	904.390	
İspanya	2018	7.500	643.660	738724
	2019	7.420	739.200	
	2020	7.730	794.880	
	2021	7.720	745.910	
	2022	8.010	769.970	

Amerika	2018	44880	700820	635382.6
	2019	40792	670251	
	2020	37029	567245	
	2021	36544	642967	
	2022	33792	595630	
Japonya	2018	10600	550000	547440
	2019	10300	548100	
	2020	10100	539200	
	2021	9940	551300	
	2022	9770	548600	
Kazakistan	2018	20120	460109.8	528687.66
	2019	21048	494671	
	2020	22078	537774.9	
	2021	23191	582134.5	
	2022	22970	568748.1	

h: hektar, t: ton

2. LİTERATÜR TARAMASI

Patojenle ilişkili PR-1 proteinleri daha önce birçok araştırmacı tarafından farklı bitkiler üzerinde *in-silico* analiz yöntemiyle incelenmiştir. Bu çalışmalar doğrultusunda PR-1 genlerinin/proteinlerin spesifik bitki üzerinde belirlenmesi, proteinleri oluşturan amino asit dizileri, korunmuş motifleri, filogenetik analizleri, proteinlerin 2D ve 3D yapıları, proteinlerin hücrede lokalizasyonları, farklı PR-1 proteinlerinin ekzon uzunlukları/sayıları, domainleri, moleküler ağırlıkları, pI ve PPS gibi fizikokimyasal özellikleri vs. araştırılmıştır. Daha önceler, PR-1 proteinlerinin farklı bitkiler üzerinde ve aynı zamanda bu bitkilere enfekte olan ve daha önemli ölçüde hasara neden olan, mahsul kaybına yol açan abiyotik ve biyotik faktörler işlenmiştir. PR-1 proteinlerinin önemi onların abiyotik ve biyotik streslerin bitki üzerinde etkisi sırasında aktivasyonlarıyla karakterize olunur. PR-1 proteinlerin aktivasyonu ve aynı zamanda diğer sinyal yollarını aktive etmesi bitki patojen etkileşimi sırasında çok önemli bir noktaya sahiptir ve bu etkileşimler, etkileşim sırasında karşı cevap reaksiyonları, reaksiyonlar sırasında ortaya çıkan mekanizmalar, PR-1 proteinlerinin fizikokimyasal özellikleri, proteinlerin yapısal formasyonları çok önemli hususlara sahiptir. Bu ayrıca, gelecekte bitki patojenlerine karşı efektif ve uzun zamanlı olarak kullanılabileceğimiz yöntemlerin hazırlanmasında, patojenlere karşı dirençli bitki türlerinin yetiştirilmesinde, genetik mühendislikte ve birçok alanlarda kullanılmaktadır ve gelecekte de kullanılması beklenmektedir. Akbudak vd. 2020' PR-1 genlerinin/proteinlerin *in-silico* analizleri vasıtasıyla daha önce domates bitkisinde (*Solanum lycopersium*), Javed ve ark. 2024', şeker kamışında (*Saccharum officinarum*), Yin ve ark. 2023' tarafından kabuksuz arpada (*Hordeum vulgare L. var. nudum*), Kattupalli ve ark. 2021' tarafından kara biber (*Piper nigrum*), Zribi vd. 2023' tarafından makarnalık durum buğdayında (*Triticum durum*) PR-1 proteinlerinin *in-silico* analizlerini yapmışlardır. Domates, şeker kamışı, kabuksuz arpa, kara biber, makarnalık buğday bitkilerinde yapılmış *in-silico* analizlerinde domates bitkisinde 13 tane *SlPR-1* proteinlerini kodlayan genler, şeker kamışında 18 tane *SsPR1*, kabuksuz arpada 20 tane *HvnPR-1* proteinleri, kara biberde 11 tane *PnPR-1*, makarnalık buğdayda 12 tane *TdPR-1* proteinleri çalışılmıştır. Tüm proteinlerin *in-silico*

analizlerinde örnek bitki olarak *Aradiopsis thaliana* kullanılmıştır. Bu bitkinin daha önceler çeşitli şekilde araştırılması ve hakkında daha çok bilgi olduğu ve daha kolaylıkla bulunduğu için bu tür biyoinformatik analizlerde kıyaslamalı aynı zamanda dayanak olarak kullanılmaktadır.

Domates bitkisinde 2020 yılında yürütülen çalışmada bitkide bulunan PR-1 proteinlerinin çevresel bilgi işlemlerinde işlev gördüğü ortaya çıkmıştır. PR-1 proteinlerin hem abiyotik (kuraklık) hem de biyotik faktörler sırasında (*Fusarium oxysporum*) ayrıca diğer fizyolojik parametrelerin stres faktörlerine karşı hassas ve dirençli olduğu araştırılmıştır. Domates bitkisinin kuraklık stresi zamanı SIPR-1 proteinleri yukarı regülasyona yol açarak 50 kata kadar ulaşmıştır. Bu da domates bitkisinin kuraklık koşulları altında strese karşı cevap verdiğini ve bitkini strese karşı korunduğunu göstermektedir. PR-1 proteinlerinin *in-slico* analizleri yapıldıktan sonra tüm SIPR-1 proteinlerinin CAP süper ailesini içerdiği belirlendi. Bu araştırma domates bitkisinin kuraklık stresi altında yapılan ve proteinlerin ekspresyon düzeylerinin araştırılmasında olan ilk çalışmadır. Ve bu çalışmada tüm SIPR-1 proteinlerin hem *Fusariuma* karşı hassas hem de dayanıklı olan çeşitlerinin yukarı regüle olduğu bulunmuştur. Ve PR-1 proteinlerinin hem abiyotik hem de biyotik streslere karşı efektif olduğu için PR-1 proteinlerini daha dirençli bitki türlerinin yetiştirilmesinde moleküler marker olarak kullanılması mümkündür. SIPR-1 proteinleri çevresel bilgilerin işlenmesinde, bitki hormon sinyal yollarında, bitki patojen etkileşimi gibi fonksiyonları desteklenmiştir (Akbudak vd. 2020).

Şeker kamışında 2024 yılında yürütülen çalışmada bitkinin *Ustilago scitaminea* patojen enfeksiyonuna karşı gen ekspresyonları ve SsnPR1 proteinlerinin bu biyotik strese karşı verdiği yanıt araştırılmıştır. Ele alınmış toplam 18 tane PR-1 proteinin tüm geni tanımlandı ve 4 grupta kategorize edilmiştir. SsnPR1 genlerinde/proteinlerinde fizikokimyasal özellikler sergilendi ve özellikle 4 SsnPR1 proteinlerinin çok güçlü protein-protein etkileşim ağı halinde olduğu bulunmuştur. 3 SsnPR-1 proteinlerinin transkript ekspresyonlarına bakıldığında dirençli çeşitlerde (Zhongtang3) 1.2-2.6 kat yukarı doğru (regüle) olduğu görülmüştür. Bunun aksine hassas (ROC22) çeşitte aşağı regüle olduğu görüldü. Sonuç olarak toplam araştırılmış 18 tane PR-1 proteininin 3'ü pozitif düzenleyici rolünü, 1 PR-1 proteini bunun aksine negatif düzenleyici olduğu bulunmuştur (Javed ve ark. 2024).

Kabuksuz arpa bitkisinde (*Hordeum vulgare* L. var. *nudum*) toplam araştırılmış 20 PR-1 proteinlerinin tahmini lokalizasyonları belirlenmiş ve proteinlerin hepsinin periplazmik veya hücre dışı olarak lokalize olacağı görülmüştür. Ayrıca tüm PR-1 proteinlerinde CAP domainin yüksek korunaklı halde olduğu tasdik edilmiştir. Gen yapısal analizinde kabuksuz arpa bitkisinde araştırılmış toplam 20 PR-1 proteinlerinin 16 tanesinin hiç intron içermediği, halbuki geri kalan 4 tane PR-1 genleri 1 ve 4 arasında intron içerdiği belirlenmiştir. Ekspresyon analizlerinde PR-1 proteinlerinin kütleme gibi mantar enfeksiyonlarında, fitohormonlar ve soğuk uyarısı tarafından güçlü ve hızlı bir şekilde tetiklendiği ortaya çıkarıldı (Yin ve ark. 2023).

Kara biber (*Piper Nigrum*) bitkisinde yürütülmüş PR-1 proteinlerinin *in-silico* çalışmalarında da PR-1 proteinlerinin CAP süper ailesine ait olduğu ve bu ailenin kaveolin bağlama motifi (CBM) ve 1 CAP türevli peptit içerdiği saptandı. Kara biber bitkisinde 2. ve 3. protein yapı analizi yapıldıktan sonra bu proteinlerin kara biber bitkisinde fonksiyonel olarak işlevsel bir rolle bağlantılı olduğu tahmin edildi. GO ve KEGG analizleri PR-1 proteinlerinin bitki patojen etkileşiminde proteinlerin bitki savunma cevaplarında önemli bir rol üstendiği de ayrıca tahmin edildi. PR-1 proteinleri üzerinde yapılan analizde bu proteinlerin bazılarının yukarı regüle olduğu belirlendi. *İn-silico* analizleri fitohormonlara duyarlı transkripsiyon aktivatörleri gibi cis düzenleyici unsurları da ortaya çıkarmıştır. Kara biber PR-1 proteinleri üzerinde derinlemesine fonksiyonel çalışmalar promotör cis düzenleyici unsurlar ve patojen spesifik efektörler kara biber bitkisinin *Phytophthora* gibi enfeksiyonlara karşı hassaslık ve dirençlilik mekanizmalarını kesin olarak sağlayabilir (Kattupalli ve ark. 2021).

Makarnalık buğday bitkisinde 2023 yılında yürütülmüş çalışmada ele alınmış 12 PR-1 genlerinin filogenetik analizleri yapıldı ve bu analizlerde PR-1 genleri onların izoelektrik noktaları ve korunmuş motif domainlerine dayanarak 3 gruba sınıflandırıldı. TdPR-1 proteinlerinin çoğunun N-terminal sinyali sunduğu da görüldü. Bu çalışmalar doğrultusunda PR-1 proteinlerin bitki büyüme düzenlenmesinde, gelişiminde, bitkinin biyotik ve abiyotik streslere karşı yanıt vermesi bir daha tasdiklendi. Gen yapısı, korunmuş motifler, fizikokimyasal özelliklerin bulunmasından sonra TdPR-1 proteinlerinin yüksek korunmuş yapılardan oluştuğu belirlenmiştir. Ek olarak, sayısız cis düzenleyicilerin yukarı ve aşağı regüle olması

buğday bitkisinin streslere yanıt vermesi, hormonal ve büyüme değişikliklerinde rol oynaması tespit edilmiştir (Zribi vd. 2023).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. PR1 gen/protein dizilerinin salatalık (*Cucumis sativus* L.) genomunda belirlenmesi

Salatalık genomunda yer alan PR1 genlerinin belirlenebilmesi için, *Arabidopsis thaliana* bitkisine ait verifiye edilmiş PR-1 genlerine ait PR1 protein dizileri NCBI Uniprot veri tabanından (<https://www.uniprot.org/>) Q9ZNS4 ve P33154 erişim numaraları ile indirilerek Phytozome veri tabanında (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) *Cucumis sativus* v1.0 genomunda PR-1 genlerinin tespiti için blastn algoritmasıyla kullanılmıştır (Akbudak vd. 2020). Genlere ait genomik dizi, CDS, transkript dizisi ve protein dizileri belirlenmiştir. Karşılaştırmalı analizler için *A. thaliana*, domates (*Solanum lycopersicum*), pirinç (*Oryza sativa*) ve diğer bazı bitkilerin *PR-1* genlerine ait protein dizileri de indirilmiştir.

3.2. *CsPR1* genlerinin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi

Genlerin promotör bölgelerinde yer alan cis-acting elementler ve bu elementlere bağlanan regülatör transkripsiyon faktörlerinin belirlenmesi için *PR-1* genlerinin +3000 öncesindeki diziler toplanarak, bu dizilerin PlantCARE web sunucusunda (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) analiz edilerek tahmin edilmiştir (Lescot ve ark. 2002). Genlerin salatalık kromozomları üzerindeki dağılımlarını tespit etmek amacıyla, *CsPR1* protein dizileri Ensembl Plants veri bankasında blastp opsiyonuyla aranarak, %100 ID değerine ulaşan proteinlerin kromozom ve pozisyon bilgileri elde edilmiştir. Elde edilen bilgiler kullanılarak Ritchie Lab Visuallization PhenoGram Plot çevrim içi aracı (<https://visualization.ritchielab.org/phenograms/plot>) kullanılarak *CsPR1* proteinlerinin kromozom dağılımları görüntüsü elde edilmiştir (Wolfe ve ak., 2013).

3.3. *CsPR1* proteinlerinin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi

PR-1 proteinlerinin uzunlukları (bp), izoelektrik noktaları (pI), moleküler ağırlıkları (kDa), GRAVY puanları gibi fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ExPASy veri bankasına ait ProtParam web aracı (<https://web.expasy.org/protparam/>) ile yapılmıştır. PR-1 proteinlerinde yer alan domain analizleri EMBL-EBI konsorsiyumuna ait InterPro web aracı (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Blum ve ark. 2025). Nükleik asit dizileri kullanılarak, Gene Structure Display Server v2.0 (GSDS v2.0, <https://gsds.gao-lab.org/>) web aracı ile ekson intron yapı analizi yapılmıştır (Hu vd. 2015). Proteinlerde bulunan fosforilasyon sitelerini bulmak için NetPhos 3.1 web aracı kullanılmıştır (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/NetPhos-3.1/>). Fosforilasyon siteleri için 0.50 üstü fosforilasyon potansiyeli gösteren bölgeler seçilerek sonuçlarda ifade edilmiştir (Blom vd. 2004). Elde edilen proteinlerin anotasyonu PANNZER2 sunucusunda analiz edilerek (<http://ekhidna2.biocenter.helsinki.fi/sanspanz/>) hesaplanmıştır (Törönen ve Holm. 2018). Hücre içi lokalizasyonlar BUSCA (Bologna Unified Subcellular Component Annotator) (<http://busca.biocomp.unibo.it>) (Savojardo vd. 2018), ve Cello v.2.5 subCELLular LOcalization predictor (cello.life.nctu.edu.tw) (Yu vd. 2004) çevrimiçi sunucuları kullanılarak tamamlanmıştır. PR-1 protein dizilerinin karşılıklı özdeşlik oranları, NCBI web portalındaki BlastP aracı (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) kullanılarak hesaplanmıştır.

Veri tabanında belirlenen proteinlerin ve genlerin hizalanması için (alignment), BioEdit version 7.2.5 yazılımı kullanılmıştır (Hall, 1999). Proteinlerin konrunmuş motifleri MEME (Multiple Em for Motif Elicitation) web v5.5.4 aracı kullanılarak tahmin edilmiştir. Motif tahmininde klasik mod kullanılarak önce 10 motife kadar 6-50 aminosit genişliğinde tarama yapılmış sonrasında çıkan sonuçlara göre kara verilerek motif arama sayısı 6 ya düşürülerek tanımlama işlemleri tamamlanmıştır (Bailey ve ark, 2009).

CsPR-1 proteinlerinin benzerlikleri ve filogenetik ilişkileri Mega V11 yazılımları kullanılarak analiz edilmiştir. Proteinlerin dizi benzerliğinin analizi amacıyla Neighbour Joining (NJ) metodu 1000 bootstrap testi ile kullanılmıştır. *CsPR1* proteinlerinin filogenetik ilişkilerini analiz etmek amacıyla NCBI web portalından Uniprot veri bankasından çeşitli önemli bitkilere ait PR-1 proteinleri

seçilerek elde edilmiştir. Bu proteinler ile beraber CsPR1 proteinleri bir araya getirilmiş, hizalama işleminden sonra Maksimum Likelihood (ML) yöntemi 1000 bootstrap testiyle beraber kullanılmıştır.

3.4. CsPR1 proteinlerinin ikincil ve üçüncül yapılarının incelenmesi

CsPR1 proteinlerinin ikincil (sekonder) ve üçüncül (tersiyer) yapıları Phyre2.2 ve Goggle AlphoFold Server web sunucuları kullanılarak üretilmiş ve analiz edilmiştir. Güvenilirlik ve kapsama oranları, konformasyonel yapılar (alfa sarmalı, beta yaprağı, TM sarmalı ve düzensiz yapılar) gibi veriler elde edilmiştir. Proteinlerin yüzey topografik yapılarının analizi için CASTp V3.0 veri sunucusu (Computed Atlas of Surface Topography of Proteins) (<http://sts.bioe.uic.edu/castp/index.html?2r7g>) kullanılmıştır (Tian vd. 2018). Proteinlerin N bağlantılı glikolizasyon bölgeleri NetNGlyc V1.0 veri tabanı kullanılarak tahmin edilmiştir (Gupta ve brunak, 2002).

3.5. CsPR1 proteinlerinin protein-protein interaksiyonlarının belirlenmesi

CsPR1 proteinlerinin, diğer proteinlerle gerçekleştirdiği interaksiyonlarının belirlenmesi amacıyla String version 12.0 veri bankası kullanılmıştır (Szkarczyk ve ark. 2023). Bu amaçla CsPR1/4, CsPR1/8, ve CsPR1/11 protein dizileri veri bankasında arama fonksiyonunda kullanılarak interaksiyonlar belirlenmiştir. İnteraksiyonlar için *C. sativus* dizilerine karşı yapılan aramada benzerlik düzeyi en yüksek olan sonuç seçilerek, orta güvenilirlik opsiyonu ile interaksiyonlar belirlenerek görselleştirilmiştir. CsPR1/4 ve CsPR1/11 proteinleri için birinci kabuk 10, ikinci kabuk için ise 0 protein seçilmiştir. CsPR1/8 proteini için ise ilk kabukta, ikinci kabukta yine 10 protein seçilmiştir.

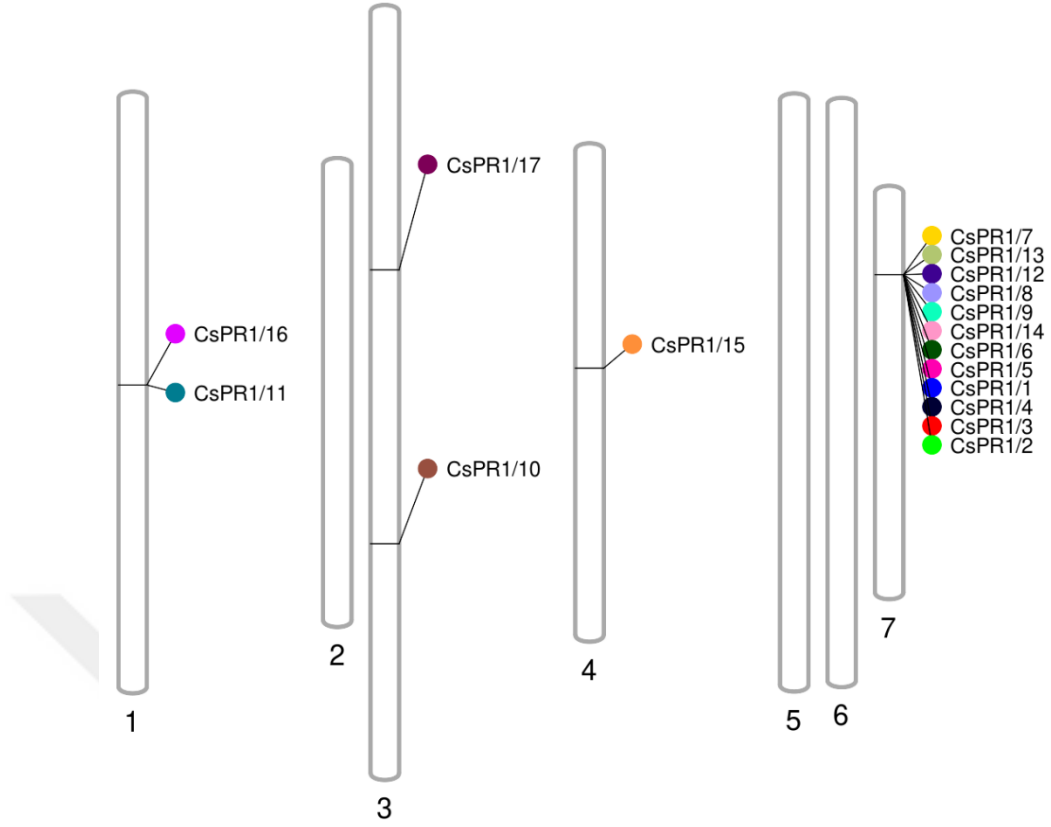
4. BULGULAR

4.1. Genlerin belirlenmesi

Salatalık (*Cucumis Sativus* L.) genomunda yer alan PR-1 genlerinin belirlenebilmesi için daha önce literatürde tanımlanmış olan *Arabidopsis* genomunda yer alan *PR-1* gen dizileri Phytozome veri tabanında blastp opsiyonuyla aranarak 17 adet *PR-1* geni saptanmıştır. Phytozome veri bankasından elde edilen peptit dizileri kullanılarak, proteinlere ait fizikokimyasal özellikler değişik çevrim içi veri bankası ve araçlar kullanılarak belirlenmiş ve Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Yapılan domain analizinde, tüm PR-1 proteinlerin/genlerinin tamamı CAP süper ailesi domain alanlarını (IPR001283, IPR034113) içermektedir. CsPR-1 proteinlerinin amino asit dizilerinin uzunluklarına bakıldığında 135 ile 190 arasında değişmektedir. Proteinlerin moleküler ağırlıkları incelendiğinde 16,854 ile 21,436 kDa aralığında değiştiği gözlenmiştir. PR proteinleri genel olarak 6-43 kDa arasında olduğu tespit edilmiştir. PR proteinleri termostabil, proteazlara dirençli, düşük PH’ta (<3) çözünebilir proteinler olduğu belirlenmiştir (Van Loon vd. 1994). İzoelektrik noktalara bakıldığında PR-1 proteinlerin 4,69 ile 9,59 arasında değiştiği gözlenmiştir. İzoelektrik nokta, bir proteinin net elektriksel yükünün sıfır olduğu pH değeridir. İzoelektrik noktaları bakımından bitki türünden türüne, proteinlerden proteinlere bu veriler değişmektedir. PR-1 proteinlerinin diğer fizikokimyasal özelliği GRAVY puanıdır. CsPR-1 proteinlerinin GRAVY puanları -0.839 ile -0.053 arasında değişmektedir.

Salatalık genomunda yer alan *CsPR1* genlerinin bitki kromozomları üzerinde dağılımı incelendiğinde salatalık bitkisinde 7 çift kromozom çifti üzerinde, 1. 3. ve özellikle 7. Kromozom üzerinde yer aldığı tespit edilmiştir. Genlerin kromozomlar üzerindeki dağılımı Şekil 4.1.’de sunulmuştur.



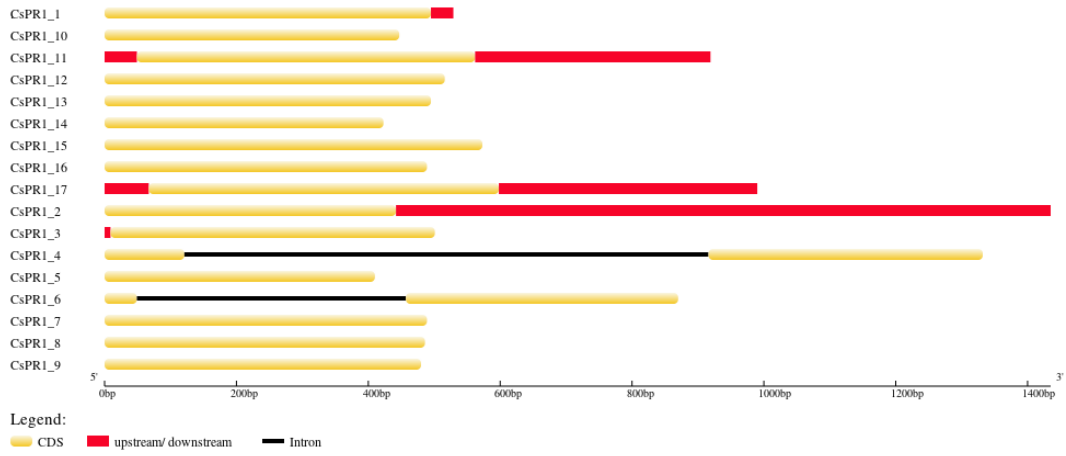
Şekil 4.1. *CsPR1* genlerinin salatalık genomundaki dağılımları.

Genlerin kromozomlar üzerindeki dağılımına bakıldığında 2., 5. ve 6. kromozomlar üzerinde *CsPR1* geni bulunmazken, 1. kromozomda *CsPR1/11* ve *CsPR1/16* çok yakın konumda yer alırken, *CsPR1/10* ve *CsPR1/17* 3. Kromozom üzerinde farklı alanlarda yer almıştır. *CsPR1/15* 4. kromozom üzerinde tek başına yer almıştır. Son kromozom olan 7. kromozom üzerinde *CsPR1/1*, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13 ve 14 yer almıştır. Bu genler 7. kromozom üzerinde aynı bölgede örtüşen bir şekilde yoğunlaşmaları dizi benzerliğinin yüksek olması sebebiyle gerçekleştiği, aynı genin varyantı olmalarından kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir. Ayrıca genlerin aynı bölgede kümelenmesi, gen regülasyonları açısından avantaj sağlayabilmektedir (Razin vd. 2021).

Tablo 4.1. *C. Sativus* genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin karakteristik özellikleri (F: forward, ileri; R: Reverse, geri).

Protein	Phytozome Erişim Numarası	Scaffold No Konumu Yönü	Ekson sayısı	Uzunluk (aa)	Interpro domain	Moleküler ağırlığı (kDa)	pI	GRAVY	PPS
CsPR1/1	Cucsa.218970.1	01658: 857531 - 858060 F	1	164	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	18.064	4.69	-0.124	11
CsPR1/2	Cucsa.219000.1	01658: 867551 - 868986 F	1	149	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	16.854	9.59	-0.487	10
CsPR1/3	Cucsa.218980.1	01658: 860460 - 860961 F	1	163	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	18.215	8.95	-0.369	13
CsPR1/4	Cucsa.218960.1	01658: 854687 - 856019 F	2	178	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	19.540	5.87	-0.306	14
CsPR1/5	Cucsa.218950.1	01658: 845997 - 846407 F	1	135	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	15.093	5.7	-0.632	13
CsPR1/6	Cucsa.218940.1	01658: 842082 - 842952 F	2	153	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	17.200	5.65	-0.712	19
CsPR1/7	Cucsa.218880.1	01658: 826547 - 827036 F	1	162	CAP_PR-1 / IPR001283/ IPR034113	18.305	8.19	-0.307	14
CsPR1/8	Cucsa.218910.1	01658: 834083 - 834569 F	1	161	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	18.050	5.04	-0.355	19
CsPR1/9	Cucsa.218920.1	01658: 836425 - 836905 F	1	159	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	17.512	7.57	-0.121	14
CsPR1/10	Cucsa.307450.1	02977: 575331 - 575778 R	1	148	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	17.280	7.65	-0.745	11
CsPR1/11	Cucsa.092230.1	00905: 158700 - 159619 R	1	170	CAP_PR-1 / IPR001283/ IPR034113	19.277	9.41	-0.288	17
CsPR1/12	Cucsa.218900.1	01658: 830891 - 831407 F	1	171	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	18.724	5.89	-0.278	21
CsPR1/13	Cucsa.218890.1	01658: 828808 - 829303 F	1	164	CAP_PR-1 / IPR001283/ IPR034113	18.390	5.32	-0.252	14
CsPR1/14	Cucsa.218930.1	01658: 839692 - 840115 F	1	140	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	15.481	5.65	-0.346	16
CsPR1/15	Cucsa.065770.1	00696: 420686 - 421259 R	1	190	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	21.436	9.72	-0.839	21
CsPR1/16	Cucsa.092220.1	00905: 155209 - 155698 F	1	162	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	18.794	5.92	-0.516	10
CsPR1/17	Cucsa.366620.1	03625: 189212 - 190202 R	1	176	CAP_PR-1/ IPR001283/ IPR034113	19.252	7.6	-0.053	13

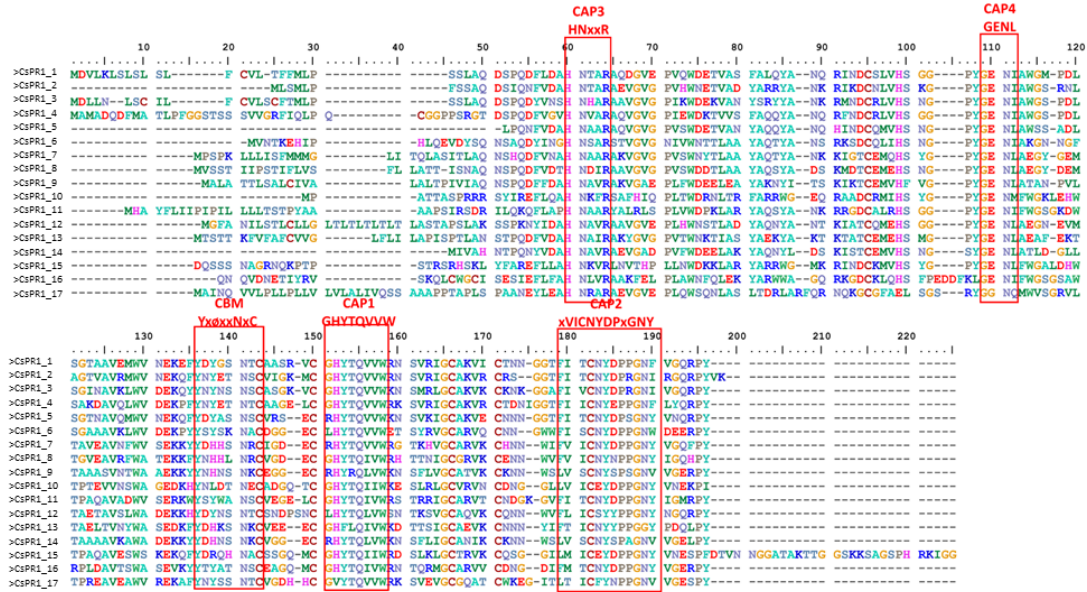
Salatalık genomunda yer alan PR-1 proteinleri ekson-intron açısından analiz edilerek elde edilen sonuçlar Şekil 4.2.'de sunulmuştur.



Şekil 4.2. *C. Sativus* genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin ekson – intron genomik yapı analizi.

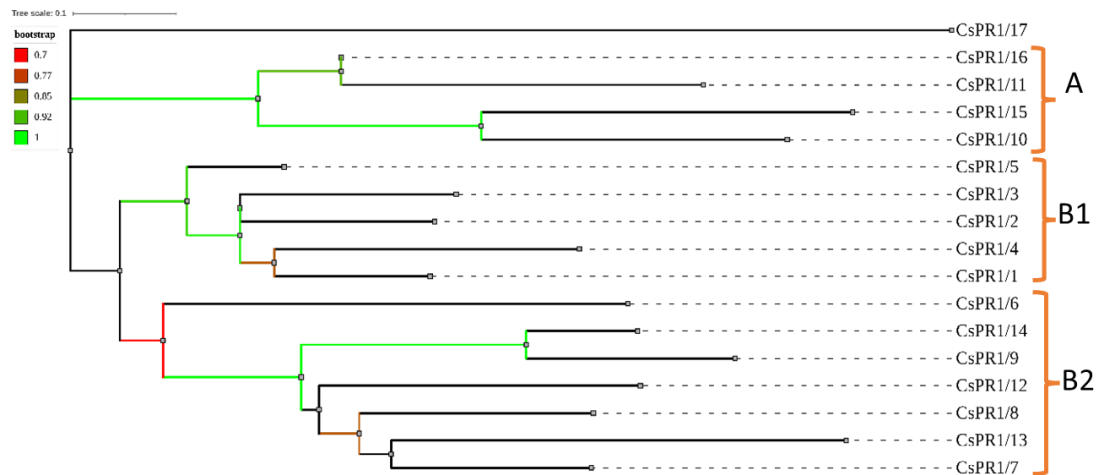
Ekson-intron yapıları incelendiğinde *CsPR1/4* ve *CsPR1/6* genlerinin iki ekson taşırken kalan diğer genlerin tümünde tek ekson bulunduğu gözlenmiştir. Bununla beraber dizi analizi *CsPR1/1*, *CsPR1/2*, *CsPR1/11* ve *CsPR1/17* genlerinde üst bölge (upstream) ve alt bölge (downstream) dizilerinin gen dizileri içinde verildiği ve bu durumun bu gen dizilerinde manuel kürasyon yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

Protein dizilerinin Bioedit yazılımıyla elde edilmiş ClustalW tabanlı hizalaması Şekil 4.3.' de gösterilmiştir. Yapılan hizalama sonrasında Han vd. (2022) yaptığı çalışmada belirttiği kritik bölgeler Şekil 4.3.'te hizalama üzerine gösterilmiştir.



Şekil 4.3. *C. Sativus* genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin aminoasit dizilerinin hizalaması.

Protein dizileri karşılaştırılarak bir uzaklık MEGA matrisi oluşturulmuştur. Bu matrise göre uzaklığın en düşük (0.309) olduğu proteinlerin CsPR1/9 ve CsPR1/14 proteinleri olduğu; en yüksek uzaklık değeri ise CsPR1/13 ile CsPR1/16 proteinleri (1.704) ve CsPR1/13 ile CsPR1/17 proteinleri (1.701) arasında olduğu gözlenmiştir. Proteinlere ait aminoasit dizilerinin NJ tabanlı karşılaştırılması yapılarak bir filogenetik ağaç oluşturulmuş ve Şekil 4.4.'te sunulmuştur.



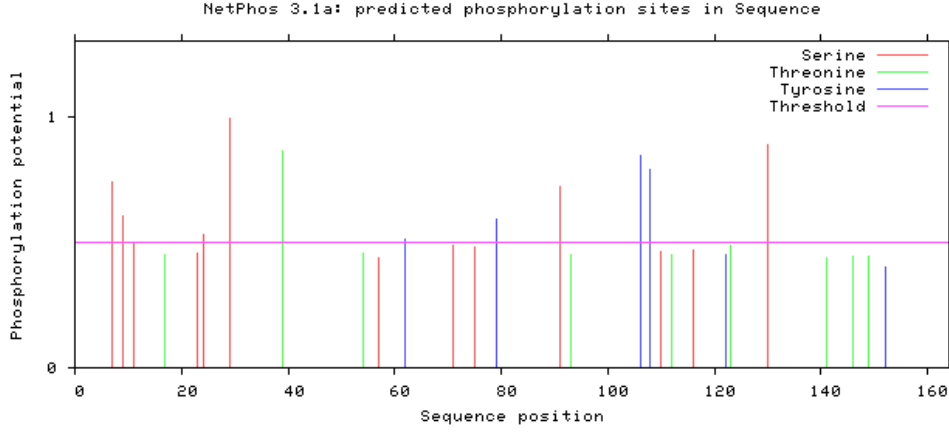
Şekil 4.4. *C. Sativus* genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin NJ bazlı filogenetik analizi.

Elde edilen ağaç incelendiğinde proteinler A ve B olarak isimlendirilen iki ana gruba ayrılırken CsPR1/17 proteinini diğer proteinlerden ayrılmıştır. Elde edilen bu gruplar incelendiğinde CsPR1/10, CsPR1/11, CsPR1/15 ve CsPR1/16 proteinleri A grubunda toplanırken, alt grup B1’de CsPR1/1, CsPR1/2, CsPR1/3, CsPR1/4 ve CsPR1/5 proteinleri, geri kalan proteinler ise alt grup B2’de toplanmıştır.

Tablo 4.2. *C. Sativus* genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin hücre içi konumları. (extr: hücre dışı; nucl:çekirde chlo:kloroplast; mito:mitokondri; lyso:lizozom).

Protein	BUSCA	Cello
CsPR1/1	extr	extr
CsPR1/2	extr	extr
CsPR1/3	extr	extr
CsPR1/4	extr	extr
CsPR1/5	extr	extr
CsPR1/6	nucl	extr
CsPR1/7	extr	extr
CsPR1/8	extr	extr
CsPR1/9	extr	extr
CsPR1/10	chlo	mito, extr
CsPR1/11	extr	extr
CsPR1/12	extr	extr
CsPR1/13	extr	extr
CsPR1/14	nucl	extr
CsPR1/15	chlo	mito, nucl
CsPR1/16	nucl	extr, lyso
CsPR1/17	extr	extr

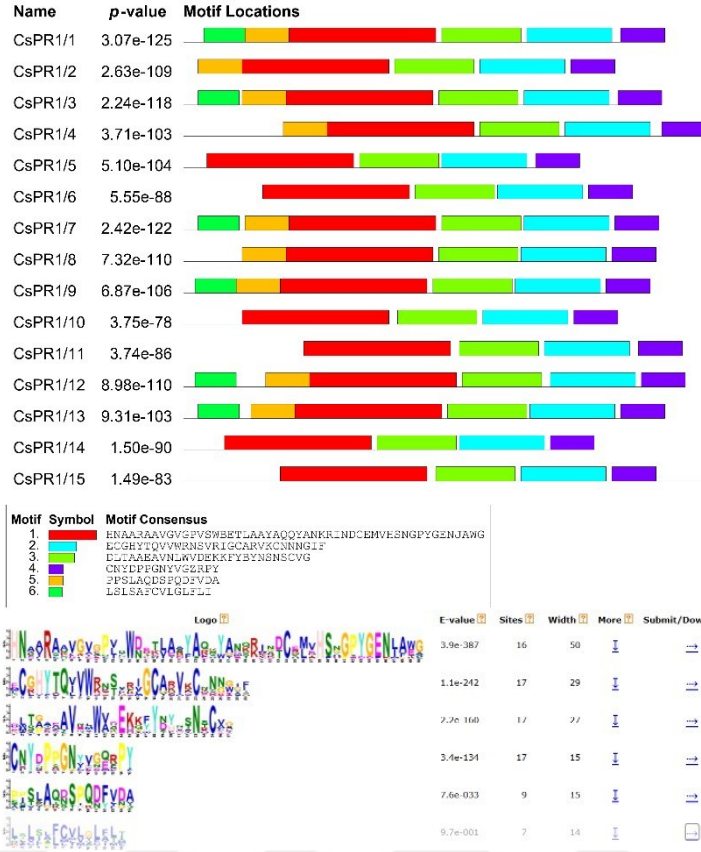
Salatalık bitkisinde bulunan 17 PR-1 proteinlerinin hücre içi konumlarına göre 2 farklı veri tabanında incelenmiştir. Busca verilerine esasen, CsPR-1 proteinlerinin çoğunluğu hücre dışı boşlukta konumlandığı tespit edilmiştir (Tablo 4.2.). Hücre dışı ortamda konumlanan 12 protein ile, bu proteinlerin dışında kalan CsPR1/6, CsPR1/14, CsPR1/16 proteinleri çekirdekte, CsPR1/10 ve CsPR1/15 proteinleri ise kloroplastta konumlandığı tahmin edilmiştir. Cello verilerine bakıldığında, proteinlerin aynı Busca verilerinde olduğu gibi daha çok hücre dışı boşlukta konumlandığı tahmin edilmiştir. Fakat CsPR1/10 hem mitokondri hem de hücre dışı boşlukta, CsPR1/15 hem mitokondri hem de çekirdekte, CsPR1/16 hem hücre dışı boşlukta hem de lizozomda konumlanabileceği tahmin edilmektedir.



Şekil 4.5. CsPR1/1 proteinine ait tahmini fosforilasyon bölgeleri.

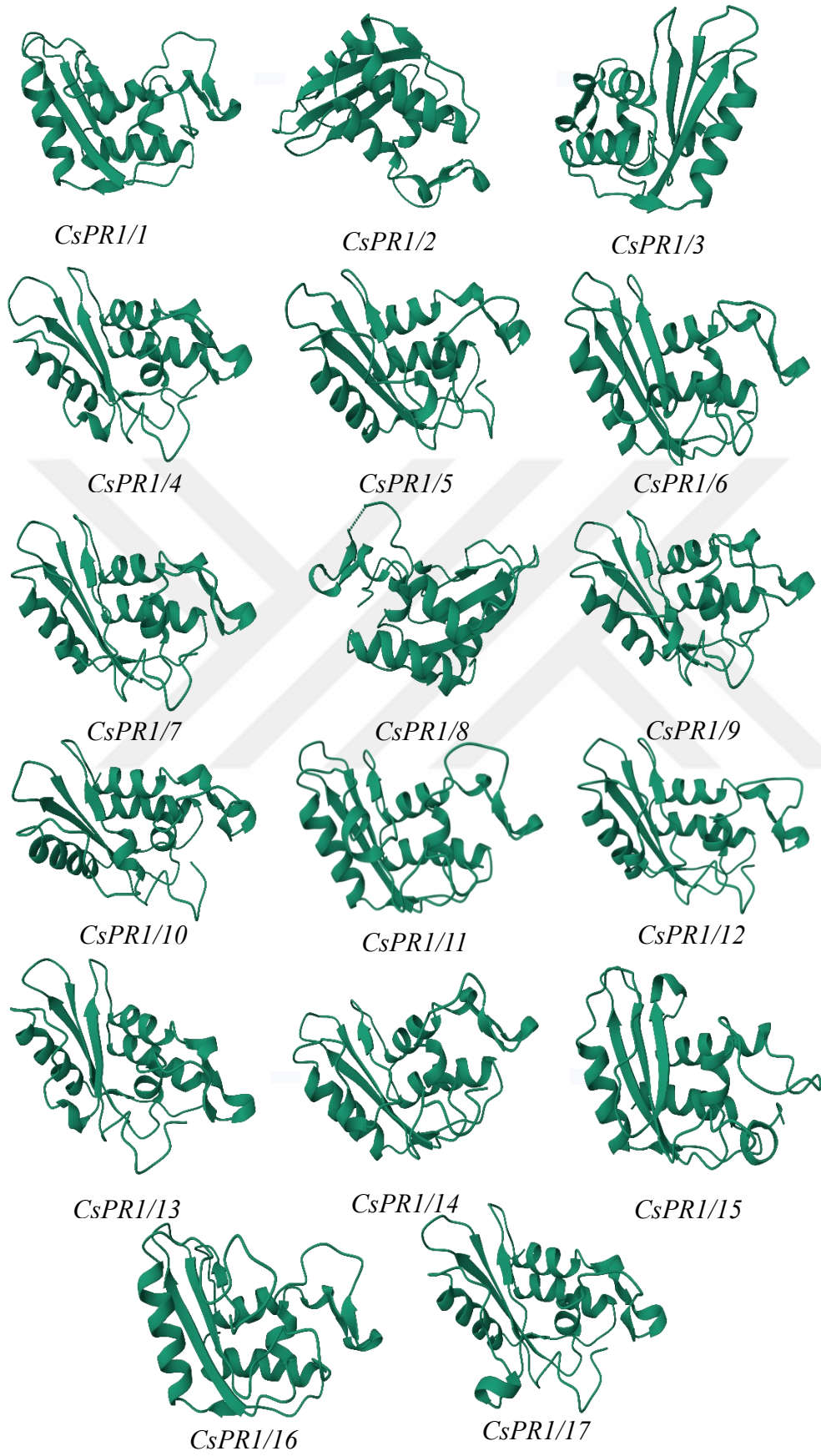
Fizikokimyasal özelliklerden biri olan tahmini fosforilasyon bölgesi sayısının (PPS) PR-1 proteinlerinde analiz edildiğinde 10 ile 21 arasında değiştiği gözlenmiştir.

Proteinlerde korunmuş motifler, genellikle evrimsel önemi ve işlevsel kısıtlamaları ifade ettiklerinden, yapılarını ve işlevlerini anlamak için kritik öneme sahiptir (Yang vd. 2018). Salatalık genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin korunmuş motifleri analizinde 10 motifle arama yapılmış buna göre korunmuş motif sayısı 6 motif olarak belirlenmiştir. Belirlenen motifler Şekil 4.6.'te sunulmuştur. Bu motifler incelendiğinde, CsPR1/1, CsPR1/3, CsPR1/7, CsPR1/9, CsPR1/12, CsPR1/13 proteinlerinde tüm 6 motifin hepsi, CsPR1/2, CsPR1/5, CsPR1/6, CsPR1/8, CsPR1/17 proteinlerinde aranmış olan ilk 5 motif, CsPR1/5, CsPR1/10, CsPR1/11, CsPR1/14, CsPR1/15, CsPR1/16 proteinlerinde ilk 4 adet motif bulunmuştur. Bu motiflerden motif 1, 2, 3, 4 tüm CsPR-1 proteinlerinde ortak olarak bulunurken motif 5 ve motif 6 bazı proteinlerde bulunmaktadır. Wang vd. (2022) ve Han vd. (2023) tarafından ifade edilen ve bağışıklık tepkisi için anahtar konumda olan *Triticum easativum* PR1 proteininde bulunan CAPE1 motifine tüm CsPR1 proteinlerinin C terminalinde, bazı proteinlerde küçük değişikliklerle beraber, rastlanmıştır.



Şekil 4.6. CsPR-1 proteinlerinde saptanan korunmuş motifler.

Salatalık genomunda yer alan PR-1 proteinlerinin yapısal analizi yapılarak bazı 2D ve 3D yapısal özellikleri belirlenmiştir. Bu analizlerde elde edilen 3D yapılar Şekil 4.7.'da gösterilmiştir. 3D yapılar üretilirken kullanılan şablon protein olarak daha deneysel olarak 3D yapısı tanımlanmış olan *Solanum lycopersicum*'a ait 1CFE kodlu Pathogenesis-Related Protein P14A proteini kullanılmıştır. Bu protein şablon olarak alındığında elde edilen uyum/güvenilirlik ve dizi benzerlik değerleri Tablo 4.3.'te sunulmuştur. Şablon olarak kullanılan 1CFE proteini NMR yöntemiyle 3D yapısı karakterize edilmiştir (Fernández vd. 1997).



Şekil 4.7. CsPR-1 proteinlerine ait 3D yapı modellemeleri.

Tablo 4.3. 3D yapı üretilirken kullanılan ayrıntılı şablon ve CsPR1 proteinlerinin uyum ve benzerlik değeri.

CsPR1 Proteini	Şablon	RCSB kodu	Uyum/Güvenilirlik	Benzerlik	Organizma	Protein adı
CsPR1/1			99.8	57		
CsPR1/2			99.9	58		
CsPR1/5			99.9	57		
CsPR1/16			99.9	46		
CsPR1/3			99.9	59		
CsPR1/4			99.9	59		
CsPR1/8			99.9	55		
CsPR1/7			99.9	55		
CsPR1/6	c1cfeA_	1CFE	99.9	63	<i>S. lycopersicum</i>	Pathogenesis-Related Protein P14A
CsPR1/10			99.9	37		
CsPR1/9			99.8	46		
CsPR1/12			99.9	47		
CsPR1/11			99.8	51		
CsPR1/17			99.8	41		
CsPR1/13			99.9	40		
CsPR1/14			99.9	49		
CsPR1/15			99.9	35		

Üretilen 3D yapılar incelendiğinde şablon olarak kullanılan 1CFE proteini ile tüm proteinler %99'un üzerinde uyum ile üretilmiştir. Dizi benzerlik değerleri incelendiğinde, bu değer 35 ile 63 arasında değişen oranlarda gerçekleşmiştir. En düşük benzerlik oranı CsPR1/15 ile şablon arasında gözlenirken, en yüksek benzerlik CsPR1/6 ile şablon arasında gözlenmiştir.

3D modellerin yapısal güvenilirliği ve kapsam değerleri hesaplanarak Tablo 4.4'te gösterilmiştir. Bu güvenilirlik değeri normal mod kullanılarak üretilen 3D yapılarda %99'un üzerinde gerçekleşirken, yoğun mod kullanılarak (intensive mod) üretilenlerde %90 üzerinde gerçekleşmiştir. Kapsam değerleri ise % 73 ile 100 arasında gerçekleşmiştir. Sekonder yapılar, 3D modellerin üretildiği Phyre 2.2 çevrimiçi veri bankasından elde edilerek Tablo 4.4.'te gösterilmiştir. CsPR1 proteinlerinin 3D modelleri üretilirken kullanılan 2D yapı içerikleri incelendiğinde alfa helikse % 22 ile 43, beta yaprağa %13 ile 24, TM helikse sadece 5 proteinde % 9 ile 10 ve düzensiz zincire % 4 ile 25 oranlarında rastlanmıştır.

Tablo 4.4. Tersiyer (3D) yapının kapsam ve model güvenilirlik değerleri ile 3D yapılarında saptanan sekonder yapılara ait oransal sonuçlar.

Tersiyer yapı (%)			Sekonder Yapı Analizleri (%)			
CsPR1 Protein	Güvenilirlik	Kapsam	Alpha heliks	Beta yaprak	TM heliks	Düzensiz
CsPR1/1	99.8	82	33	20	10	5
CsPR1/2	99.9	91	31	21	-	5
CsPR1/5	>90	100	32	22	-	3
CsPR1/16	>90	88	27	20	-	15
CsPR1/3	99.9	83	36	18	10	4
CsPR1/4	99.9	76	22	24	-	13
CsPR1/8	>90	84	41	14	-	5
CsPR1/7	99.9	83	36	19	-	4
CsPR1/6	99.9	88	27	20	-	17
CsPR1/10	99.9	88	28	20	-	11
CsPR1/9	99.8	84	38	18	-	4
CsPR1/12	99.9	79	43	13	9	5
CsPR1/11	99.8	79	35	18	9	7
CsPR1/17	99.9	77	38	20	9	14
CsPR1/13	99.9	82	37	14	-	6
CsPR1/14	99.9	96	29	22	-	6
CsPR1/15	99.9	73	22	16	-	25

CsPR1 proteinlerinin filogenetik ilişkileri analiz edilebilmesi amacıyla maksimum likelihood (ML) bazlı bileşik bir filogenetik ağaç kurulmuştur. Bu amaçla bu çalışmada belirlenen CsPR1 proteinlerine ek olarak önemli bitki familyalarından seçilen bitkilere ait PR-1 protein dizileri NCBI Uniprot veri bankasından toplanmıştır. Filogenetik ağaçta yer alan CsPR-1 proteinleri daha önce NJ bazlı üretilen Şekil 4.8.'te elde edilen A (kırmızı) ve B (sarı) grupları renklendirilerek gösterilmiştir. Bu proteinlere ek olarak NCBI GenBank'tan toplanan diğer salatalık PR-1 proteinleri açık yeşil renkte gösterilmiştir.

Protein dizileri kullanılarak üretilen ML bazlı Filogenetik ağaçta oluşan yapılar incelendiğinde birçok PR-1 proteininin yüksek bootstrap değerleriyle, familya ayrımlarına uyumlu olarak karışık ve değişik ölçeklerde gruplar oluşturmuştur. Salatalık bitkisine ait olan CsPR-1 proteinlerden B grubunda yer alan 7, 8, 9, 12, 13, ve 14 proteinleri, 3 adet diğer salatalık proteini ile bir grup halinde konumlanmıştır. Diğer B grubu CsPR1 proteinlerinin değişik familyalardan bitkilerle filogenetik ağaçta dağınık olarak yer aldığı gözlenmiştir. A grubu CsPR1 proteinleri de aynı şekilde filogenetik ağaçta dağınık olarak familya ayrımı olmaksızın diğer proteinlerle gruplanmışlardır.

proteinler arasında interaksyonlar saptanmıştır. Saptanan bu interaksyonlar incelendiğinde CsPR-1 proteinleriyle interaksyon gösteren birinci kabukta; Csa_2G368880, Csa_5G135340 ve Csa_6G111370 gibi HATPase_c domaini içeren protein; Csa_2G000780 protein kinaz domain içiren protein kinaz süper aile proteini; PAL (phenylalanine ammonia-lyase) proteini; Csa_5G649250 WD tekrar bölge domaini içeren protein; Csa_5G522910 ZnMc domain içeren protein; Csa_4G045010 peroksidaz; Csa_1G503400 Ubiquitin konjuge domain içeren protein; Csa_7G041930 protein kinaz domain içeren protein ve kategorize edilmemiş proteinler saptanmıştır.

CsPR-1 proteinlerinin hangi koşullar altında aktivitelerinin değiştiğini anlamak amacıyla proteinlerin +3000 ön (upstream) bölgesindeki cis-etkili (cis-acting) elementler tespit edilmiştir ve Ek-Tablo 1’de gösterilmiştir. Bu elementler arasında gelişime duyarlı (DR; development responsive), hormona duyarlı (HR; hormone responsive), ışığa duyarlı (LR; light responsive), promotör duyarlı (PR; promoter responsive); strese duyarlı (SR; stress responsive) element tespit edilmiştir. Bunların arasında en fazla sayıda bulunan tipin promotör duyarlı olanlar olduğu gözlenmiştir. AAGAA motif gelişim ve stres durumlarına duyarlı elementlerden en fazla sayıda bulunan olarak tespit edilmiştir. ABRE, ERE, CGTC motif ve TCA motifleri hormon duyarlı motiflerden en fazla sayıda olanları olarak tespit edilmiştir. Fazla sayıda bulunan ışığa duyarlı elementler ise Box4, TGACG, as-1 ve G-box gibi elemanlar olduğu görülmüştür. Promotöre duyarlı elementlerin genelde fazla sayıda olduğu, bunların içinde AT-TATA-box, CAAT-box, MYB, MYBlike, MYC, TATA-box gibi elementler daha fazla sayıda olduğu görülmüştür. Strese duyarlı olan elementler incelendiğinde ise ARE, MBS, STRE, TD-rich-repeats, MYB gibi elementlerin sayıca fazla olduğu görülmüştür.

5. TARTIŞMA

PR-1 proteinleri, patojen saldırılarına yanıt olarak antimikrobiyal ajanlar ve düzenleyici proteinler olarak işlev gören bitki bağışıklık sisteminin hayati bileşenleri olarak hizmet eder. İfadeleri çeşitli sinyal yolları tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir ve enfeksiyonlara karşı bitki direncini artırmada çok yönlü roller oynarlar. PR-1 işlevini ve düzenlemesini yöneten mekanizmaların anlaşılması, bitkilerin patojenlere karşı direncini artırmaya yönelik öngörüler sağlayabilir.

Tüm CsPR-1 proteinlerinde CAP, IPR001283, IPR034113 domeyinine sahip olması biyotik stres koşulları altında, bitkinin patojenle başa çıkmasına yardımcı olmaktadır. Bu proteinler, sistein açısından zengin salgı proteinleri, antijen 5 ve patogenezele ilişkili protein (CAP) ailesinin önemli domeynidir. CsPR1 proteinlerinin CAP domeyini bulunmasıyla, bitkinin savunma mekanizmasında, sinyal iletiminde ve detoksifikasyon fonksiyonlarının gerçekleşmesinde önemli bir rol oynamaktadır. PR-1 gibi CAP proteinleri ayrıca patojenler tarafından da üretilmektedir. Patojenlerinde bu denli proteinlere sahip olması, patojeni karşı saldırıda bulunduğu bitkiye karşı avantajlı duruma getire bilmektedir. Aynı zamanda patojende bulunan bu proteinlerin delesyona uğraması onların virülans kapasitesini ve saldırı gücünü azaltmaktadır. Bu da PR-1 proteinlerinin hem savunma mekanizmalarında hem de karşı saldırı esnasında görevleri olduğunu göstermektedir. PR-1 proteinlerinin C-terminal CAPE1 peptidini serbest bırakmak için proteolitik olarak bölünür. Bu peptitler sinyal görevi gören peptitlerdir. Sinyal peptitleri bitki bağışıklık savunmasını aktive eder ve patojenik efektörler tarafından da tanınır ve bu bağışıklıktan korunmak için inhibe edilir (Han vd. 2023). CsPR1 proteinlerinde bulunan IPR001283 domeyini, sistein açısından zengin salgı proteini ile ilişkili kısa adı CRISP-ilişkili (The cysteine-rich secretory proteins - Crisp) ailesinin bir üyesidir aynı zamanda bu aileye patojen enfeksiyonu veya stresle ilişkili diğer yanıtlar sırasında sentezlenen PR-1 ailesinin bitki patogenezele ilişkili proteinleri de buraya dahildir (Kasahara vd. 1989). IPR034113 domaini (Golgi ile alakalı bitki patogeneziyle ilişkili protein 1, SCP domeyini), Golgi ile ilgili bitki patogeneziyle ilişkili protein 1 (GAPR-1), bu SCP benzeri hücre dışı protein domeyinini içermektedir. SCP domaini aynı zamanda CAP domaini olarak da

biliniyor. Ve geniş aileye sahip olan SCP patogenezele ilişkili protein 1 (PR-1), memeli sistein açısından zengin salgı proteinlerini içermektedir. SCP domainin endopeptidaz olarak işlev görebileceği öne sürülmüştür (Gibbs vd. 2008).

PR-1 proteinlerinin moleküler ağırlıkları incelendiğinde, moleküler ağırlıkların bitki türüne bağımlı olarak değiştiğini gözlemlenmektedir. Bu anlamda diğer *in-slico* analizler yapılmış bitkilere bakıldığında moleküler ağırlıkların değiştiğini görüyoruz. Bu veriler domates bitkisinde 13.48 ile 22.83 kDa (Akbudak vd. 2020), şeker kamışında 6.7 ile 10.1 kDa (Javed ve ark. 2024), kabuksuz arpada 14.12 ile 53.98 kDa (Yin ve ark. 2023), kara biberde 14.38 ile 38.49 kDa (Kattupalli ve ark. 2021), buğday bitkisinde 17 ile 19 kDa (Zribi vd. 2023) arasında değişmektedir. Moleküler ağırlıkların amino asit sayılarıyla direkt bağlantısı olduğu için, kabuksuz arpada, kara biberde, şeker kamışında amino asitlerin sayılarıyla ilişkili olarak bu bitkilerde moleküler ağırlıkları kıyaslandığında amino asit sayılarının daha çok olmasıyla, PR-1 proteinlerinin moleküler ağırlıkları da artmaktadır. Domates bitkisinde amino asit dizilerinin 120 ile 196 arasında (Akbudak vd. 2020), şeker kamışında 155 ile 291 (Javed ve ark. 2024), kabuksuz arpada 131 ile 504 (Yin ve ark. 2023), kara biberde 127 ile 357 (Kattupalli ve ark. 2021) ve son olarak makarnalık buğday bitkisinde 164 ile 207 (Zribi vd. 2023) arasında değiştiği gözlemlenmiştir.

PR-1 proteinlerinin termostabil özellik taşıması, bitkinin yüksek sıcaklık koşulları altında da fonksiyonlarını gerçekleştirmede önemli katkılar sunmaktadır (Dos Santos ve Franco, 2023). PR-1 proteinlerinde yapılan izoelektrik noktalarının analizinde, toplam 8 proteinin bazik, 9 proteininse asidik özelliklere sahip olduğu görülmektedir. Proteinlerin bu denli pH değerlerinin değişmesi PR-1 proteinlerinin salatalık bitkisinde fonksiyonel olarak değiştiği anlamına gelebilir (Akbudak ve ark. 2020). PR-1 proteinlerinin izoelektrik nokta (pI) değerlerinin anti-patojenik özellikleri ile ilgili olduğu gözlenmiştir. Fitopatolojik testlerde, PR-1 proteinlerinin daha çok bazik özellikler taşıyanların, asidik özellikler taşıyan proteinlere kıyasla parazite karşı daha etkili inhibitör özellikleri görülmektedir (Kattupalli ve ark. 2021). İzoelektrik nokta analizleri daha önce farklı bitkilerde yapılan *in-slico* analizleriyle kıyaslandığında domateste 5.01 ile 9.40 (Akbudak ve ark.), şeker kamışı bitkisinde 6.7 ve 10.1 arasında (Javed ve ark. 2024), kabuksuz arpada 4.56 ve 9.42 (Yin ve ark. 2023), kara biberde 4.82 ile 9.44 (Kattupalli ve ark. 2021), buğday bitkisinde 4.23 ile 9.41 (Zribi vd. 2023) arasında ve bu çalışmada incelenen salatalık bitkisinde 4.69 ile

9.59 arasında değişmektedirler. Domates bitkisinde toplam 13 tane araştırılmış PR-1 proteinlerinin 4' ü asidik, 9 tanesi bazik özellikler taşımaktadır (Akbudak vd. 2020). Şeker kamışında 19 PR-1 proteinlerinin 7 tanesi bazik, 12 tanesi asidik özelliklere (Javed ve ark. 2024), kabuksuz arpada 7 asidik, 13 bazik (Yin ve ark. 2023), kara biberde 2 asidik, 9 bazik (Kattupalli ve ark. 2021), buğday bitkisinde proteinlerin hemen hemen 50% asidik, 50% bazik özellikler taşımaktadırlar (Zribi vd. 2023).

GRAVY değerlerinden yola çıkarak, eksi değerlerde olan proteinlerin hidrofilik, artı değerler gösteren proteinlerinse hidrofobik yapıya sahip oldukları görülmektedir. CsPR-1 proteinlerinde tüm proteinler eksi GRAVY puanına sahip olduğu için bu proteinlerin genel olarak hidrofilik yapıya sahip olduğunu söyleye biliriz. Fakat, GRAVY puanının sıfıra yaklaştığı zamanlarda proteinin az hidrofilik yapıya sahip olduğu ve hatta hem hidrofilik hem de hidrofobik yapıya sahip olduğu düşünülmektedir. Bu durumda, CsPR1/17 (-0.053) proteini hem hidrofilik hem de hidrofobik yapıya sahip olacağı düşünülmektedir. Bunun aksine, CsPR1/15 proteini daha çok hidrofilik yapıdadır. Proteinin hidrofilik veya hidrofobik yapıya sahip olması onun hücrede konumunu, stabilitesini, çözünürlüğünü ve biyokimyasal laboratuvar tecrübelerinde kullanılmasını (protein çöktürülmesi gibi) temin ediyor. Protein hidrofobik yapıda olduğu zaman, suda çözünabilirliği olmadığı için lipidlerle daha iyi etkileşime girerek hücre membranını oluşturur. Hidrofilik yapıda olan proteinlerse suda çözüldüğü için daha çok hücre içinde, sitoplazmada konumlanmaktadır. Amfifilik özelliğe sahip ola bilecek protein olan CsPR17 ortama bağımlı olarak hem hücre membranında hem de hücre içinde sitoplazmada kendi fonksiyonlarını gerçekleştirebilme ihtimali vardır. GRAVY puanlarının diğer bitkilerle kıyaslandığında kabuksuz arpa ve buğday bitkilerinin de eksi GRAVY puanlarına sahip oldukları görülmektedir. Kabuksuz arpada bu değerler -0.547 ile -0.03 (Yin ve ark. 2023), makarnalı buğday da -0.043 ile -0.330 (Zribi vd. 2023) arasında değiştiği görülmektedir. PR-1 protein ailesinin incelenen bitki türlerinin tümünde genellikle hidrofilik (kutupsal) özelliğe sahip oldu görülmüştür.

PR-1 genlerinin ekzon ve intron organizasyonu incelendiğinde domates bitkisinde 1 ile 2 (Akbudak vd. 2020), şeker kamışında 18 *PR-1* genlerinin 4 tanesinde sadece 1 intron, geri kalan *PR-1* genlerinde intron içermediği dolayısıyla ekzon sayısının 1 ile 2 arasında değiştiği gözlenmiştir (Javed ve ark. 2024). Kabuksuz arpada tespit edilen 20 *PR-1* geninin sadece 4 tanesinin intron içerdiği, onlardan yalnız biri 4

tane intron, geri kalan 3'ü 1 tane intron içerdiği tespit edilmiştir. Kalan 16 tane *HvPR-1* genleri hiçbir intron içermemektedir (Yin ve ark. 2023). Kara biber bitkisinde 11 *PR-1* genlerin sadece bir tanesi 2 ekzon içerdiği, kalan genlerde 1 tane ekzon içerdiği tespit edilmiştir (Kattupalli ve ark. 2021). Makarnalık buğdayda olan 12 *PR-1* genleri sadece bir tanesinde 2 ekzon ve 1 intron bulunduğu buna karşın kalan 11 tane genin hepsi sadece tek ekzonlu olduğu görülmüştür (Zribi vd. 2023). Bu çalışma da diğer bitkilerde tespit edilen intron-ekzon organizasyonunun benzer olduğu görülmüştür. Salatalık bitkisinde *CsPR1/4* ve *CsPR1/6* genlerinde 2 tane intron bulunmaktadır. Geri kalan 15 tane gende intron bulunmamakta ve yalnız 1 tane ekzon bulunmaktadır (Şekil 4.2.).

Tahmini fosforilasyon bölgeleri (PPS) önemli özelliklere sahip olup post-translasyon modifikasyonlarında, besin alımında, sinyal süreçlerinde rol oynamaktadır (Arsova & Schulze 2012). PPS serin, treonin ve tirozin gibi amino asitlerin yer aldığı fosforilasyon bölgeleridir. PPS değerlerinin domatesle kıyaslandığında domatestes PPS değerleri 9 ile 26 arasında (Akbulak vd. 2020), salatalıkta ise 10 ile 21 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Gen lokasyonlarının belirlenmesi *CsPR-1* genlerinin salatalık kromozomları üzerinde dağılımlarını haritalandırmak ve hangi genlerin hangi kromozomlar üzerinde konumlandığını bilmekte önemlidir. Bu aynı zamanda salatalık bitkisinde hangi kromozom bölgelerinin savunma genleri için daha çok aktif halde olduğunu göstermektedir (Şekil 4.1.). Bu analizler vasıtasıyla *PR-1* genlerinin konumlandığı bölgelerin hem öncesinde ve sonrasında konumlanan genler ve regülatör dizilerin araştırılmasında ve ayrıca bu genlerin PR-1 proteinleriyle ne denli ilişkilerin olduğunu, hangi zamanda, hangi durumlarda birbirlerini tetiklediği ve aktive ettiği anlamında fonksiyonlarının anlaşılmasında yardımcı olmaktadır. Genlerin lokasyonlarının belirlenmesi, PR-1 proteinlerinin gen ailesi içinde ilişkileri ve duplikasyon durumlarını araştırarak bu genlerin evrim sürecinde nasıl değiştiğini anlamamızda yardımcı olabilir. PR-1 proteinlerinin NJ bazlı filogenetik analizleri vasıtasıyla elde edilen proteinlerin grupları (A ve B) incelendiğinde (Şekil 4.4.), 7. Çift kromozom üzerinde konumlanan tüm *CsPR1* genlerinin (*CsPR1/1*, *CsPR1/2*, *CsPR1/3*, *CsPR1/4*, *CsPR1/5*, *CsPR1/6*, *CsPR1/7*, *CsPR1/8*, *CsPR1/9*, *CsPR1/12*, *CsPR1/13*, *CsPR1/14*) filogenetik ağaçta yalnız B grubunda olan proteinler olduğunu görülmüştür.

Salatalık bitkisine ait PR-1 proteinlerinin amino asit dizilerinin hizalanması sırasında *C. sativus* bitkisinde Han vd. (2022) tarafından daha önce yapılmış çalışmadaki CAP domain analizlerinde, amino asit dizilerinin kritik bölgelerinde bulunan CAP1, CAP2, CAP3, CAP4, bölgeleri saptanmış ve Şekil 4.3.' de kırmızı kutuda gösterilmiş ve diğer kısımlardan ayrılmıştır. CAP domaini N- veya C- terminal uzantılar gibi diğer fonksiyonel domeyinlerle sıklıkla bağlantılıdır. Bu domainlerin CAP domaininin fonksiyonunu modüle ettiği önerilmiştir. Bu da hedefin özelliklerini etkilediği ve fizyolojik cevapların kesin tabiatıyla ilişkili doğasını kontrol etmesinde mümkün ola bilir (Gibbs vd. 2008). Çeşitli bitkilerde (buğday, kakao, prinç vs.) yürütülen çalışmalarda, bu bitkilerde bulunan CAP proteinlerinde transmembran ve protein kinaz domainleri tanımlanmıştır. Bu ailenin CAP domaini doğrudan hücre içi sinyal transdüksiyon yoluna bağlı olduğunu gösterebilir (Breen vd. 2017; Lu vd. 2017). Çoklu hidrojen bağları ve yüksek oranda korunmuş iki disülfid bağı, CAP alanı için hidrofobik etkileşimleri stabilize eder. Bu etkileşimler, bu proteinlerin hücre dışı olarak çalışması için gerekli olan termal, pH ve proteolitik stabiliteyi sağlamaya yardımcı olduğu bildirilmiştir (Han vd., 2023). Tüm CsPR-1 proteinlerinde bulunan sarmal $\alpha 3$ ve $\alpha 4$ ile bağlayan CBM (Caveolin - Bağlayıcı Motif) tanımlayan korunmuş aromatik amino asitler de ayrıca kırmızı bir kutuda vurgulanmıştır. CAP domainleri birbirinden uzunlukları ve ilmeklerin yönlendirme açısı bakımından farklılık göstermektedir (orientation of the loops) ve bu da yüksek şekilde korunmuş ikincil yapıları birbirleriyle bağlamaktadır (Asojo vd. 2011). CBM'de bulunan ilmeğin esnekliği ve bu motifte aromatik kalıntıların varlığı, CAP proteinlerinin çeşitli steroller ve küçük hidrofobik birleşikleri bağlama kabiliyeti için çok önemlidir (Choudhary vd. 2014; El Atab vd. 2022). CBM motifi çoğunlukla memelilerin, sineklerin, solucanların ve mantarların CAP proteinlerinde korunur, ancak bitkiler, eşekarası, karıncalar veya yılanlar gibi organizmalarda bulunmamaktadır (Choudhary vd. 2014; Han vd. 2023).

CsPR1 proteinlerinin hücre içi konumları iki farklı (BUSCA ve Cello) çevrim içi veri tabanları kullanılarak tahmin edilmiştir. Hem Busca hem de Cello kullanılarak yapılan tahminlere dayalı olarak CsPR-1 proteinlerinin daha çok hücre dışı boşlukta konumlandığı tahmin edilmektedir. CsPR-1 proteinlerinin hücre içi konumları ile proteinlere ait izoelektrik nokta (pI) değerleri karşılaştırıldığında, Busca verilerine göre, çekirdekte konumlanan CsPR1/6, CsPR1/14 ve CsPR1/16 proteinlerinin asidik,

kloroplastta konumlanan CsPR1/10 ve CsPR1/15 proteinlerinin ise bazik bir değere sahip olduğu görülmüştür. Cello verilerine dayalı yapılan karşılaştırmada, mitokondri ve hücre dışı boşlukta konumlanan CsPR1/10 proteini bazik pI değerine sahiptir. Aynı zamanda mitokondri ve çekirdekte konumlandığı tahmin edilen CsPR1/15 proteini de bazik özelliğe sahiptir. Hücre dışı boşlukta ve lizozomda konumlanan CsPR1/16 proteini asidik özellikler taşımaktadır.

Gerçekleştirilen motif analizinde, tespit edilen motif 1, motif 2, motif 3 ve motif 4 tüm CsPR-1 proteinlerinde ortak olarak bulunduğu gözlenmiştir. Motif 5, toplam 17 proteinin 10 tanesinde bulunurken, motif 6 yalnız 7 tane CsPR-1 proteinlerinde bulunduğu tespit edilmiştir. Domain uzunluklarına bakıldığında, motif 1 en büyük, motif 6 en kısa uzunluklara sahiptir. Motif analizinde elde edilen motiflere ek olarak, farklı canlılarda bulunan PR1 proteinlerinde tespit edilen ve proteinin fonksiyonu için önem arz eden CAPE1 motifi yine tüm C terminalinde bulunduğu görülmüştür. CAPE1 bağışıklık sistemini aktive etmesi, diğer sinyal yollarında konumlanan moleküllerin tetiklenmesinde, patojenik organizmanın bastırılmasında, abiyotik ve ayrıca biyotik streslere karşı yanıt vermede önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (Chen vd., 2014; Wang vd. 2022; Han vd. 2023).

CsPR1 proteinlerinin yapılarının anlaşılabilmesi amacıyla 3D yapıları üretilmiştir. 3D yapıların üretilmesi esnasında şablon olarak 1CFE kodlu domatese (*S. Lycopersicum*) ait Pathogenesis-Related Protein P14A proteini kullanılmıştır. Bu protein PR1 proteinlerine uyum ve benzerliği yüksek olan bit protein olarak 3D yapının üretilmesinde kalıp olarak kullanılmıştır (Fernández et al., 1997). Uyum ve güvenilirlik oranlarının (99.8 - 99.9) yüksek oranlarda olması CsPR1 proteinlerinin şablon organizma olarak kullanılan 1CFE proteini ile yüksek yapısal ve yüksek derece benzer 3D boyutlu (yapısal) katlanma ölçülerine (desenlerine) sahip olduğunu göstermektedir. Yüksek 3D yapı güvenilirliğine karşın CsPR1 proteinlerinin, 1CFE proteini ile benzerliği nispeten düşük oranlarda olduğu görülmüştür. Tersiyer yapı analizi CsPR1 proteinlerinin katlanmış 3D yapılarını ifade etmektedir. Tersiyer yapı analizine bakıldığında, yoğun modda (intensiv mod) üretilen proteinlerin hepsinde %90 üzerinde sonuçlar elde edilmiştir.

CsPR1 proteinlerinin 3 boyutlu yapıları ikincil yapıları içermektedir. Diğer bitkiler üzerinde PR-1 proteinlerinin ikincil yapı analizlerine bakıldığında, domates bitkisinde bu oranlar proteinlerinde α -heliksler, genişletilmiş iplik, beta yaprak ve

düzensiz olarak %28.33 ve 40.00, %12.50-19.23, %2.44-6.79 ve %35.00-46.41 arasında bulunmuştur (Akbudak vd. 2020). Kara biber bitkisinde yapılmış çalışmada PR1 proteinlerinde α -heliks (%15,6–36,88), genişletilmiş iplik (%10,64–23,78), β -yaprak (%3,65–5,88) ve düzensiz sarmallar (%37,42–67,79) tespit edilmiştir (Kattupalli ve ark. 2021). Makarnalık buğday bitkisinde yürütülen çalışmada α -heliks (%30.92–40), genişletilmiş iplik (%14.59–18.08), β -yaprak (2.44–6.78) ve düzensiz sarmallar (40.36–48.17) bulunmuştur (Zribi vd. 2023).

CsPR-1 genlerinde +3000 ön bölgesinde 87 çeşit cis-düzenleyici elementi bulunduğu tahmin edilmiştir. Transkripsiyon faktörlerinin (TF) bağlanma bölgeleri olan cis-düzenleyici elementleri, Promotör bağlantılı, streslere yanıt, hormonal cevap, ışığa duyarlılık ve gelişimsel bağlantı olarak kategorilere ayrılarak incelenmiştir. Hangi sayılarda olduğu ve şimdiye kadar tespit edilebilen fonksiyonları araştırılarak kaydedildi. Cis-düzenleyici elementler DNA dizisinde bulunan ve genlerin promotör bölgesinde konumlanarak onların ekspresyonlarını düzenlemektedir. Bu elementler çok büyük öneme sahip olarak, proteinlerinin ne zaman, nerede ve hangi düzeyde aktive olması ve sentezlenmesini düzenlemektedir. Cis-düzenleyici elementler bitkinin çeşitli stres tepkilerine karşı cevap vererek hormonal indüklenmeyi, streslere yanıt mekanizmaları, sorumlu genlerin aktivasyonu ve ışığa duyarlı unsurların tetiklenmesinde, cevap mekanizmalarının oluşumuna ve fonksiyonlara katkı sağlamaktadır. Cis-düzenleyici elementler çeşitli fonksiyonlarda görev almaktadırlar. Bu elementler, transkripsiyon başlatma kompleksinin oluşturulmasında (AT~TATA-box), absisik asitin sentezlenmesi (ABA) ve aynı zamanda gen ifadesinin düzenlenmesinde (ABRE3a, ABRE4), ışığa yanıt vermede yer alan korunmuş DNA modülünde (Box 4), promotör ve arttırıcı bölgelerde görev alan (CAAT-box), sirkadiyen (circadian) kontrol gibi fonksiyonlarda görev almaktadırlar. Bitki büyümesi ve gelişmesi, hedef genlerin ekspresyonlarını kontrol etmek için belirli cis elemanlarına bağlanan transkripsiyon faktörleri (TF) tarafından büyük ölçüde etkilenir (Spitz & Furlong, 2012). Cis-düzenleyici elementlerin sayına bakıldığında bu sayıların 1 ile 134 arasında değiştiği görülmektedir. Cis-düzenleyici elementlerin bazıları sadece 1 CsPR1 proteinlerinde bulunurken, bazıları tüm CsPR1 proteinlerinde bulunmaktadır. AAGAA-motif, ARE, AT~TATA-box, Box 4, CAAT-box, MYC, TATA-box gibi cis-elementler tüm CsPR-1 proteinlerinde bulunurken, A-box (CsPR1/17), AT1-motif (CsPR1/7), AuxRR-core (CsPR1/15), CAG-motif (CsPR1/9),

CCGTCC-motif (CsPR1/17), DRE1 (CsPR1/2), LAMP-element (CsPR1/16), GC-motif (CsPR1/6), SARE (CsPR1/5) cis-elementleri yalnız bir PR-1 protein türünde bulunmuştur. Cis-etkili elementlerin en fazla sayıda bulunduğu promotörle ilişkili element olan TATA-box' dur. TATA-box, transkripsiyon başlatan transkripsiyon faktörü kompleksinin bir parçasıdır. Ve bu cis-etkili düzenleyici element en fazla CsPR1/8 ve CsPR1/9 proteinlerinde bulunmaktadır (toplam 134 tane). Işığa yanıt ve transkripsiyon aktivasyonları ile ilgili cis-düzenleyici elementler daha çok saptanmıştır. İlave olarak, bazı *CsPR1* genlerinde, meristem ifadesi ile ilgili (CCGTCC-motif, CAT-box), mezofil hücrelerinin farklılaşmasında rol oynayan (HD-Zip1), endosperm ifadesinde yer alan (GCN4_motif), Zein metabolizmasının düzenlenmesinde yer alan (O2-site) ve cis-düzenleyici elementler de yer almaktadır. *CsPR1* genlerinin transkripsiyon bağlanma bölgelerinde bulunan çeşitli cis-düzenleyici elementler salatalık bitkisinde hayati önem taşımakta ve çeşitli metabolik yollarda, farklı fonksiyonlarda görev aldığı bilinmektedir.

Proteinlerin dizi bazlı gerçekleştirdiğimiz filogenetik analizlerde CsPR1 proteinleri arasındaki evrimsel benzerlikler ve farklılıklar değerlendirilmiştir. Proteinlerin yakınlık dereceleri, onların fonksiyonel ve yapısal benzerlik seviyelerini de gösterebilir. PR-1 proteinlerinin farklı türleri incelendiğinde, biyolojik fonksiyonlarının, patojenlere karşı verdikleri yanıtların yanı sıra, hücre metabolizma ve sinyal yollarındaki görevlerine bağlı olarak farklılık gösterebileceği belirlenmiştir (Holmes, 2003). Protein dizileri kullanılarak gerçekleştirilen NJ bazlı filogenetik ağaçta (Şekil 4.4.) CsPR1 proteinleri iki ana grup oluşturacak şekilde ayrılmıştır. 17, A grubunda CsPR1/11, CsPR1/16, CsPR1/10, CsPR1/15 proteinleri toplanmış ve bu proteinlerin genlerinin 1., 3. ve 4. Kromozomda konumlandığı görülmüştür. 3. kromozomda konumlanan CsPR1/17, diğer bütün proteinlerden ayrılmıştır. 7. kromozom üzerinde bulunan diğer proteinlerin genleri B grubunda iki alt grup halinde konumlanmıştır. Proteinlerin gruplanması ve diğer özellikleri arasında herhangi bir korelasyona rastlanmamıştır.

ML bazlı büyük filogenetik ağaç incelendiğinde NJ bazlı ağaçta elde edilen gruplarla uyum göstermeden filogenetik ağaçta dağıldığı görülmüştür. Önde gelen birçok familyadan fazla sayıda dizi kullanılarak gerçekleştirilen bu analizde oluşan küçük gruplarda nispeten yüksek bootstrap değerleri gözlenmiştir. *Hordeum vulgare* L. var. *nudum* bitkisinde PR1 genleri ve önemli birkaç türe ait PR1 proteinlerinin

kullanılarak gerçekleştirilen NJ bazlı filogenetik analizde HvPR1 proteinlerinin genelde bir araya toplanmasına rağmen bazı PR1 proteinlerin bizim elde ettiğimiz sonuçlara benzer olarak diğer türlerle bir araya gelerek ayrıldığı gözlenmiştir (Yin vd. 2023). Muzda (*Musa spp.*) yapılan başka bir çalışmada PR1 genlerinin ML bazlı filogenetik ağaçta *Oryza sativa* ile beraber konumlandığı ve familya seviyesinde ayırım gözlendiği rapor edilmiştir (Anuradha vd. 2022). CsPR1 proteinlerinin filogenetik ilişkisinin incelendiği bu çalışmada farklı familyalardan ve yüksek sayıda bitki eklenmesiyle daha dağınık bir yapı elde edilmiştir. Bu dağılımın fonksiyonel proteinlerden olan PR-1 proteinlerinin fonksiyonel kısıtlamalarından dolayı korunmuş bir yapıda olmasından kaynaklanabileceği nedeniyle gerçekleştiği değerlendirilmektedir.

Satalık bitkisine ait PR-1 proteinlerinin diğer genlerle olan interaksiyonları çevrim içi bir veri bankası String veri bankasında gerçekleştirilmiştir. Bu evrim içi veri bankasında yapılan blastp analizi her gruptan bir protein için aram gerçekleştirilmiş, normal modda bazı interaksiyonlara rastlanılmıştır. Bu interaksiyonlarda görev alan genler deneysel veriden çok veri madenciliğine dayalı sonuçlar nispeten düşük güvenilirlikte ve genelde metin madenciliği ve ko-ekspresyon (eř zamanlı gen ifadesi) verisine dayalı olarak elde edilmiştir. Bu durum tespit edilen interaksiyonların daha fazla araştırmaya açık bir alan olduğunu düşündürmektedir.

SONUÇLAR

Bu çalışma *C.sativus* bitkisinde bulunan PR-1 proteinlerinin *in-slico* analizleri vasıtasıyla genom çapında biyoinformatik karakterizasyonuna ait ilk çalışmadır. CsPR-1 üzerinde yapılmış çalışmalar, PR-1 proteinlerinin büyümenin düzenlenmesinde, gelişmesinde ve bitkinin biyotik ve abiyotik streslere tepkisinde önemli roller oynadığına işaret etmektedir. Çeşitli bitkilerde yürütülen çalışmalar esnasında CAP domaini PR-1 gibi proteinlerinin bitkinin patojene karşı savunma mekanizmasındaki fonksiyonunu belirleyebilir. Genel olarak, PR-1 proteinlerinin IPR034113, IPR001283, CAP gibi domainlere sahip olması, onların patojenlere karşı çeşitli fonksiyonlarda bulunmasında, bitki patojen etkileşiminde patojene karşı çeşitli görevler yapmasında yardımcı olmaktadır. Bu domeyinlerin varlığı PR1 proteinlerinin antifungal, antibakteriyel ve antiviral etkileri olabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmada salatalık genomunda 17 adet CsPR1 proteini tanımlanmıştır. Bu proteinler Nj bazlı filogenetik ağaçta iki gruba ayrılmıştır. ML bazlı filogenetik ağaçta kullanılan bir çok bitkiye ait PR1 proteinleriyle gösterdiği benzerlik nedeniyle CsPR1 proteinlerinin korunmuş yapılarda olduğuna işaret etmektedir. Bu durum CsPR-1 proteinlerinin patojenler ile mücadelede önemli işlevlere sahip olduğu, önemli fonksiyonları gerçekleştirebileceğini düşündürmektedir. Gerçekleştirilen analizlerde pI ve PPS değerleri, PR-1 proteinlerinin dinamik potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca, CsPR1 genlerinin yukarı upstream (+3000) bölgesinde 87 cis-düzenleyici elementler bulunmuştur ve bu elementler salatalık bitkisinde stres tepkilerine, hormonlar ile etkileşime, büyüme ve gelişmeye, ışığa tepki ve bir çok fonksiyonda gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. CsPR-1 proteinlerinin 1. , 3. ve 7. kromozom çiftleri üzerinde yer aldığı ve 12 tanesinin 7. kromozom üzerinde kümелendiği gözlemlenmiştir. Genlerin küme halinde yakın locuslara konumlanması genlerin regülasyonunu kolaylaştıran bir faktör olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak, bu çalışma tüm dünya üzerinde bitkileri etkileyen, aynı zamanda bu tez çalışmasında ele alınan *C.sativus* bitkisinin ontogenez sürecinde çeşitli abiyotik

ve biyotik streslere maruz kaldığı zamanlarda, streslere karşı cevap mekanizmalarının oluşmasında ve çeşitli fonksiyonlarda görev alan PR-1 proteinlerinin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. PR-1 proteinlerinin tanımlanması, karakterizasyonu ve çalışma mekanizmalarının çözülmesi, bitkilerin bağışıklık sistemi hakkında yeni bilgiler sağlayarak, daha dirençli, yüksek verimli ve hastalıklara dayanıklı bitki çeşitlerinin geliştirilmesi projelerine ön bilgi sağlanması amaçlanmıştır. Bu sayede ziraat ve genetik mühendisliği gibi alanlarda gerçekleştirilecek araştırma ve geliştirme faaliyetleriyle ülke ekonomisine ve bilim dünyasına katkı vermesi hedeflenmiştir.



KAYNAKLAR

- Akbaba, M., & Ozaktan, H. (2018). Biocontrol of angular leaf spot disease and colonization of cucumber (*Cucumis sativus* L.) by endophytic bacteria. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28, 1-10.
- Akbudak, M. A., Yildiz, S., & Filiz, E. (2020). Pathogenesis related protein-1 (PR-1) genes in tomato (*Solanum lycopersicum* L.): Bioinformatics analyses and expression profiles in response to drought stress. *Genomics*, 112(6), 4089-4099.
- Alcázar, R., Marco, F., Cuevas, J. C., Patron, M., Ferrando, A., Carrasco, P., ... & Altabella, T. (2006). Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress. *Biotechnology letters*, 28, 1867-1876.
- AlHudaib, K. A., Alanazi, N. A., Ghorbel, M., El-Ganainy, S. M., & Brini, F. (2022). Isolation and characterization of a novel pathogenesis-related protein-1 gene (AvPR-1) with induced expression in oat (*Avena sativa* L.) during abiotic and hormonal stresses. *Plants*, 11(17), 2284.
- Ali, S., Ganai, B. A., Kamili, A. N., Bhat, A. A., Mir, Z. A., Bhat, J. A., ... & Grover, A. (2018). Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. *Microbiological research*, 212, 29-37.
- Ali, S., Hayat, K., Iqbal, A., & Xie, L. (2020). Implications of abscisic acid in the drought stress tolerance of plants. *Agronomy*, 10(9), 1323.
- Antoniw, J. F., & Pierpoint, W. S. (1978). Purification of a tobacco leaf protein associated with resistance to virus infection. *Biochemical Society Transactions*, 6, 248-250.
- Anuradha, C., Chandrasekar, A., Backiyarani, S., Thangavelu, R., Giribabu, P., & Uma, S. (2022). Genome-wide analysis of pathogenesis-related protein 1 (PR-1) gene family from *Musa* spp. and its role in defense response during stresses. *Gene*, 821, 146334.
- Arsova, B., & Schulze, W. X. (2012). Current status of the plant phosphorylation site database PhosPhAt and its use as a resource for molecular plant physiology. *Frontiers in plant science*, 3, 132.
- Asojo, O.A. , Koski, R.A. & Bonafe, N. (2011) Structural studies of human glioma pathogenesis-related protein 1. *Acta Crystallographica. Section D, Biological Crystallography*, 67, 847–855.
- Bailey, T. L., Johnson, J., Grant, C. E., & Noble, W. S. (2015). The MEME suite. *Nucleic acids research*, 43(W1), W39-W49.

- Bailey, T. L., Williams, N., Misleh, C., & Li, W. W. (2006). MEME: discovering and analyzing DNA and protein sequence motifs. *Nucleic acids research*, 34(suppl_2), W369-W373.
- Balint-Kurti, P. (2019). The plant hypersensitive response: concepts, control and consequences. *Molecular plant pathology*, 20(8), 1163-1178.
- Bartels, D., & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical reviews in plant sciences*, 24(1), 23-58.
- Bernhardt, E., Dodson, J., & Watterson, J. C. (1988). Cucurbit diseases: a practical guide for seedsmen, growers and agricultural advisors.
- Bigeard, J., Colcombet, J., & Hirt, H. (2015). Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Molecular plant*, 8(4), 521-539.
- Blom, N., Sicheritz-Pontén, T., Gupta, R., Gammeltoft, S., & Brunak, S. (2004). Prediction of post-translational glycosylation and phosphorylation of proteins from the amino acid sequence. *Proteomics*, 4(6), 1633-1649.
- Blum, M., Andreeva, A., Florentino, L. C., Chuguransky, S. R., Grego, T., Hobbs, E., ... & Bateman, A. (2024). InterPro: the protein sequence classification resource in 2025. *Nucleic Acids Research*, gkae1082. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1082>
- Boccardo, N. A., Segretin, M. E., Hernandez, I., Mirkin, F. G., Chacón, O., Lopez, Y., ... & Bravo-Almonacid, F. F. (2019). Expression of pathogenesis-related proteins in transplastomic tobacco plants confers resistance to filamentous pathogens under field trials. *Scientific reports*, 9(1), 2791.
- Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., & Shabala, S. (2014). ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. *Journal of experimental botany*, 65(5), 1241-1257.
- Breen, S. , Williams, S.J. , Outram, M. , Kobe, B. & Solomon, P.S. (2017) Emerging insights into the functions of pathogenesis-related protein 1. *Trends in Plant Science*, 22, 871–879.
- Breen, S., Williams, S. J., Outram, M., Kobe, B., & Solomon, P. S. (2017). Emerging insights into the functions of pathogenesis-related protein 1. *Trends in plant science*, 22(10), 871-879.
- Chen, Y.L. , Lee, C.Y. , Cheng, K.T. , Chang, W.H. , Huang, R.N. , Nam, H.G. et al. (2014) Quantitative peptidomics study reveals that a wound-induced peptide from PR-1 regulates immune signaling in tomato. *The Plant Cell*, 26, 4135–4148.
- Choudhary, V. , Darwiche, R. , Gfeller, D. , Zoete, V. , Michielin, O. & Schneider, R. (2014) The caveolin-binding motif of the pathogen-related yeast protein Pry1, a

member of the CAP protein superfamily, is required for in vivo export of cholesteryl acetate. *Journal of Lipid Research*, 55, 883–894.

Das, S., & Bansal, M. (2019). Variation of gene expression in plants is influenced by gene architecture and structural properties of promoters. *PLoS One*, 14(3), e0212678.

Delledonne, M., Zeier, J., Marocco, A., & Lamb, C. (2001). Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(23), 13454-13459.

Dietz, K. J., Turkan, I., & Krieger-Liszkay, A. (2016). Redox-and reactive oxygen species-dependent signaling into and out of the photosynthesizing chloroplast. *Plant physiology*, 171(3), 1541-1550.

Dos Santos, C., & Franco, O. L. (2023). Pathogenesis-related proteins (PRs) with enzyme activity activating plant defense responses. *Plants*, 12(11), 2226.

Dropkin, V. H. P. (1969). The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*. reversal by temperature.

El Atab, O. , Kocabey, A.E. , Asojo, O.A. & Schneider, R. (2022) Prostate secretory protein 94 inhibits sterol binding and export by the mammalian CAP protein CRISP2 in a calcium-sensitive manner. *The Journal of Biological Chemistry*, 298, 101600.

Elad, Y., Malathrakis, N. E., & Dik, A. J. (1996). Biological control of *Botrytis*-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops. *Crop protection*, 15(3), 229-240.

Enoki, S., & Suzuki, S. (2016). Pathogenesis-related proteins in grape. *Grape Wine Biotechnol*, 43, 46-49.

FAO, (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2024) FAOSTAT Statistics Division. <https://www.fao.org/faostat/en/#data>, Erişim Tarihi: 2/12/2024.

Farvardin, A., González-Hernández, A. I., Llorens, E., García-Agustín, P., Scalschi, L., & Vicedo, B. (2020). The apoplast: a key player in plant survival. *Antioxidants*, 9(7), 604.

Feechan, A., Turnbull, D., Stevens, L. J., Engelhardt, S., Birch, P. R., Hein, I., & Gilroy, E. M. (2015). The hypersensitive response in PAMP-and effector-triggered immune responses. *Plant programmed cell death*, 235-268.

Feng, S., Zhang, J., Mu, Z., Wang, Y., Wen, C., Wu, T., ... & Wang, H. (2020). Recent progress on the molecular breeding of *Cucumis sativus* L. in China. *Theoretical and Applied Genetics*, 133, 1777-1790.

- Fernández, C., Szyperski, T., Bruyere, T., Ramage, P., Möisinger, E., & Wüthrich, K. (1997). NMR solution structure of the pathogenesis-related protein P14a. *Journal of molecular biology*, 266(3), 576-593.
- Ficke, A., Cowger, C., Bergstrom, G., & Brodal, G. (2018). Understanding yield loss and pathogen biology to improve disease management: Septoria nodorum blotch—a case study in wheat. *Plant disease*, 102(4), 696-707.
- Flor, H. H. (1971). Current status of the gene-for-gene concept. *Annual review of phytopathology*, 9(1), 275-296.
- Gallitelli, D. (2000). The ecology of Cucumber mosaic virus and sustainable agriculture. *Virus research*, 71(1-2), 9-21.
- Gibbs, G. M., Roelants, K., & O'bryan, M. K. (2008). The CAP superfamily: cysteine-rich secretory proteins, antigen 5, and pathogenesis-related 1 proteins—roles in reproduction, cancer, and immune defense. *Endocrine reviews*, 29(7), 865-897.
- Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Giné, A., López-Gómez, M., Vela, M. D., Ornat, C., Talavera, M., Verdejo-Lucas, S., & Sorribas, F. J. (2014). Thermal requirements and population dynamics of root-knot nematodes on cucumber and yield losses under protected cultivation. *Plant pathology*, 63(6), 1446-1453.
- Gull, A., Lone, A. A., & Wani, N. U. I. (2019). Biotic and abiotic stresses in plants. *Abiotic and biotic stress in plants*, 7, 1-9.
- Güller, A., Demirel, S., Usta, M., & Korkmaz, G. (2024). Genetic Diversity of Cucumber Mosaic Virus in Cucumber Plants Grown in Diyarbakır Province. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 13(1), 1-6.
- Gupta, R., & Brunak, S. (2001). Prediction of glycosylation across the human proteome and the correlation to protein function. In *Biocomputing 2002* (pp. 310-322).
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, No. 41, pp. 95-98).
- Hammond-Kosack, K. E., & Jones, J. D. G. (1996). Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell*, 8(10), 1773.
- Han, Z., Xiong, D., Schneiter, R., & Tian, C. (2023). The function of plant PR1 and other members of the CAP protein superfamily in plant–pathogen interactions. *Molecular plant pathology*, 24(6), 651-668.
- Holmes, S. (2003). Bootstrapping phylogenetic trees: theory and methods. *Statistical Science*, 18(2), 241-255.

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, H., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi, M., & Zhao, Y. (2019). Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. *Frontiers in plant science*, 10, 800.

Huang, S., Van Aken, O., Schwarzländer, M., Belt, K., & Millar, A. H. (2016). The roles of mitochondrial reactive oxygen species in cellular signaling and stress response in plants. *Plant physiology*, 171(3), 1551-1559.

Irigoyen, M. L., Garceau, D. C., Bohorquez-Chaux, A., Lopez-Lavalle, L. A. B., Perez-Fons, L., Fraser, P. D., & Walling, L. L. (2020). Genome-wide analyses of cassava Pathogenesis-related (PR) gene families reveal core transcriptome responses to whitefly infestation, salicylic acid and jasmonic acid. *BMC genomics*, 21, 1-18.

Javed, T., Wang, W., Sun, T., Shen, L., Feng, X., Huang, J., & Zhang, S. (2024). Pathogenesis-Related 1 (PR1) Protein Family Genes Involved in Sugarcane Responses to *Ustilago scitaminea* Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(12), 6463.

Kasahara, M., Gutknecht, J., Brew, K., Spurr, N., & Goodfellow, P. N. (1989). Cloning and mapping of a testis-specific gene with sequence similarity to a sperm-coating glycoprotein gene. *Genomics*, 5(3), 527-534

Kattupalli, D., Srinivasan, A., & Soniya, E. V. (2021). A genome-wide analysis of pathogenesis-related protein-1 (PR-1) genes from *Piper nigrum* reveals its critical role during *Phytophthora capsici* infection. *Genes*, 12(7), 1007.

Kaur, A., Kaur, S., Kaur, A., Kaur Sarao, N., & Sharma, D. (2023). Pathogenesis-Related Proteins and Their Transgenic Expression for Developing Disease-Resistant Crops: Strategies Progress and Challenges. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.106774

Kaur, A., Pati, P. K., Pati, A. M., & Nagpal, A. K. (2020). Physico-chemical characterization and topological analysis of pathogenesis-related proteins from *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* using in-silico approaches. *PLoS One*, 15(9), e0239836.

Kayani, M. Z., Mukhtar, T., & Hussain, M. A. (2017). Effects of southern root knot nematode population densities and plant age on growth and yield parameters of cucumber. *Crop Protection*, 92, 207-212.

Kim, D. S., & Hwang, B. K. (2014). An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (PAL1) in salicylic acid-dependent signalling of the defence response to microbial pathogens. *Journal of experimental botany*, 65(9), 2295-2306.

Kong, X., Tian, H., Yu, Q., Zhang, F., Wang, R., Gao, S., ... & Ding, Z. (2018). PHB3 maintains root stem cell niche identity through ROS-responsive AP2/ERF transcription factors in *Arabidopsis*. *Cell Reports*, 22(5), 1350-1363.

Lee, S., Seo, P. J., Lee, H. J., & Park, C. M. (2012). A NAC transcription factor NTL4 promotes reactive oxygen species production during drought-induced leaf senescence in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 70(5), 831-844.

Lescot, M., Déhais, P., Thijs, G., Marchal, K., Moreau, Y., Van de Peer, Y., ... & Rombauts, S. (2002). PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic acids research*, 30(1), 325-327.

Li, Y. P., Liang, K. J., Li, M. T., Zhang, Y., Zhou, S. K., Chen, X., & Lang, J. B. (2015). Nutritional content and function of cucumber and grafting technique. *Shanghai Agric Sci Technol*, 1, 89-131.

Liang, D., Liu, M., Hu, Q., He, M., Qi, X., Xu, Q., ... & Chen, X. (2015). Identification of differentially expressed genes related to aphid resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Scientific reports*, 5(1), 9645.

Lu, H. W., Miao, H., Tian, G. L., Wehner, T. C., Gu, X. F., & Zhang, S. P. (2015). Molecular mapping and candidate gene analysis for yellow fruit flesh in cucumber. *Molecular Breeding*, 35, 1-8.

Lu, S. , Faris, J.D. & Edwards, M.C. (2017) Molecular cloning and characterization of two novel genes from hexaploid wheat that encode double PR-1 domains coupled with a receptor-like protein kinase. *Molecular Genetics and Genomics*, 292, 435–452.

Mahajan, S., & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics*, 444(2), 139-158.

Maleck, K., Levine, A., Eulgem, T., Morgan, A., Schmid, J., Lawton, K. A., ... & Dietrich, R. A. (2000). The transcriptome of Arabidopsis thaliana during systemic acquired resistance. *Nature genetics*, 26(4), 403-410.

Malundo, T. M. M., Shewfelt, R. L., & Scott, J. W. (1995). Flavor quality of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as affected by sugar and acid levels. *Postharvest Biology and Technology*, 6(1-2), 103-110.

Midoro-Horiuti, T., Brooks, E. G., & Goldblum, R. M. (2001). Pathogenesis-related proteins of plants as allergens. *Annals of allergy, asthma & immunology*, 87(4), 261-271.

Mithöfer, A., & Boland, W. (2012). Plant defense against herbivores: chemical aspects. *Annual review of plant biology*, 63(1), 431-450.

Mittler, R. (2017). ROS are good. *Trends in plant science*, 22(1), 11-19.

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F. (2004). Questions and future challenges. *Trends in Plant Science*, 10(9), 490-498.

Mohamed, A., Hamza, A., & Derbalah, A. (2016). Recent approaches for controlling downy mildew of cucumber under greenhouse conditions. *Plant Protection Science*, 52(1), 1.

Moosa, A., Farzand, A., Sahi, S. T., & Khan, S. A. (2018). Transgenic expression of antifungal pathogenesis-related proteins against phytopathogenic fungi—15 years of success. *Israel Journal of Plant Sciences*, 65(1-2), 38-54.

Naegele, R. P., & Wehner, T. C. (2017). Genetic resources of cucumber. *Genetics and genomics of Cucurbitaceae*, 61-86.

Park, Y. L., & Lee, J. H. (2002). Leaf cell and tissue damage of cucumber caused by twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 95(5), 952-957.

Patel, M., Surti, M., Ashraf, S. A., & Adnan, M. (2021). Physiological and molecular responses to heavy metal stresses in plants. *Harsh Environment and Plant Resilience: Molecular and Functional Aspects*, 171-202.

Punja, Z. K. (2001). Genetic engineering of plants to enhance resistance to fungal pathogens—a review of progress and future prospects. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 23(3), 216-235.

Qi, J., Liu, X., Shen, D. I., Miao, H., Xie, B., Li, X., ... & Huang, S. (2013). A genomic variation map provides insights into the genetic basis of cucumber domestication and diversity. *Nature genetics*, 45(12), 1510-1515.

Qureshi, S. A. (2018). Pest management in tropical vegetable systems in cucurbit crops (Doctoral dissertation, La Trobe).

Rahsepar, A., Haghani, M., Sedaratian-Jahromi, A., Ghane-Jahromi, M., & Farrar, N. (2016). Different cucumber (*Cucumis sativus*) varieties could affect biological performance of cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae), a case study at laboratory condition. *Entomofauna*, 37(21), 353-364.

Razin, S. V., Ioudinkova, E. S., Kantidze, O. L., & Iarovaia, O. V. (2021). Co-regulated genes and gene clusters. *Genes*, 12(6), 907.

Rodríguez-Sifuentes, L., Marszalek, J. E., Chuck-Hernández, C., & Serna-Saldívar, S. O. (2020). Legumes protease inhibitors as biopesticides and their defense mechanisms against biotic factors. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3322.

Rossi, M., Goggin, F. L., Milligan, S. B., Kaloshian, I., Ullman, D. E., & Williamson, V. M. (1998). The nematode resistance gene *Mi* of tomato confers resistance against the potato aphid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(17), 9750-9754.

Ryals, J., Uknes, S., & Ward, E. (1994). Systemic acquired resistance. *Plant physiology*, 104(4), 1109.

Safaei, M., Jorkesh, A., & Olfati, J. (2022). Chemical and biological products for control of powdery mildew on cucumber. *International Journal of Vegetable Science*, 28(3), 233-238.

Sasu, M. A., Seidl-Adams, I., Wall, K., Winsor, J. A., & Stephenson, A. G. (2010). Floral transmission of *Erwinia tracheiphila* by cucumber beetles in a wild *Cucurbita pepo*. *Environmental entomology*, 39(1), 140-148.

Savojardo, C., Martelli, P. L., Fariselli, P., Profiti, G., & Casadio, R. (2018). BUSCA: an integrative web server to predict subcellular localization of proteins. *Nucleic acids research*, 46(W1), W459-W466.

Savory, E. A., Granke, L. L., QUESADA-OCAMPO, L. M., Varbanova, M., Hausbeck, M. K., & Day, B. (2011). The cucurbit downy mildew pathogen *Pseudoperonospora cubensis*. *Molecular plant pathology*, 12(3), 217-226.

Sessa, G., Yang, X. Q., Raz, V., Eyal, Y., & Fluhr, R. (1995). Dark induction and subcellular localization of the pathogenesis-related PRB-1b protein. *Plant Molecular Biology*, 28, 537-547.

Sharma, A., Sharma, A., Kumar, R., Sharma, I., & Vats, A. K. (2021). PR proteins: key genes for engineering disease resistance in plants. In *Crop improvement* (pp. 81-98). CRC Press.

Shi, X. F., Li, Q., Li, X. H., Xiao, C., & Wang, S. N. (2010). The anti-oxidation effect of *Cucumis sativus* Linn. flavonoids. *Food Res Dev*, 31, 85-86.

Silva, J. P., & Coutinho, O. P. (2010). Free radicals in the regulation of damage and cell death--basic mechanisms and prevention. *Drug discoveries & therapeutics*, 4(3).

Spitz, F., & Furlong, E. E. (2012). Transcription factors: from enhancer binding to developmental control. *Nature reviews genetics*, 13(9), 613-626.

Szklarczyk, D., Kirsch, R., Koutrouli, M., Nastou, K., Mehryary, F., Hachilif, R., ... & Von Mering, C. (2023). The STRING database in 2023: protein–protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic acids research*, 51(D1), D638-D646.

Tarım ve Orman Bakanlığı. (2024). Hıyar – Kabak Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele. <https://www.tarimorman.gov.tr/> Erişim Tarihi: 14/11/2024.

Tian, W., Chen, C., Lei, X., Zhao, J., & CAST, J. L. 3.0: Computed atlas of surface topography of proteins., 2018, 46, pp. W363-W367. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gky473>.

Törönen, P., & Holm, L. (2022). PANNZER—a practical tool for protein function prediction. *Protein Science*, 31(1), 118-128.

Trecate, L., Sedláková, B., Mieslerová, B., Manstretta, V., Rossi, V., & Lebeda, A. (2019). Effect of temperature on infection and development of powdery mildew on cucumber. *Plant Pathology*, 68(6), 1165-1178.

- Tsakagoshi, H., Busch, W., & Benfey, P. N. (2010). Transcriptional regulation of ROS controls transition from proliferation to differentiation in the root. *Cell*, 143(4), 606-616.
- Van Baarlen, P., Van Belkum, A., Summerbell, R. C., Crous, P. W., & Thomma, B. P. (2007). Molecular mechanisms of pathogenicity: how do pathogenic microorganisms develop cross-kingdom host jumps?. *FEMS microbiology reviews*, 31(3), 239-277.
- Van Loon, L. C. (1999). Occurrence and properties of plant pathogenesis-related proteins. *Pathogenesis-related proteins in plants*, 1-19.
- Van Loon, L. C., & Van Strien, E. A. (1999). The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and molecular plant pathology*, 55(2), 85-97.
- Van Loon, L. C., Pierpoint, W. S., Boller, T. H., & Conejero, V. (1994). Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology Reporter*, 12, 245-264.
- Van Loon, L. C., Rep, M., & Pieterse, C. M. (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 44(1), 135-162.
- Verma, S., Nizam, S., & Verma, P. K. (2013). Biotic and abiotic stress signaling in plants. *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective*, Volume 1, 25-49.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and experimental botany*, 61(3), 199-223.
- Wang, F., Shen, S., Zhao, C., Cui, Z., Meng, L., Wu, W., ... & Wang, H. (2022). TaPR1 interacts with TaTLP1 via the α IV helix to be involved in wheat defense to *Puccinia triticina* through the CAPE1 motif. *Frontiers in Plant Science*, 13, 874654.
- Wang, G. F., & Balint-Kurti, P. J. (2015). Cytoplasmic and nuclear localizations are important for the hypersensitive response conferred by maize autoactive Rp1-D21 protein. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 28(9), 1023-1031.
- Wang, G. F., Ji, J., Ei-Kasmi, F., Dangl, J. L., Johal, G., & Balint-Kurti, P. J. (2015). Molecular and functional analyses of a maize autoactive NB-LRR protein identify precise structural requirements for activity. *PLoS pathogens*, 11(2), e1004674.
- Wang, G., Qin, Z., Zhou, X., & Zhao, Z. (2007). Genetic analysis and SSR markers of tuberculate trait in *Cucumis sativus*. *Chinese Bulletin of Botany*, 24(02), 168.
- Wang, J., & Higgins, V. J. (2005). Nitric oxide modulates H₂O₂-mediated defenses in the *Colletotrichum coccodes*-tomato interaction. *Physiological and molecular plant pathology*, 67(3-5), 131-137.

- Wangorsch, A., Scheurer, S., Blanca, M., Blanca-Lopez, N., Somoza, M. L., & Martín-Pedraza, L. (2022). Allergenic properties and molecular characteristics of PR-1 proteins. *Frontiers in Allergy*, 3, 824717.
- Williamson, J., & Griffin, R. (2016). Cucumber, squash, melon & other cucurbit insect pests. Clemson Cooperative Extension. HGIC, 2207.
- Wolfe, D., Dudek, S., Ritchie, M. D., & Pendergrass, S. A. (2013). Visualizing genomic information across chromosomes with PhenoGram. *BioData mining*, 6, 1-12.
- Yang, C., Li, W., Cao, J., Meng, F., Yu, Y., Huang, J., ... & Liu, J. (2017). Activation of ethylene signaling pathways enhances disease resistance by regulating ROS and phytoalexin production in rice. *The Plant Journal*, 89(2), 338-353.
- Yang, J., Liu, Y., Yan, H., Tian, T., You, Q., Zhang, L., ... & Xu, W. (2018). Plantear: functional analysis platform for plant ear motif-containing proteins. *Frontiers in Genetics*, 9. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00590>
- Yang, S. J., Chang, Y. Q., Zheng, L. H., Wei, Z. R., Qu, H. G., & Cao, S. G. (2005). Protective effects of cucurbitacin B on the acute liver injury induced by CCl₄. *Food Sci*, 26(9), 524-526.
- Yin, W., Bai, Y., Wang, S., Xu, K., Liang, J., Shang, Q., ... & Wang, L. (2023). Genome-wide analysis of pathogenesis-related protein-1 (PR-1) genes from Qingke (*Hordeum vulgare* L. var. *nudum*) reveals their roles in stress responses. *Heliyon*, 9(4).
- Yu, C. S., Lin, C. J., & Hwang, J. K. (2004). Predicting subcellular localization of proteins for Gram-negative bacteria by support vector machines based on n-peptide compositions. *Protein science*, 13(5), 1402-1406.
- Zehnder, G., Kloepper, J., Yao, C., & Wei, G. (1997). Induction of systemic resistance in cucumber against cucumber beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) by plant growth-promoting rhizobacteria. *Journal of Economic Entomology*, 90(2), 391-396.
- Zhang, J., Feng, S., Yuan, J., Wang, C., Lu, T., Wang, H., & Yu, C. (2021). The formation of fruit quality in *Cucumis sativus* L. *Frontiers in Plant Science*, 12, 729448.
- Zhao, Q., Zhou, L., Liu, J., Cao, Z., Du, X., Huang, F., ... & Cheng, F. (2018). Involvement of CAT in the detoxification of HT-induced ROS burst in rice anther and its relation to pollen fertility. *Plant Cell Reports*, 37, 741-757.
- Zribi, I., Ghorbel, M., Haddaji, N., Besbes, M., & Brini, F. (2023). Genome-wide identification and expression profiling of pathogenesis-related protein 1 (PR-1) genes in durum wheat (*Triticum durum* desf.). *Plants*, 12(10), 1998.

Ek-Tablo.1. CsPR1 proteinlerinin +3000 ön (up-stream) bölgesinde yer alan cis etkili elementler. (LR: ışığa duyarlı; PR: promotöre duyarlı; DR: gelişime duyarlı; SR: strese duyarlı; HR: hormona duyarlı)

cis-Acting Element	Tipi	Fonksiyon	CsPR1/1	CsPR1/2	CsPR1/3	CsPR1/4	CsPR1/5	CsPR1/6	CsPR1/7	CsPR1/8	CsPR1/9	CsPR1/10	CsPR1/11	CsPR1/12	CsPR1/13	CsPR1/14	CsPR1/15	CsPR1/16	CsPR1/17
CCGTCC-motif	DR	Meristeme spesifik aktivasyon																	4
CAT-box	DR	Meristem ifadesiyle ilgili cis-etkili düzenleyici unsur			1	1		1				1							
HD-Zip 1	DR	mezofil hücrelerinin farklılaşmasında rol oynayan element			1			1											
GCN4_motif	DR	endosperm ifadesinde yer alan düzenleyici element		1												1			
MBSI	DR	Flavonoid biyosentetik genlerin düzenlenmesinde yer alan MYB bağlanma bölgesi		2												1			
NON-box	DR	Meristeme özgü aktivasyonla ilgili cis-etkili düzenleyici unsur							1			1							
RY-element	DR	Tohuma özgü düzenlemede yer alan cis-etkili düzenleyici unsur		1							2								

AAGAA-motif	DR ve SR	bitki gelişimi ve stres tepkileri	4	3	1	4	5	3	2	3	3	4	1	3	1	4	2	4	5
F-box	DR ve SR	büyüme, gelişme, strese tepki					1					1							
ABRE	HR	absisik asit duyarlılığında rol	2	3	1		1	3	2	4	2	1	2	2		1	8	3	2
ABRE3a	HR	absisik asite (ABA) yanıt olarak gen ifadesinin düzenlenmesinde		1	1			2	1	1	1		1			1	1		
ABRE4	HR	absisik asit sinyal yolları, çeşitli abiyotik faktörlere karşı tepki		1	1			2	1	1	1		1			1	1		
AuxRE	HR	auksine duyarlı bir elementin parçası					1				1								
AuxRR-core	HR	auksine duyarlı cis-acting düzenleyici element															2		
CGTCA-motif	HR	MeJA duyarlılığında yer alan cis etkili düzenleyici unsur	1	1	1		1	2	1		1	6	3		1	4	1		5
ERE	HR	etilen duyarlılığında yer alan cis-etkili element		2	1	1	2	1	2	2	1	1	8	3		2	3	4	1
GARE-motif	HR	gibberelline duyarlı element				1				1									
P-box	HR	gibberelline duyarlı eleman	1	3	1		2	1					1						1
SARE	HR	Salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element					1												

TCA-element	HR	Salisilik asit duyarlılığında rol oynayan cis-etkili element		1		2				4			1		1			1	
box S	HR	hormonel düzenleme		1					1			2							
TCA	HR ve SR	metabolik yollar, strese tepki	2	4	2		1	1	1	1	4	2	1			2	1		
3-AF1 binding site	LR	ışığa duyarlı element	1			1			1										
ACE	LR	ışığa tepki vermede rol oynayan cis-etkili element			1				1					1					
AE-box	LR	ışığa tepkisi için bir modülün parçası	1	2			1		1	1		2	1	1	2	1	1	1	1
Box 4	LR	ışığa yanıt vermede yer alan korunmuş DNA modülü	7	5	7	5	5	6	4	6	11	4	7	3	4	3	4	5	4
Box II	LR	ışığa tepkisi için bir modülün parçası						1	1										
CAG-motif	LR	ışık tepkisi elemanının parçası									1								
GATA motif	LR	ışığa duyarlı bir ögenin parçası				1				1	1						1	4	
G-Box1	LR	Işık duyarlılığında yer alan cis-etkili düzenleyici unsur	2	2			1	1	1	1	3	1	1	2			4	2	1
G-Box2	LR	Işık duyarlılığında yer alan cis-etkili düzenleyici unsur	1	2	1			2	1	1			3			1	5	2	2
I-box	LR	ışığa duyarlı bir ögenin parçası		1					1	2	1	1		1			1	1	

LAMP-element	LR	ışığa duyarlı bir öğenin parçası																1	
GT1-motif	LR	ışığa duyarlı eleman		3	1		4				1	1		4	1		1		1
GAP-box	LR	ışığa duyarlı bir öğenin parçası			1						1		1						
GT1-motif	LR	ışığa duyarlı element						1					2			1			
MRE	LR	Işık duyarlılığında yer alan MYB bağlanma bölgesi		1	2		2	1	1					3	1	1	1		3
Sp1	LR	ışığa duyarlı element						1				1			1				
TCCC-motif	LR	ışığa duyarlı bir öğenin parçası	1	2	2		1				1								1
TCT-motif	LR	ışığa duyarlı bir öğenin parçası	1	1	1		1	1	2		1	1	1	1	2			1	2
TGA-element	LR	auksine duyarlı element	1		1			1			1	4				1	1	1	
TGACG-motif	LR	MeJA duyarlılığında yer alan cis etkili düzenleyici unsur	1	1	1		1	2	1		1	6	3		1	4	1		5
chs-CMA1a	LR	ışığa duyarlı bir öğenin parçası						1					1			1		1	1
chs-CMA2a	LR	ışığa duyarlı bir öğenin parçası			1												1		1
circadian	LR ve DR	Sirkadiyen kontrolde yer alan cis-etkili düzenleyici unsur	1					2											1

as-1	LR, SR, HR	ışık tepkisi, stres tepkisi ve hormonal düzenleme	1	1	1		1	2	1		1	6	3		1	4	1		5
A-box	PR	cis-etkili düzenleyici element																	2
AC-I	PR	cis-etkili düzenleyici element (fenilpropanoid metabolizması)					1									1	1	1	
AC-II	PR	cis-etkili element								1	1								1
ACTCATCCT sequence	PR	Prolin Dehidrojenaz (ProDH) geninin promotör bölgesinde tanımlanan cis-etkili bir düzenleyici element							1						1			1	
AT-rich sequence	PR	Maksimum elisitör aracılı aktivasyon için öge, AT açısından zengin DNA bağlama proteininin (ATBP-1) bağlanma bölgesi (PR1/2)	1	1		1	1				1		1				1		
AT~TATA-box	PR	transkripsiyon başlatma kompleksi	9	5	21	6	4	4	13	24	24	2	18	12	18	6	3	4	5
CAAT-box	PR	promotör ve arttırıcı bölgelerde ortak cis-etkili eleman	66	56	68	36	29	85	67	65	58	71	62	69	63	61	68	70	71
CCAAT-box	PR	MYBHv1 bağlanma bölgesi										1					1	1	1
CTAG-motif	PR	transkripsiyon faktor						1	1						1				

HD-Zip 3	PR	protein bağlama bölgesi								1	1		1						
MYB-recognition site	PR	Transkripsiyon faktörü, ikincil metabolizma										1					1	1	1
MYB	PR	Transkripsiyonal faktör	4	1	3	3	2	4	3	2	6	8	5	8		7	6	6	7
MYB-like sequence	PR	fizyolojik ve çevresel uyaranlara yanıt	2	1	1	2		3	1		2	1	2	4	2	6	3	2	3
MYC	PR	transkripsiyon faktör, bağışıklık tepkisinde genlerin düzenlenmesi	5	9	3	2	1	11	4	15	9	10	3	7	8	12	2	5	9
TATA	PR	transkripsiyon başlatan transkripsiyon faktörü kompleksinin bir parçası	3	2	4				4	4	2				2	1	5		1
TATA-box	PR	çekirdek promotör elemanı, transkripsiyon başlangıcından -30 civarında	109	65	132	74	37	64	96	134	134	34	106	97	124	80	81	55	63
Unnamed__1	PR	60K protein bağlanma bölgesi		1	1	1	2		1		2	1		1	1		4	1	1
W box	PR	cis-etkili düzenleyici element			1		4	2	2					2	1	1		1	1
WRE3	PR	yaralar karşı duyarlı genlerin düzenlenmesi		1				1	1			4							1
ATCT-motif	PR and LR	Işığa yanıt vermede rol oynayan korunmuş bir DNA modülünün parçası			1				2	1						1			1

AP-1	PR and SR	streslere yanıt, gen ekspresyonunu düzenliyor			1							1		1		1			
TATC-box	PR ve HR	Gibberellin duyarlılığında yer alan cis-etkili element	1	1						1					1	1			
ATC-motif	PR ve LR	Işığa yanıt vermede rol oynayan korunmuş bir DNA modülünün parçası										1	1						
AT1-motif	PR ve LR	ışığa duyarlı bir modülün parçası							1										
GA-motif	PR ve LR	ışığa duyarlı bir ögenin parçası	1					1								1	1		
Myc	PR, LR, HR, DR	transkripsiyon faktör, ışık duyarlı, hormonlara cevap, büyümede rol	1	1		1	1				1		1	1		1			1
GC-motif	PR-ve SR	Anoksik spesifik uyarılabilirlikte yer alan artırıcı benzeri element						2											
ARE	SR	Anaerobik indüksiyon için gerekli olan cis-etkili düzenleyici element	2	3	3	1	2	6	4	3	5	3	4	5	1	4	2	6	5
DRE core	SR	çeşitli abiyotik streslere karşı tepkiler					2			1					1	1	1		
DRE1	SR	çeşitli streslere karşı tepki (özellikle, abiyotik streslere karşı)		1															
LTR	SR	Düşük sıcaklık duyarlılığında yer						1				1			1	3	2	2	

		alan cis-etkili element																		
MBS	SR	Kuraklığın indüklenebilirliğinde yer alan MYB bağlanma bölgesi	1	2	2		3	1	2	2	2	1	2			2			1	
O2-site	SR	Zein metabolizmasının düzenlenmesinde yer alan cis-etkili düzenleyici element		1	1			1		1	1	1		1	1		1			
STRE	SR	çeşitli streslere karşı duyarlılık	1	1	3			3	2	3	5	1	2	3	1	1	5	1	2	
WUN-motif	SR	stres, mekaniksel hasarlara tepisi			1		2	1	1	3			2	3	1		2	3	2	
TC-rich repeats	SR and PR	Savunma ve strese yanıt vermede rol oynayan cis-etkili unsur	2	2	1	1			1			2	1		1		1	2		
Myb-binding site	SR ve DR	Streslere yanıt, bitki gelişimi				1	1			1		1		1			1	2		
Myb	SR ve DR	ikincil metabolizmasının biosentezi	3	3	2		3	2	3	2	3	2	4	1		2			2	
Unnamed__2							1	1	1			1		1	1	1			1	
Unnamed__4			14	24	20	4	11	10	14	16	20	25	16	18	16	9	14	16	9	
Unnamed__6				1	1	1		1	1				1				2			

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Hamiz Nasrullazade

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2022, Bakı Devlet Üniversitesi, Biyoloji
- **Yüksek Lisans** : 2025, Haliç Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim dalı

