

**T.C.  
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DOMATES (*Solanum lycopersicum* L.)'TE VİRÜS ENFEKSİYONU  
VE KURAKLIK STRESİ SIRASINDA miRNA'LAR VE  
HEDEFLEDİKLERİ MYB TRANSKRİPSİYON  
FAKTÖRLERİNİN EKSPRESYONLARININ BELİRLENMESİ**

**Fatma SARIKAYA**

**Danışman  
Prof. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK**

**II: Danışman  
Prof. Dr. Bayram ÇEVİK**

**ISPARTA - 2020**



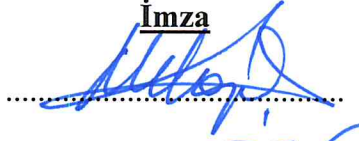
© 2020 [Fatma SARIKAYA]

TEZ ONAYI

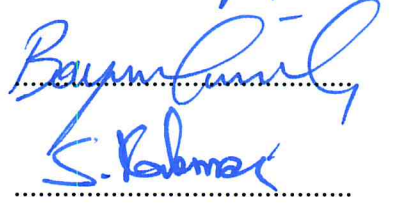
**DOMATES (*Solanum lycopersicum* L.)'TE VİRÜS ENFEKSİYONU  
VE KURAKLIK STRESİ SIRASINDA miRNA'LAR VE  
HEDEFLERİNİN MYB TRANSKRİPSİYON  
FAKTÖRLERİNİN EKSPRESYONLARININ BELİRLENMESİ**

Fatma SARIKAYA tarafından hazırlanan bu tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

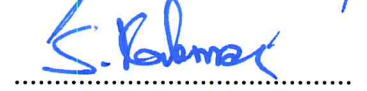
**Danışman Prof. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK**  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

**İmza**  


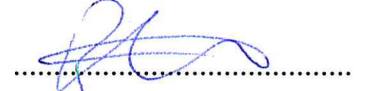
**II. Danışman Prof. Dr. Bayram ÇEVİK**  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



**Üye Prof. Dr. Savaş KORKMAZ**  
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi



**Üye Doç. Dr. Birsen ÇAKIR AYDEMİR**  
Ege Üniversitesi



**Üye Doç. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY**  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Yukarıdaki Jüri kararı Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... tarih ve ...../..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Yusuf UÇAR**  
Enstitü Müdürü

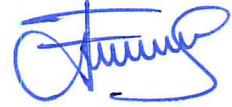
## **ETİK BEYANI**

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak ve bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmasında;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

23/12/2019

**Fatma SARIKAYA**



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER .....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	ix
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	6
2.1. Domates .....	6
2.2. Çevresel Stres Faktörleri .....	8
2.2.1. Abiyotik stres faktörleri .....	10
2.2.1.1. Kuraklık stresi .....	12
2.2.1.2. Domates üretimi ve abiyotik stres faktörleri.....	13
2.2.2. Biyotik stres faktörleri.....	14
2.2.2.1. Domates üretimi ve biyotik stres faktörleri.....	15
2.2.2.2. Domates lekeli solgunluk virüsü.....	16
2.3. Bitkisel Üretimde Abiyotik ve Biyotik Streslerin Birlikte Etkileri.....	19
2.4. Çevresel Streslerin Hücrede Algılanması ve İletimi .....	20
2.5. Bitkilerde Transkripsiyon Faktörleri ve Çevresel Stresler Sırasında Önemleri.....	23
2.6. MYB Transkripsiyon Faktörleri.....	24
2.7. Çevresel Stresler Sırasında Bazı Önemli MYB TF'leri ve Etkileri .....	26
2.8. MikroRNA'lar ve Transkripsiyon Sonrası Önemleri.....	29
2.9. Bitkilerde MikroRNA'ların Biyosentezi.....	29
2.10. Çevresel Stresler Sırasında Bazı Önemli miRNA'lar ve Etkileri .....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	34
3.1. Bitki Materyali .....	34
3.1.1. Alsancak.....	34
3.1.2. Sedir .....	34
3.1.3. Bitki materyalinin yetiştirilmesi.....	35
3.2. Mekanik İnokülasyon.....	35
3.3. TSWV Enfekteli Bitkilerin Testlenmesi .....	37
3.4. Kuraklık Stresi .....	38
3.5. TSWV/Kuraklık Uygulaması.....	39
3.6. Total RNA İzolasyonu .....	40
3.7. MYB Genlerinin Seçimi .....	41
3.8. cDNA Sentezi ve Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) .....	42
3.9. Real-Time PCR .....	43
4. BULGULAR.....	44
4.1. TSWV İnokülasyonu Enfekteli Bitkilerin Testlenmesi .....	44
4.2. Kuraklık Stresi ve Etkileri.....	46
4.3. TSWV İnokülasyonu ve Kuraklık Stresi Uygulamalarının Bitkilerde Ortak Etkileri .....	48
4.4. Total RNA İzolasyonu .....	51
4.5. Referans Genlerin Seçimi .....	52

4.6. cDNA Sentezi ve Real-Time PCR .....	53
4.7. Gen Ekspresyon Düzeyleri Belirlenecek MYB Genlerinin Seçimi .....	55
4.8. <i>SIMYB44</i> Geninin Ekspresyon Analizleri .....	57
4.9. <i>SIMYB73</i> Geninin Ekspresyon Analizleri .....	60
4.10. <i>SIMYB96</i> Geninin Ekspresyon Analizleri .....	63
4.11. <i>SIMYB101</i> Geninin Ekspresyon Analizleri .....	66
4.12. <i>Sly</i> -miR159 Geninin Biyotik ve Abiyotik Stresler Sırasında Ekspresyon Analizlerinin Karşılaştırılması .....	69
4.13. <i>Sly</i> -miR159 ve <i>SIMYB44</i> , <i>SIMYB73</i> , <i>SIMYB96</i> , <i>SIMYB101</i> Genlerinin TSWV Enfeksiyonu Sırasındaki Ekspresyonlarının Karşılaştırılması .....	71
4.14. <i>Sly</i> -miR159 ve <i>SIMYB44</i> , <i>SIMYB73</i> , <i>SIMYB96</i> , <i>SIMYB101</i> Genlerinin Kuraklık Stresi Sırasındaki Ekspresyonlarının Karşılaştırılması .....	73
4.15. <i>Sly</i> -miR159 ve <i>SIMYB44</i> , <i>SIMYB73</i> , <i>SIMYB96</i> , <i>SIMYB101</i> Genlerinin TSWV/Kuraklık Uygulaması Sırasındaki Ekspresyonlarının Karşılaştırılması .....	75
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	77
KAYNAKLAR .....	84
ÖZGEÇMİŞ .....	102

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### DOMATES (*Solanum lycopersicum* L.)'TE VİRÜS ENFEKSİYONU VE KURAKLIK STRESİ SIRASINDA miRNA'LAR VE HEDEFLEDİKLERİ MYB TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİNİN EKSPRESYONLARININ BELİRLENMESİ

Fatma SARIKAYA

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK

II. Danışman: Prof. Dr. Bayram ÇEVİK

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), ülkemizde ve dünyada ekonomik değere sahip önemli tarımsal ürünlerden biridir. Ancak, domates üretiminde verimi ve kaliteyi olumsuz yönde etkileyen pek çok abiyotik ve biyotik stres faktörleri bulunmaktadır. Kuraklık stresi, domateste büyüme ve gelişmeyi sınırlandıran ciddi bir sorundur. Ayrıca, domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) domates üretim alanlarında sıkça karşılaşılan ve yıkıcı etkilere neden olan virüstur. Son yıllarda, bitkilerde abiyotik ve biyotik streslere yanıt yollarında yer alan stresin algısı, sinyal iletimi, düzenleyici elementler ve moleküler mekanizmaları içeren birkaç moleküler ağ tanımlanmıştır. Çeşitli bitki türlerinde tekli stres etmenleri üzerinde ortaya çıkarılan bu mekanizmalar, doğada çoklu stresler ile karşı karşıya kalan bitkilerin yanıt mekanizmalarının açıklanmasında yetersiz kalmaktadır. Transkripsiyon faktörleri (TF'ler) ve mikroRNA (miRNA)'lar bitkilerin çevresel streslere karşı yanıt mekanizmalarının düzenlenmesinde kilit rol oynamaktadırlar. Bu yapılar, büyüme ve gelişme, çevresel streslere karşı adaptasyon ve tolerans gibi birçok süreçte yer alan genlerin ekspresyonundan ve/veya baskılanmasından sorumludurlar. Yapılan bu tez çalışması kapsamında, *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* ve *Sly-miR159* genlerinin TSWV'ye karşı duyarlı Alsancak ve TSWV'ye karşı dayanıklı Sedir domates çeşitlerinde TSWV enfeksiyonu, kuraklık stresi ve TSWV/kuraklık uygulaması sırasındaki ekspresyon seviyeleri belirlenmiştir. Bu amaçla, domates bitkilerinden TSWV enfeksiyonun 7., 14. ve 21. günlerde, kuraklık stresinin ve TSWV/kuraklık uygulamasının 0., 3., 5. ve 7. günlerde yaprak örnekleri alınmıştır. Gen ekspresyonu düzeyindeki değişimler  $2^{-\Delta\Delta CT}$  yöntemi kullanılarak real-time RT-PCR ile belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda domateste hem tekli hem de çoklu stres uygulamaları sırasında *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* ve *Sly-miR159* genlerin stres çeşidine göre farklı düzeylerde ifade edildikleri belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Domates, TSWV enfeksiyonu, Kuraklık stresi, MYB transkripsiyon faktörleri, mikroRNA, Gen ekspresyonu

2020, 102 sayfa

## ABSTRACT

M.Sc. Thesis

### DETERMINATION OF THE EXPRESSION OF MYB TRANSCRIPTION FACTORS TARGETED BY miRNAs DURING VIRUS INFECTION AND DROUGHT STRESS IN TOMATO (*Solanum lycopersicum* L.)

Fatma SARIKAYA

Isparta University of Applied Sciences  
The Institute of Graduate Education  
Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK

Co-Supervisor: Prof. Dr. Bayram ÇEVİK

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the important agricultural products of economic value in our country and in the world. However, there are many abiotic and biotic stress factors that negatively affect yield and quality in tomato production. Drought stress is a serious problem that limits growth and development in tomatoes. In addition, Tomato spotted wilt virus (TSWV) is a virus frequently encountered in tomato production areas and causes destructive effects. In recent years, several molecular networks have been identified, including perception of stress, signal transduction, regulatory elements and molecular mechanisms involved in the response pathways to abiotic and biotic stresses in plants. These mechanisms, which have been revealed on single stress factors in various plant species, are insufficient to explain the response mechanisms of plants facing multiple stresses in nature. Transcription factors (TFs) and microRNAs (miRNAs) play a key role in regulating the response mechanisms of plants to environmental stresses. These constructs are responsible for the expression and / or repression of genes involved in many processes such as growth and development, adaptation to environmental stresses and tolerance. This thesis study, TSWV infection, drought stress and and TSWV/drought application of TSMV-sensitive Alsancak and TSWV-resistant Sedir tomato cultivars of *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* and *Sly-miR159* genes expression levels were determined. For this purpose, leaf samples were taken from tomato plants on the 7., 14. and 21. days of TSWV infection and on the 0., 3., 5. and 7. days of drought stress and TSWV/drought application. Changes in gene expression levels were determined by real-time RT-PCR using  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. As a result of the analyzes, it was determined that *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* and *Sly-miR159* genes were expressed at different levels according to the stress type during both single and multiple stress applications in tomato.

**Key Words:** Tomato, TSWV infection, Drought stress, MYB transcription factors, microRNA, Gene expression

**2020, 102 pages**



## **TEŞEKKÜR**

Tezimin yürütülmesinde, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, çalıŐmamın tamamlanmasında desteklerini ve emeklerini hiçbir zaman esirgemeyen tez danıŐmanım sayın Prof. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK'e ve eş danıŐmanım sayın Prof. Dr. Bayram ÇEVİK'e teŐekkürlerimi sunarım.

Tez çalıŐmam boyunca bana deneyimlerini aktaran ve manevi desteklerini esirgemeyen arkadaŐlarım Ziraat Yüksek Mühendisi İlhom RAHAMKULOV'a, Ziraat Yüksek Mühendisi Nadire SAKALLI'ya ve Ziraat Yüksek Mühendisi Betül GNLKIRMAZ'a teŐekkürü bir borç bilirim. Laboratuvar alıŐma arkadaŐlarım Ziraat Mühendisi Merve GÜNEY'e ve Ziraat Mühendisi Deniz ERKAN'a teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleŐmesinde 1150561 numaralı proje ile maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan, her zaman desteklerini gördüğüm, bana güvenen kıymetli aileme sonsuz sevgi, saygı ve minnetlerimi sunarım.

**Fatma SARIKAYA**  
ISPARTA, 2020

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Türkiye’de 2001 ve 2018 yılları arasında domates üretim miktarı.....	8
Şekil 2.2. Dünya genelinde kullanılabilir tarım alanlarının stres faktörlerine göre sınıflandırılması .....	10
Şekil 2.3. Domates lekeli solgunluk virüsünün genom yapısı ve L, M ve S RNA segmentlerinde gen ekspresyonu .....	17
Şekil 2.4. Bitkilerde abiyotik ve biyotik stresler sırasında sinyal iletim yolu.....	21
Şekil 2.5. Bitkilerde biyotik ve abiyotik stres tepkisinin düzenlenmesi .....	22
Şekil 2.6. Domates genomunda kodlanan bazı transkripsiyon faktörü ailelerinin dağılımı .....	23
Şekil 2.7. MYB transkripsiyon faktörlerinin domain bölgelerine göre gruplandırılması .....	25
Şekil 2.8. Bitkilerde mikroRNA’ların biyosentez yolu.....	29
Şekil 3.1. Alsancak ve Sedir domates tohumlarının çimlendirilmesi ve fidelerin saksılara şaşırtılması .....	35
Şekil 3.2. Alsancak ve Sedir domates bitkilerine mekanik inokülasyon ile Domates lekeli solgunluk virüsünün bulaştırılma aşamaları .....	37
Şekil 4.1. Alsancak ve Sedir domates bitkilerinin 21 günlük Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu sırasındaki gelişimi .....	44
Şekil 4.2. Domates lekeli solgunluk virüsü inokülasyonunun 21. gününde Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait yaprak örneklerinde virüs enfeksiyonunun belirlenmesi. ....	46
Şekil 4.3. Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitkilerin 7 günlük kuraklık stresi sırasındaki gelişimleri .....	47
Şekil 4.4. Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitkilerin 7 günlük Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık uygulaması sırasındaki gelişimleri.....	49
Şekil 4.5. Alsancak domates çeşidine uygulanan stresler sırasında <i>18SrRNA</i> , <i>Actin</i> , <i>GAPDH</i> , <i>SnoU6</i> , <i>Tubulin</i> ve <i>Ubiquitin</i> referans genlerinin ekspresyon analizleri .....	52
Şekil 4.6. Alsancak domates çeşidinin kuraklık stresi uygulanmış ve uygulanmamış 0. gün örneklerinin random primer, oligo (dT) primer ve random primer+oligo (dT) primeri kullanılarak elde edilen cDNA’larının amplifikasyon düzeyleri ve elde edilen bu cDNA’ların 18SrRNA ve SnoU6 genlerinin ekspresyon seviyeleri üzerine olan etkisi.....	54
Şekil 4.7. Alsancak domates çeşidine ait kuraklık stresi uygulanmış ve uygulanmamış 7. gün örneklerinde <i>SIMYB101</i> , <i>SIMYB109</i> , <i>SIMYB15</i> , <i>SIMYB31</i> , <i>SIMYB60</i> , <i>SIMYB73</i> ve <i>SIMYB96</i> genlerinin ekspresyonlarının analizi.....	56
Şekil 4.8. <i>SIMYB44</i> geninin Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık stresi uygulaması sırasında ekspresyon analizi .....	59
Şekil 4.9. <i>SIMYB73</i> geninin Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık stresi uygulaması sırasında ekspresyon analizi .....	62

Şekil 4.10. <i>SIMYB96</i> geninin Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık stresi uygulaması sırasında ekspresyon analizi .....	65
Şekil 4.11. <i>SIMYB101</i> geninin Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü /kuraklık stresi uygulaması sırasında ekspresyon analizi.....	68
Şekil 4.12. Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü /kuraklık uygulaması yapılmış olan ve kontrol grubu bitkilerinde <i>Sly-miR59</i> genin ekspresyon analizi .....	70
Şekil 4.13. Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu sırasında <i>Sly-miR159</i> , <i>SIMYB44</i> , <i>SIMYB73</i> , <i>SIMYB96</i> ve <i>SIMYB101</i> genlerinin ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	72
Şekil 4.14. Kuraklık stresi sırasında <i>Sly-miR159</i> , <i>SIMYB44</i> , <i>SIMYB73</i> , <i>SIMYB96</i> ve <i>SIMYB101</i> genlerinin ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması .....	74
Şekil 4.15. Domates lekeli solgunluk virüsü /Kuraklık uygulaması sırasında <i>Sly-miR159</i> , <i>SIMYB44</i> , <i>SIMYB73</i> , <i>SIMYB96</i> ve <i>SIMYB101</i> genlerinin ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	76

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Çizelge 3.1. Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonunun real-time RT-PCR yöntemiyle belirlenmesinde kullanılan probe ve primerlere ait primer kodları ve dizileri.....	38
Çizelge 3.2. Abiyotik ve biyotik stress faktörleri sırasında bitkilerde etkili olan bazı MYB TF'leri.....	42
Çizelge 3.3. miR159-RT primerine ait primer kodu ve primer dizisi.....	42
Çizelge 4.1. Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinin 7 günlük kuraklık stresi boyunca toprak nem oranları (%).....	48
Çizelge 4.2. Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitkilerin 7 günlük Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık stresi uygulaması boyunca toprak nem oranları.....	50
Çizelge 4.3. Total RNA izolasyonu sonrası bazı örneklerle ait konsantrasyon ve kalite değerleri.....	51
Çizelge 4.4. Gen ekspresyonunun belirlenmesinde kullanılan referans genler ve ekspresyon seviyeleri belirlenen <i>SIMYB44</i> , <i>SIMYB73</i> , <i>SIMYB96</i> , <i>SIMYB101</i> , <i>Sl-miR159</i> genlerinin primer kodu ve primer dizileri.....	56

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABA	Absisik asit
AGO	Argonaute protein
AVM	Avian myeloblastosis virüsü
Avr	Avirülens
BLAST	Basic Local Alignment Tool
bZIP	Temel lösin fermuar
Ca <sup>+2</sup>	Kalsiyum
cDNA	Tamamlayıcı <i>DNA</i>
Cl <sup>-</sup>	Klor
CMV	Hıyar mozaik virüsü
Cr	Krom
Cu	Bakır
DBD	DNA bağlanma domaini
DNA	Deoksiribonükleik asit
DREP	Dehidrasyona duyarlı protein
ERF	Etilen duyarlılık faktörü
ETI	Efektör tarafından tetiklenen bağışıklık
FAO	Gıda ve tarım örgütü
Fe	Demir
GAPDH	Gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz
GTs	Glikozil transferazlar
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
HD-ZIP	Homeodomain-lösin fermuar
HTH	Heliks-turn-heliks/sarmal-dönüş-sarmal
K <sup>+</sup>	Potasyum
LEA	Geç embriyogenez bağımlı
Mb	Megabaz
mg	Miligram
MIR	miRNA genleri
miRNA	MikroRNA
mM	Milimolar
Mn	Mangan
mRNA	Mesajcı RNA
MYB	Myeloblastosis
Na	Sodyum
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	Sodyum sülfid
NaCl	Sodyum klorür
ng	Nanogram
nm	Nanometre
NO <sup>-3</sup>	Nitrat
nt	Nükleotid
PAMP	Patojenle ilgili moleküler yapılar
PEG	Polietilen glikol
PepMV	Pepino Mozaik virüsü
PRR	Tanıyıcı reseptör yapılar
PSII	Fotosistem II
PTI	PAMP ile tetiklenen bağışıklık
PVX	Patates X virüsü

PVY	Patates Y virüsü
R	Resistance
RdRp	RNA-bağımlı RNA polimeraz
RISC	RNA-kaynaklı susturma proteini
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
rpm	Dakikadaki devir sayısı
RT-PCR	Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Sw-5	Domateste TSWV dayanıklılık geni
TAD	trans-etkili domain
TF	Transkripsiyon faktörü
TMV	Tütün mozaik virüsü
ToCV	Domates kloroz virüsü
ToMV	Domates mozaik virüsü
ToTV	Domates torrado virüsü
TSWV	Domates lekeli solgunluk virüsü
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TYLCV	Domates sarı yaprak kıvrıcıklığı virüsü
v-myb	Viral MYB
vRNAs	Viral iplikli RNA'lar
WHO	Dünya sağlık örgütü
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar

## 1. GİRİŞ

Bitkiler, ekosistemin önemli bir bölümünü oluşturmaktadırlar ve insanlar tarafından gıda, barınak, ilaç gibi temel ihtiyaçların yanı sıra ekonomik olarak boya, kozmetik, kağıt endüstrisi ve biyoyakıt üretiminde kullanılmaktadırlar. Doğaları gereği buldukları bölgedeki toprağa tutunan bitkiler, hayatta kalmak için su, karbon, ışık ve mineral besin maddelerine ihtiyaç duymaktadırlar. Bunun yanı sıra, bitkiler genellikle sürekli değişen ortamlarda hayatta kalma yeteneğine sahiptirler. Ancak, son yıllarda insan nüfusundaki hızlı artış, sanayileşme, su kirliliği vb. faktörler küresel ısınmayı hızlandırarak öngörülemeyen iklim değişikliklerinin ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Bu durum birçok bitki türünde öncelikle yüksek ve/veya düşük sıcaklıklardan dolayı ve diğer birçok faktörden kaynaklı olarak bitkilerde çeşitli streslerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Stres, temelde bir fizik terimidir ve bu açıdan değerlendirildiğinde, bir cisme uygulanan birim alan başına mekanik kuvvet olarak tanımlanmaktadır. Biyoloji terimi olarak değerlendirildiğinde ise stres, fotosentez oranını sınırlayan ve bir bitkinin ışık enerjisini biyokütleye dönüştürme yeteneğini azaltan herhangi bir abiyotik ve/veya biyotik kısıtlayıcılar olarak tanımlanmaktadır (Grime, 1977). Çevresel stres faktörleri olarak adlandırılan abiyotik/biyotik stres etmenleri bitkisel üretimi ve verimi olumsuz yönde etkilemektedir. Stres ilerleyen aşamalarda bitkinin ölümü ile sonuçlanabilecek geri dönüşümsüz ciddi zararlara da neden olabilmektedir. Ancak, bitkiler hayatta kalmak için stres faktörlerine karşı çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir.

Bitkilerin stres faktörlerine karşı oluşturduğu savunma mekanizmalarının anlaşılması ve bu mekanizmalara bağlı olarak bitkilerde çeşitli streslere karşı dayanıklılık ve/veya tolerans mekanizmalarının geliştirilmesi tarımsal verimlilik ve sürdürülebilirlik açısından oldukça önemlidir. Örneğin, streslere karşı yeterli düzeyde savunma mekanizmasına sahip olmayan bitkilerde fazla su ve gübre tüketimi gerçekleşmektedir. Dolayısıyla bu durum çevreyi büyük oranda etkilemektedir (Zhu, 2016). Ayrıca, bitkisel üretimi sınırlayan faktörler her bitkide aynı etkiye sahip olmayabilir. Aynı tür içerisinde yer alan, ancak farklı çeşitlere ait bitkilerde dahi çevresel streslere karşı dayanıklılık ve/veya tolerans seviyelerinde farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Bir başka ifadeyle bir bitki için stres oluşturan faktör diğer bir bitki için stres oluşturmayabilir. Bu nedenle de, farklı bitki tür ve

çeşitlerinde farklı stres faktörleri sırasında bitkilerde oluşan tepkilerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal düzeyde doğru bir şekilde anlaşılması gerekmektedir. Bitki tür ve çeşitlerinin yanında stresin etki süresi ve çeşidi, oluşan hasarın boyutu ve kalıcılığının belirlenmesi dayanıklılık ve/veya tolerans mekanizmalarının belirlenmesi açısından oldukça önem taşımaktadır.

Domates (*Solanum lycopersicum* L.), *Solanaceae* familyasında yer alan önemli tarımsal ürünlerden birisidir. Kısa yaşam döngüsüne sahip olması ve geniş coğrafi alanlarda yetiştirilebilir olması nedeniyle ülkemizde ve dünyada yaygın olarak üretimi gerçekleştirilmektedir. Domates, taze olarak tüketiminin yanında pişirilerek de salça, ketçap, sos, çorba vb. gibi çok geniş tüketim olanaklarının olması nedeniyle endüstriyel açıdan da oldukça önemlidir. Ayrıca, domates hem bahçe ve/veya tarla hem de sera ortamında yetiştirilmeye uygun bir bitki olması, bu nedenle de yılın birçok bölümünde tüketiciye sunulması ve aynı zamanda tüketici açısından çok geniş bir ürün yelpazesine sahip olması gibi nedenlerden dolayı da tüketiciler ve üreticiler açısından oldukça fazla tercih edilen bir üründür. Ancak, domates yetiştiriciliğinde ekonomik zarara neden olan, verimi ve kaliteyi sınırlandıran veya bazı durumlarda tamamen engelleyen kuraklık, soğuk, yüksek tuzun yaratmış olduğu çeşitli abiyotik stres faktörleri ve çeşitli patojen ve böceklerden kaynaklı birçok biyotik stres etmeni bulunmaktadır. Bu abiyotik ve/veya biyotik stresler ve bu streslerin çeşitli kombinasyonları özellikle arazi koşullarında büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyerek verimi düşürmektedir. İklim değişikliğiyle birlikte diğer bitkilerde olduğu gibi domates üretimi sırasında da giderek daha fazla stres faktörü ile karşılaşmaktadır. Bu durum, domates üretiminde oldukça önemli düzeyde verim kayıplarının yaşanmasına neden olarak üreticiler açısından da büyük bir sorun haline gelmektedir.

Dünya Meteoroloji Örgütü (World Meteorological Organization, WMO), 1850 yılından sonra en sıcak dönemin 2001 ve 2010 yılları arasındaki zaman diliminde gerçekleştiğini bildirmişlerdir (Tripathi vd., 2015). İklim üzerine yapılan tahminlere göre gelecek 50-100 yıl içerisinde ortalama yüzey sıcaklıklarının 3-5°C artacağı ve bu durumun tarımsal üretim üzerinde oldukça olumsuz etkilerinin olacağı tahmin edilmektedir (Anonim, 2007). Artış gösteren sıcaklıklar beraberinde kuraklık stresini de çok önemli bir sorun haline getirmektedir. Yapılan son araştırmalara göre, dünya



topraklarının üçte biri kurak ve yarı kurak alanlardan oluşmaktadır (Fang ve Xiong, 2015). Son yıllarda yaşanan ve gittikçe önemli etkileri olan küresel iklim değişikliği ve buna bağlı olarak gelişen sıcaklıklardaki artışlar dünya genelinde kuraklığın daha fazla yerde görülmesine neden olmuş ve bu nedenlerle de kuraklık tarımsal üretimi etkileyen en önemli abiyotik stres faktörü olarak değerlendirilmektedir. Kuraklık, tarımsal üretimde verim ve kaliteyi olumsuz yönde etkilemektedir. Kuraklık stresine dayanıklı ve/veya toleranslı olabilmek amacıyla birçok bitki tür ve çeşidinde farklı düzeylerde gerçekleşen çeşitli adaptasyon mekanizmaları gerçekleşmektedir. Bu adaptasyon mekanizmaları arasında ise; stomaların kapanması, bodurlaşma, daha güçlü ve derinlere inen bir kök sisteminin geliştirilmesi ve çeşitli antioksidan bileşiklerin ve ozmotik koruyucuların miktarlarında meydana gelen artışlar sayılabilir.

Günümüzde, birçok üretici kuraklık stresinin yanında, üretim sırasında çeşitli biyotik stres etmenleri ile karşı karşıya kalmakta ve bu etmenlerle mücadele sırasında kültürel mücadele yöntemlerinin yeterli olmadığı durumlarda kimyasal mücadeleye başvurmaktadırlar. Ancak, mevcut kimyasal mücadele yöntemlerinin pahalı olması, uygulama sırasında kullanılan kimyasal maddelerin ekosistem üzerine olan olumsuz etkilerinin olması, böceklerin ve çeşitli patojenlerin kimyasal mücadele sırasında kullanılan kimyasal maddelere karşı zamanla dayanıklılık kazanmaları gibi olumsuzluklar kimyasal mücadele sırasında yaşanmakta olan sorunlardır. Özellikle, biyotik stres etmenleri arasında yer alan virüslerin neden olduğu hastalıkların kontrol altına alınması ve/veya tamamen ortadan kaldırılması oldukça güç olmaktadır. Kullanılan kontrol stratejileri ile mevcut virüslerin yeni suşlarının ve/veya tamamen yeni virüslerin sürekli olarak ortaya çıkmasının önüne geçilememektedir. Bu durum ise, tarımsal üretimde virüslere dayanıklı ve/veya toleranslı bitki tür ve çeşitlerinin geliştirilmesini bir zorunluluk haline getirmektedir.

Ekonomik açıdan oldukça önemli bir bitki olan domateste de verim ve kaliteyi ciddi boyutlarda etkileyen ve hastalık etmeni olan birçok virüs bulunmaktadır. Ancak, domateste yaygın olarak görülen ve en yıkıcı etkilere sebep olan Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV)'dür. Bu virüs, domates bitkilerinde yapraklar üzerinde siyah noktalar ve kahverengiden bronz renge dönüşen lekeler oluştururken, yaprak sapında, gövdede ve yeni gelişen sürgünlerde koyu

kahverengi lekelerin oluşmasına neden olmaktadır. Ayrıca, çiçek sayısını, meyve sayısını ve meyve verimini de oldukça önemli düzeylerde düşürmektedir.

Bitkilerde abiyotik ve biyotik streslere karşı dayanıklılık ve/veya tolerans geliştirilmesi sırasında çeşitli transkripsiyon faktörleri (TF), çok sayıda protein kodlayıcı RNA (mRNA)'lar ve protein kodlayıcı olmayan RNA (miRNA)'lar rol oynamaktadırlar. Transkripsiyon faktörleri (TF'ler), transkripsiyonu aktive edebilen ve/veya baskılayabilen sekansa spesifik DNA-bağlanma proteinleridir (Zhang, 2003). Günümüzde, WRKY, NAC, MYB, bZIP, AP2 gibi birçok TF ailesi tanımlanmıştır. MYB TF ailesi ise, tüm ökaryotik canlılarda yer almaktadır ve bitkilerde bulunan en büyük TF ailelerinden birini oluşturmaktadır. Bitkilerde MYB TF'leri; organ morfogenezi, sekonder metabolitlerin üretimi, hücre döngüsünün denetimi, abiyotik ve biyotik stres faktörlerine yanıt gibi birçok farklı fonksiyonlara sahiptirler. Çeşitli stresler sırasında transkripsiyonel regülasyon sırasında TF'ler oldukça önemli düzeyde rol oynarken miRNA olarak bilinen büyük bir RNA sınıfını içeren küçük kodlayıcı olmayan RNA'lar transkripsiyon sonrası gen regülasyonunun düzenlenmesinde görev almaktadırlar. miRNA'lar; büyüme ve gelişme, çevresel streslere adaptasyon ve tolerans gibi birçok spesifik sürecin önemli moleküler düzenleyicileridir (Alptekin vd., 2017).

Bitkilerin çevresel streslere yanıtta temel adaptasyon mekanizmalarının araştırılması ve aydınlatılması tarımsal üretimde verimliliğin artırılması bakımından kritik bir öneme sahiptir. Son yıllarda, bitkilerin birkaç farklı strese karşı aynı anda maruz kalması nedeniyle çoklu stresler sırasında bitkilerde geliştirilen dayanıklılık ve/veya tolerans stratejilerinin anlaşılmasına ve geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Son zamanlarda yapılan araştırmalar sonucunda bazı TF'lerin ve miRNA'ların çevresel streslere yanıt olarak transkripsiyonu arttırıcı ve/veya baskılayıcı olarak belirlenmesi, TF'lerin ve miRNA'ların abiyotik-biyotik streslere karşı bitki direncinde hayati öneme sahip olduklarını göstermiştir.

Yapılmış olan bu Yüksek Lisans Tez çalışması kapsamında da, TSWV'ye karşı duyarlı ve TSWV'ye karşı dayanıklı olduğu bilinen domates çeşitlerine mekanik inokülasyon aracılığı ile TSWV'nin enfeksiyonu gerçekleştirilmiştir. İnokülasyonun gerçekleştirilmesinin ardından 7., 14. ve 21. günlerde bitkilerden yaprak örnekleri

toplanmıştır. Aynı zamanda, TSWV enfeksiyonunun gerçekleştirilmediği domates çeşitlerine kuraklık stresi, su kısıtlaması yöntemi ile 7 gün boyunca uygulanmış ve kuraklığın 0., 3., 5. ve 7. günlerinde bitkilerden yaprak örnekleri toplanmıştır. Domates bitkisinde önemli bir abiyotik stres etmeni olan kuraklığın ve önemli bir biyotik stres etmeni olan TSWV'nin kombineli olarak gen ifadesi düzeyinde etkilerini belirlemek amacıyla TSWV enfeksiyonunun gerçekleştirildiği ve kuraklığın uygulandığı domates çeşitlerine TSWV/kuraklık uygulaması 7 gün boyunca aynı anda uygulanmıştır. Kombine stres uygulamasının 0., 3., 5. ve 7. günlerinde bitkilerden yaprak örnekleri toplanmıştır. Farklı stresler sırasında toplanan yaprak örneklerinden izole edilen RNA'lar kullanılarak yapılan real-time PCR analizleri ile iki farklı domates çeşidinde TSWV enfeksiyonu ve kuraklık stresi sırasında ayrı ayrı olarak ve bu streslerin kombineli bir şekilde uygulanması sırasında gen ifadesinde meydana gelen değişimler MYB transkripsiyon faktörü ailesine ait dört TF'nin (*S/MYB44*, *S/MYB73*, *S/MYB96* ve *S/MYB101*) ve domateste önemli bir miRNA olarak bilinen *Sly-miR159*'un ifade düzeylerinde meydana gelen değişimler incelenerek belirlenmeye çalışılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Domates

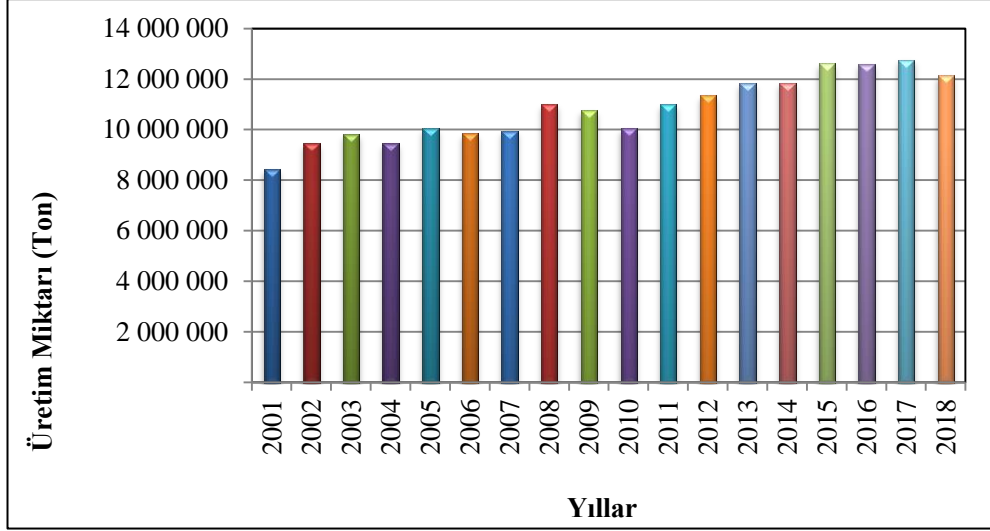
Domates (*Solanum lycopersicum* L.), *Solanaceae* familyasının *Solanum* cinsine ait önemli bir tarımsal üründür (Peralta vd., 2008). Yabani domates türlerinin Ekvador'un merkezinden, yüksek And Dağlarına, Peru'dan, Şili'nin kuzeyine ve oradan Galapagos Adalarına kadar Güney Amerika'nın kıyı bölgesine özgü olduğu belirlenmiştir (Bergougnoux, 2014). Domatesin, ilk kez Meksika'da kültüre alındığı (Jenkins, 1948) ve isminin Meksika'da yerel bir dil olan Nahuatl dilinde 'küresel ve sulu meyvelere sahip bitkiler' anlamına gelen 'tomalt' kelimesinden türetildiği düşünülmektedir (Bauchet ve Causse, 2012). Günümüzde, *S.lycopersicum*'un yetiştiriciliği yapılan birçok çeşidi bulunmaktadır. Genellikle, kırmızı meyveye sahip olmakla birlikte meyvenin rengi, şekli, kalitesi, büyüme alışkanlığı ve yaprak morfolojisi bakımından çeşitler arasında önemli farklılıklar gözlemlenmektedir (Grandilio vd., 1996; van der Knaap ve Tanksley, 2001; Holtan ve Hake, 2003).

Domatesin olgunlaşmamış yeşil meyvelerinin su içeriği %91 iken, olgunlaşmış kırmızı meyvelerinin su içeriği yaklaşık %93 civarlarında bulunmaktadır. Meyve bileşiminin geri kalan kısmını oluşturan maddeler arasında şekerler (glukoz, fruktoz ve sakkaroz) %55, proteinler, selüloz, pektinler ve polisakkaritler %21, organik asitler (sitrik asit, malik asit, galakturonik asit ve karboksilik asit) %12, karotenoidler, askorbik asit, uçucu bileşikler, amino asitler %5 ve inorganik bileşikler %7 oranında bulunmaktadır (Ercan, 2002). Domates, likopen, beta-karoten, flavonoidler, C vitamini ve hidrokisisinamik asit türevleri gibi önemli besin maddeleri içeriği nedeniyle sağlık açısından koruyucu bir gıda olarak kabul edilmektedir. Özellikle, son yıllarda likopenin oksidasyonu ve kanser önleyici etkilerinin keşfedilmesiyle birlikte domatesin popülaritesi artmıştır (Gerszberg vd., 2015). Ayrıca, domates doğrudan taze tüketilebilmesinin yanı sıra gıda endüstrisinde işlenerek çorba, meyve suyu, salça, konserve, turşu, ketçap vb. gibi diğer gıda maddelerine dönüştürülmesi nedenleri ile de hem yetiştiriciler hem de tüketiciler tarafından oldukça fazla tercih edilen bir sebzedir. Aynı zamanda, domates kısmen küçük bir genoma (950 Mb) ve kısa bir yaşam döngüsüne sahip olması, farklı yetiştirme koşulları altında kültüre alınabilmesi, kendi kendine tozlanması ve

homozigotluk oranına kısa zamanda ulaşılmasının mümkün olması, aşılama ile çoğaltılabilmesi ve farklı bitki doku parçaları kullanılarak yeni bir bitkinin kısa zamanda elde edilebilmesinin mümkün olması, gen duplikasyon oranının düşük olması gibi nedenlerden dolayı da hem temel hem de uygulamalı araştırma programları için ideal bir bitki konumundadır (Gerszberg vd., 2015).

Domates, genel olarak tropik bir bitki olarak kabul edilmekle birlikte, düşük sıcaklıkların üretimi kısıtladığı alanlarda sera içerisinde de yetiştirilme olanağının olması nedeniyle de dünyanın hemen hemen her bölgesinde yetiştiriciliği yapılabilen bir sebze türü olarak da düşünülmektedir (Foolad, 2007). İklım isteği bakımından domates; ılık ve sıcak iklim grubunda yer almaktadır. En iyi gelişim gösterdiği sıcaklık derecesi 17-27 °C'dir. Sıcaklığın 13 °C'nin altına düşmesi ve 30 °C'nin üzerine çıkması ile; bitki büyümesi yavaşlamakta, iek tozu oluşumu ve canlılığı azalmakta ve tohumlarının çimlenme yeteneği düşmektedir. Bu gelişmelerle birlikte aynı zamanda meyve oluşumunda da azalmalar meydana gelmektedir (zbahe ve Padem, 2007).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım rgt (Food and Agriculture Organization of The United Nations, FAO)'nn raporuna göre, 2017 yılında domates, 4 848 384 ha alanda yaklaşık olarak 183 milyon ton üretimi ile dünya genelinde yetiştiriciliği yapılan sebzeler arasında ilk sırada ve tüm tarım ürünleri arasında ise 11. sırada yer almaktadır. Yine aynı yıl, in 59 514 773 ton domates üretimi ile dünyada ilk sırada yer alırken, ikinci sırayı 20 708 000 ton üretimi ile Hindistan takip etmektedir. Ülkemiz ise, dünya domates üretiminde oldukça önemli bir yere sahiptir. FAO'nun 2017 yılı verilerine göre ülkemiz domates üretiminde 187 070 ha alanda 12 750 000 ton üretimi ile dünyada 3. sırada yer almaktadır. Türkiye'yi 10 910 990 ton domates üretim ile ABD takip etmektedir (Anonim, 2019a). Türkiye İstatistik Kurumu (TİİK)'ndan elde edilen bilgilere göre 2001-2018 yılları arasında ülkemizde domates üretim verileri Şekil 2.1'de verilmiştir (Anonim, 2019b).



Şekil 2.1. Türkiye’de 2001 ve 2018 yılları arasında domates üretim miktarı (Anonim, 2019b)

Domatesin dünyada ve ülkemizde yetiştiriciliği diğer sebzelere kıyasla oldukça fazla yapılmasına rağmen, yetiştiricilik sırasında karşılaşılan çeşitli çevresel stres faktörleri nedeni ile verim ve kalite de azalmalar yaşanmaktadır. Günümüzde, yapılan birçok çalışma ile domatesten çeşitli çevresel stres faktörlerine karşı dayanıklı ve/veya toleranslı yeni domates çeşitleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu nedenle de, meydana gelen verim kayıplarının ve bu kayıplardan kaynaklanan ekonomik zararın ortadan kaldırılabilmesi için domates bitkisinin yetiştiriciliği sırasında karşılaşılan çevresel stres faktörlerine karşı bitkinin göstermiş olduğu tepki ve/veya tepkilerin mekanizmalarının anlaşılması gerekmektedir.

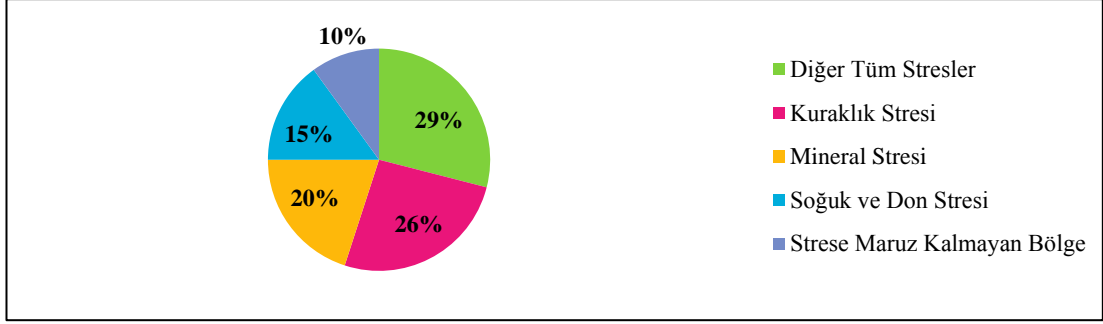
## 2.2. Çevresel Stres Faktörleri

Bitkiler, yaşamları boyunca buldukları yerde ve kısmen hareketsiz kaldıklarından dolayı birçok stres faktörü ile karşı karşıya kalmaktadırlar. Büyüme ve gelişmeyi sınırlandıran stres, bir fizik terimi olmasının yanı sıra biyolojide çeşitli şekillerde ifade edilmektedir. Levitt (1980), stresi canlı organizmalar için elverişsiz herhangi bir çevre faktörü olarak tanımlamıştır (Gaspar vd., 2002). Aynı zamanda, çevresel stresler bir bitkinin büyüme ve gelişmesi sırasında metabolik iç dengenin değişmesi ve/veya bozulmasına neden olan herhangi bir olumsuz koşul olarak da tanımlanabilmektedir (Shulaeva vd., 2008). Çevresel streslere maruz kalan bir bitkide, çevresel streslere tepki olarak bitkinin gen ifadesinde (ekspresyonunda) meydana gelen değişikliklerle birlikte metabolik faaliyetler etkilenmekte ve

dolayısıyla da bitkinin büyüme hızında ve verimliliğinde azalmalar oluşmaktadır (Shao vd., 2008).

Çeşitli araştırmalar, bir bitkinin yaşamı boyunca herhangi bir stres faktörüne maruz kalması ile o bitkide meydana gelen tepkinin sonraki nesillere genetik olarak aktarıldığını ve nispeten öngörülebilir bir strese tolerans ve/veya dayanıklılık sağlandığını ortaya çıkarmıştır. Bu durum, priming (hazırlama) olarak ifade edilmektedir ve deoksiribo nükleik asit (deoxyribonucleic acid, DNA) sekansında herhangi bir değişiklik olmaksızın sadece fenotipik düzeyde meydana gelen tepki ile ifade edilmektedir (Lämke ve Bäurle, 2017). Örneğin, günlük ve mevsimsel olarak yaşanan döngüler ile düzenli ve öngörülebilir şekilde değişen çevresel etmenlere karşı verilen tepkiler metabolizmada ciddi bir değişikliğe neden olmamaktadır. Bu nedenle, çevresel etmenlerden herhangi birinde meydana gelen herhangi bir değişiklik ve/veya herhangi bir bitki için optimum olmayan bir koşul bitkilerde mutlak suretle bir strese neden olmamaktadır (Shao vd., 2008). Sonuçta, çevresel stres faktörlerine karşı bitkilerde ortaya çıkan tepki bitkinin türüne ve çeşidine, mevcut stresin türüne ve şiddetine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Piasecka vd., 2019).

Bitkilerin doğal habitatlarında sürekli ve aynı anda karşı karşıya kaldıkları çevresel stres koşulları arasında kuraklık, sıcaklık, yüksek tuz, soğuk, donma, yüksek ışık yoğunluğu, mekanik yaralanma, ağır metaller vb. gibi çeşitli abiyotik ve virüsler ve viroidler, biyotrofik ve nekrotrofik mantarlar, bakteriler, fitoplazmalar, oomyceteler, nematodlar vb. gibi çeşitli biyotik stres faktörleri yer almaktadır (Nejat ve Mantri, 2017). Abiyotik ve biyotik stres faktörleri, yalnızca mevcut ürünlere etki etmekle kalmaz, aynı zamanda tarımsal üretim alanı olarak kullanılmayan bölgelerde de yetiştiriciliğin şekillenmesindeki en önemli engel olarak karşımıza çıkmaktadır (Gaspar vd., 2002). Dünya genelinde kullanılabilir tarım alanları stres faktörlerine göre sınıflandırıldığında sırasıyla kuraklık stresi %26, mineral stresi (tuzluluk, ağır metal vb.) %20, soğuk ve don stresi %15 ve bunların dışında kalan diğer tüm stresler %29'luk bir paya sahip iken, sadece %10'luk bir alan herhangi bir stres faktörüne maruz kalmayan bir alan olarak tanımlanmaktadır (Blum, 1986; Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Dünya genelinde kullanılabilir tarım alanlarının stres faktörlerine göre sınıflandırılması

Büyüme ve gelişmeyi etkileyen çevresel stres faktörleri, ilerleyen zamanlarda bitkilerde geri dönüşü olmayan ciddi hasarlara neden olabilmektedir. Hatta bazı durumlarda, bitkilerin stres faktörlerine karşı yeterli düzeyde tepki veremedikleri ve/veya geliştiremedikleri durumlarda bitkilerin ölümleri ile de karşılaşmaktadır.

### 2.2.1. Abiyotik stres faktörleri

Abiyotik stresler, bitkilerin büyüme ve gelişimine olumsuz yönde etki eden ve kalıcı olmayan faktörler olarak tanımlanmaktadır (Novakovic vd., 2018). Dünya genelinde, ürün kayıplarının birincil nedeni olarak abiyotik stres faktörleri gösterilmekte ve tarımsal üretimde verim üzerinde %50'den daha fazla oranlarda azalmanın olmasına neden olmaktadır (Rodríguez vd., 2006). Bitkilerde abiyotik stresler sırasında genel olarak stomalarda kapanma, fotosentezde azalma, çeşitli ozmolitlerin birikiminde artış ve streslere dayanıklılık ve/veya toleransta etkili genlerin ifade edilmesi ile moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik düzeyde birtakım değişiklikler meydana gelmektedir (Yamaguchi-Shinozaki ve Shinozaki, 2006).

Tarımsal üretim alanlarının sürekli olarak kullanılmasına bağlı olarak toprakta artış gösteren  $\text{Na}^+$  gibi toksik maddeler bitkilerin sitoplazmasında birikmekte ve  $\text{K}^+$  gibi esansiyel iyonların eksikliği ile iyon dengesinin bozulmasına ve bitkilerde tuz stresine neden olmaktadır (Huang vd., 2012). Yüksek tuz stresi sırasında su molekülleri, çözünmeyle birlikte ayrılan moleküllerin iyonlarında tutulmaktadır. Bu durumda toprakta yüksek düzeyde osmotik basınç oluşmakta ve bu nedenle de bitki toprakta bulursa bile var olan bu suyu kullanamamakta ve fizyolojik kuraklık oluşmaktadır (Korkmaz ve Durmaz, 2017). Osmotik stresin devamında ise, iyon



stresi ortaya çıkmaktadır. Ortamda artan  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonları;  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  ve  $\text{NO}^{-3}$  gibi bitkiler için gerekli besin elementleri ile rekabete girmektedir. Bunun sonucunda da bitkilerde besin eksikliği ve/veya besin miktarında dengesizlik ortaya çıkmaktadır (Hu ve Schmidhalter, 2005). Aynı zamanda, tuz stresi sırasında iyon dengesi bozulmakta ve hücre metabolizması için toksik olan  $\text{Na}^+$  bazı önemli enzimlerin işleyişi üzerinde zararlı etkiye neden olmaktadır. Bununla birlikte, yüksek  $\text{Na}^+$  konsantrasyonu; osmotik düzeyde dengesizliğe, büyümede azalmaya, hücre bölünmesinin inhibisyonuna, fotosentezin azalmasına ve reaktif oksijen türleri (reactive oxygen species, ROS)'nin üretiminde artışa neden olmaktadır (Mahaja ve Tuteja, 2005).

Bitki metabolizmasını etkileyen önemli abiyotik stres faktörlerinden birisi de sıcaklıktır. Bitki türüne göre çeşitlilik gösteren sıcaklık değerleri minimum, optimum ve maksimum olarak sınıflandırılmaktadır. Bitkilerin doğada varlıklarını sürdürebilmeleri sıcaklık sınırına olan dayanıklılıkları ile doğru orantılıdır (Korkmaz ve Durmaz, 2017). Yüksek sıcaklık tohum çimlenmesi, gelişme, üreme, fotosentez gibi bir dizi fizyolojik süreç üzerinde etkide bulunarak verim üzerinde negatif bir etkiye neden olmaktadır (Ahanger vd., 2017). Bitkilerde düşük sıcaklıkların neden olduğu soğuk stresi ise, bitkilerin metabolik faaliyetlerini doğrudan etkilemelerinin yanı sıra dolaylı olarak da osmotik ve oksidatif stresler gibi diğer streslerin ortaya çıkmasına neden olarak bitkilerde gen ekspresyonu düzeyinde birçok değişikliğin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Chinnusamy vd., 2007). Çeşitli bitki grupları donma derecesinde olmayan sıcaklıklara bir süre maruz kalarak soğuğa karşı tolerans geliştirmektedirler. Bu olay "soğuk uyumu" (cold-acclimation) olarak adlandırılmakta ve soğukun bitkiler üzerinde meydana getirdiği zararın azaltılmasında rol oynamaktadır (Thomashow, 1999). Genel olarak, bitkiler sıcaklıklarda meydana gelen değişikliklere bağlı olarak kendi içlerinde çeşitli tolerans stratejileri geliştirmişlerdir. Bu stratejiler arasında; stomalarını kapatma, osmoprotektanların, ısı şoku proteinlerinin ve sekonder metabolitlerin miktarlarında artışlar, yağ asitlerinin kompozisyonlarında değişikliklerin gerçekleşmesi ve sıcaklıkların değişimi sırasında oluşan ROS'ların etkisiz hale getirilmesinde görev alan enzimlerin aktivasyonlarında artışların olması sayılabilir (Wang vd., 2017).

Düşük ve yüksek ışık yoğunluğuna maruz kalan bitkilerde ise, diğer stres etmenlerine benzer şekilde bazı değişimler gözlemlenmekte ve bitki büyüme ve gelişimi olumsuz yönde etkilenmektedir. Genel olarak, bitki büyüme ve gelişmesi sırasında meydana gelen fazla ışık, biyomoleküllerin ve enzimlerin manipüle edilmesine neden olan ROS ara ürünlerinin üretimini artırarak fotooksidasyonu başlatmaktadır (Meena vd., 2017).

Yoğun tarım uygulamaları, dünya nüfusunda meydana gelen hızlı artışlar ve beraberinde gerçekleşen hızlı şehirleşme toprakta ağır metallerin birikmesine neden olmaktadır (Emamverdian vd., 2015). Uzun süre ağır metallere (Cr, Cu, Mn, Fe vb.) maruz kalan bitkiler; kök, gövde, yaprak, meyve, tohum gibi çeşitli dokularında bu metalleri biriktirmektedirler (Hong-Bo, 2010). Ağır metaller, bitkilerde direkt olarak oksidatif hasara neden olarak ROS'ların bitki bünyesinde üretilmesine neden olmaktadır. Bunun sonucu olarak da, hücre homeostası bozulmakta, DNA iplikçisinde kırılmalar gözlemlenmekte, proteinlerin yapısı bozulmakta veya hücre zarı ve fotosentetik pigmentler hasar görmektedir (Emamverdian vd., 2015). Ayrıca, kökler uzamamakta, saçak kök oluşumu azalmakta, köklerde ve gövdede yaş ve kuru ağırlık azalmakta, yaprak morfolojisi bozulmakta ve büyüme gecikmektedir (Ayhan vd., 2006). Bitkiler metal toksisitesine karşı ağır metalleri vakuollerde depolama ve şelatlama yaparak veya ağır metallerin hücre membranlarına doğru taşınımını azaltarak tolerans sağlamaktadırlar (Öktüren-Asri ve Sönmez, 2006).

### **2.2.1.1. Kuraklık stresi**

Kuraklık; yağış miktarının azalmasına bağlı olarak yer altı su tabakasında meydana gelen küçülme ve sıcaklık artışı ile birlikte su kullanımının sınırlandırılması olarak tanımlanan meteorolojik bir terimdir (Joshi vd., 2016). Bununla birlikte kuraklık; tarımsal, hidrolojik ve sosyo-ekonomik olarak da farklı şekillerde tanımlanabilmektedir. Tarımsal anlamda kuraklık, bir bitkinin ihtiyaç duyduğu suyu topraktan alamaması (Mengü vd., 2011) iken, hidrolojik kuraklık; nehir, göl ve yer altı su kaynaklarında bulunan su miktarındaki azalma olarak açıklanmaktadır. Sosyo-ekonomik kuraklık ise, meydana gelen bütün kuraklıklar sonucu ekonomik dengenin bozulması olarak açıklanmaktadır (Mishra ve Singh, 2010). Meydana gelen iklim değişiklikleri kurak geçen dönemlerin sıklığında, yoğunluğunda ve süresinde

artışlara ve dünya üzerinde yer alan kurak bölgelerin haritasında birtakım değişikliklerin olmasına neden olmuştur (Cramer vd., 2011). Meydana gelen bu değişikliklerle birlikte aynı zamanda dünyanın birçok bölgesinde tarımsal üretim sırasında su kaynakları yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak, yakın gelecekte hızla artan nüfus ile birlikte etkisini giderek arttıran kuraklıkla suyun nadir bulunacağı öngörülmektedir (Chaves vd., 2003). Ayrıca, kuraklığın neden olduğu ciddi tarımsal ürün kayıplarının yanı sıra ekolojik hasar, toprak erozyonu ve arazilerin çölleşmesi karşılaşılan ve/veya karşılaşılabilecek diğer önemli sorunlar arasındadır (Fang ve Xiong, 2015).

Bitkiler, kuraklık stresinin ilk dönemlerinde daha fazla suya ulaşabilmek amacıyla gövde uzamasını yavaşlatıp kök gelişimlerini arttırmaktadırlar (Öztürk, 2015). Kuraklığın uzun süre devam etmesine bağlı olarak da yaprak su potansiyeli ve stoma açılımı azalmakta ve bu sırada fotosentez seviyesindeki düşüşün en önemli nedenlerinden biri olarak gösterilen fotosentetik pigmentler ve tilakoid membran zarar görmektedir (Fahad vd., 2017). Bu gelişmelerin sonucu olarak yaprak boyutu azalmakta, kök büyümesi baskılanmakta, tohum sayısı, büyüklüğü ve canlılığı azalmakta, çiçek ve meyve oluşumu gecikmekte, bitki büyümesi ve verimliliği azalmaktadır (Meena vd., 2017). Kurak koşullara dayanıklılık ve/veya tolerans sırasında bitkilerde; su kanal proteinleri, LEA proteinleri, şaperonlar, proteazlar, detoksifikasyon enzimleri, protein kinazlar, TF'leri, fosfolipaz C, makromoleküller ve membran bütünlüğünü koruyan proteinler görev almaktadırlar (Shinozaki ve Yamaguchi-Shinozaki, 1997). Ayrıca, yine tolerans mekanizmasının bir parçası olan ozmotik düzenlemede görev alan mannitol, prolin, glisin, betain, trehaloz, fruktan, inositol vb. organik maddelerle birlikte bazı inorganik bileşikler de hücre içerisinde aktif olarak birikmektedirler (Fang ve Xiong, 2015).

#### **2.2.1.2. Domates üretimi ve abiyotik stres faktörleri**

Domates, çeşitli abiyotik stres faktörlerine karşı oldukça hassas bir bitkidir. Bu nedenle yüksek tuz, düşük sıcaklıklar, yüksek ışık yoğunluğu vb. stres faktörlerinden etkilenmektedir. Ancak, bu stresler arasında yer alan düşük sıcaklıklar ve kuraklık streslerinin domates yetiştiriciliği sırasında etkileri diğer tüm abiyotik stres faktörleri arasında etki derecelerinin yüksek olduğu ve birçok domates çeşidinin yetiştiriciliği

üzerinde oldukça sınırlayıcı etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Özellikle, erken gelişme ve meyvenin gelişmesi döneminde karşı karşıya kalınan kuraklık stresi domatesin yaşam döngüsünü olumsuz olarak etkileyerek verimi çarpıcı bir biçimde azaltmaktadır (Çelik vd., 2017).

### **2.2.2. Biyotik stres faktörleri**

Bitkilerde, biyotik streslere bağlı verim kayıplarının yaklaşık %35 olduğu düşünülmektedir (Savary vd., 2012). Birçok böcek, fungus, bakteri ve nematod besin kaynağı olarak bitkileri kullanmaktadır. Bununla birlikte, bitkiler büyüme ve gelişme evrelerinin tamamında virüs ve virüs benzeri patojenlere de maruz kalabilmektedirler. Ayrıca, son yıllarda meydana gelen iklim değişiklikleri böceklerin ve patojenlerin habitat aralıklarında bir değişimin olmasına sebep olmuştur. Artan sıcaklıkların etkisi ile birlikte patojenlerin etkiledikleri bitki grupları ve bölgeler üzerinde de bir artış yaşanmıştır. Genellikle, bitkilerin bir patojen ya da bir böceğe maruz kalması kuraklık gibi abiyotik stres etmenlerinin etkilerini arttırmakta; uzun süre kuraklığa maruz kalan bitkilerde ise bitki savunması zayıflamakta ve bu durum bitkilerde böcek ve patojen duyarlılığına neden olabilmektedir (Atkinson ve Urwin, 2012).

Genel bir ifade ile bitkilerde hastalığa sebep olan patojenler arasında funguslar, bakteriler ve virüsler yer almaktadır. Bitkilerde, herhangi bir hastalığın ortaya çıkması için; 1) duyarlı bir konukçu bitki, 2) konukçuyu enfekte edebilecek bir hastalık etmeni ve 3) enfeksiyon için uygun çevresel koşulların bir arada yer alması gerekmektedir. Bu faktörler hep birlikte 'hastalık üçgeni' olarak adlandırılmakta olup bu faktörlerin hepsi bir araya gelmediğinde hastalık gelişimi söz konusu olmamaktadır (Velásquez vd., 2018). Bitkilerde hastalığa yol açan patojenler bitkilerin farklı gelişim dönemlerinde farklı zararlara neden olarak ürün miktarını ve kalitesini kayda değer bir biçimde azaltmaktadırlar. Özellikle, domates gibi tarımsal üretimde ekonomik değeri yüksek tarımsal ürünlerin kalitesinde meydana gelen değişiklikler ürünlerin ekonomik değerinde ve pazarlanmasında sıkıntılarının yaşanmasına sebep olmaktadır.

Bitkilerin farklı kısımlarında enfeksiyonlara neden olan bazı funguslar, toksinleri kullanarak konukçu hücrelerini öldürmektedir. Ayrıca, bakterilerle birlikte enfekteli bitkilerin yapraklarında lekelere, vasküler solgunluk ve kansere neden olmaktadır. Nematodlar ise, bitki öz suyu ile beslenmekte ve bitkide solma ve/veya bodurluk gibi besin eksikliğine bağlı olarak gelişen farklı belirtilere neden olmaktadır. Bunun yanı sıra bazı bitki paraziti nematodlar, toprak kaynaklı hastalıklara ve bitkilerin kök sistemleri üzerinde de enfeksiyonlara yol açmaktadır (Gimenez vd., 2018).

Virüsler hücre içi obligat hastalık etmenleri olup, birçok bitkide enfeksiyona yol açmaktadır. Virüsler enfekte ettikleri bitkilerde; mozaik yaprak lekesi, halkalı leke, kloroz, yaprak küçülmesi, kıvrıcılık, şekil bozukluğu gibi belirtilerin olmasına neden olarak bitkilerde büyüme ve gelişmenin azalmasına ve bodurluğa sebep olmaktadır. Fungus ve bakterilerin aksine kimyasal mücadelesi olmayan virüsler, bitkilerde hasara yol açan diğer patojenlere kıyasla en çok ürün kayıplarına ve ciddi düzeylerde ekonomik zararlara neden olarak gıda güvenliğini tehlikeye atan faktörlerin başında gelmektedirler (Ismayil vd., 2019). Ayrıca, yeni ortaya çıkan bir virüs veya yakın zamanda değişiklik göstermiş bir virüs yeni üretim alanlarına yayılarak yeni bir hastalık oluşturabilmektedir. Virüslerin genetik çeşitliği oldukça yüksek olup, viral genomlarda meydana gelen yüksek etkili mutasyonlar, rekombinasyonlar ve yeni genom organizasyonlarıyla hızla yayılan yeni virüs popülasyonlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Hanssen vd., 2010).

#### **2.2.2.1. Domates üretimi ve biyotik stres faktörleri**

Dünyada, domates üretimini olumsuz olarak etkileyen ve yıkıcı etkilere neden olan 200'den fazla hastalık etmeni ve zararlı olduğu bilinmektedir (Bai vd., 2018). Domates üretimini olumsuz olarak etkileyen etmenler arasında beyazsinekler, thripsler, yaprak bitleri, akarlar, yaprak galeri sinekleri, kök-ur nematodları gibi çeşitli zararlılar yer almaktadır. Yine, domates üretiminde hastalığa yol açarak verim ve kalite üzerinde ciddi kayıplara neden olan Domates erken yaprak yanıklığı hastalığı (*Alternaria solani*), Domates mildiyö hastalığı (*Phytophthora infestans*), Domates yaprak küfü hastalığı (*Cladosporium fulvum*, *Fulvia fulva*), Domates külleme hastalığı (*Leveillula taurica*), Domates kök çürüklüğü (Çökerten) hastalığı (*Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Sclerotinia* spp.,

*Phytophthora* spp.) ve Domates kurşuni küf hastalığı (*Botrytis cinerea*) gibi önemli fungal hastalıklar da bulunmaktadır. Domateste görülen bakteriyel hastalıklar arasında ise; Domates bakteriyel solgunluk hastalığı (*Ralstonia solanacearum*), Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı (*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*), Domates bakteriyel leke hastalığı (*Xanthomonas vesicatoria*) ve Domates bakteriyel benek hastalığı (*Pseudomonas syringae pv. tomato*) gibi önemli hastalık etmenleri sayılabilir (Canpolat, 2016).

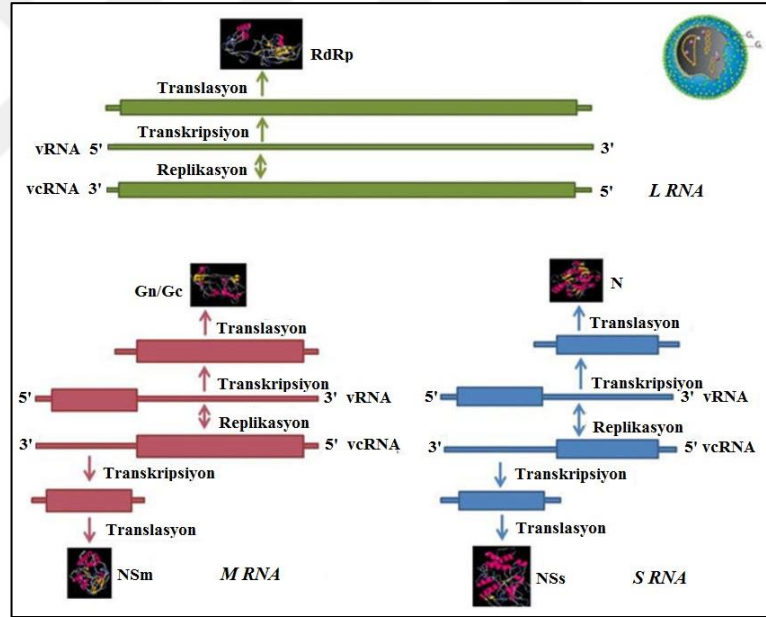
Domateste enfeksiyon yaparak hastalığa neden olan virüslerin sayısı ise 136 olarak bildirilmiş olup, bu sayı her geçen gün artış göstermektedir (Hanssen vd., 2010). Domateste hastalığa neden olan virüsler arasında başta; Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) olmak üzere, Domates sarı yaprak kıvrıcıklık virüsü (*Tomato yellow leaf curl virus*, TYLCV), Domates mozaik virüsü (*Tomato mosaic virus*, ToMV), Tütün mozaik virüsü (*Tobacco mosaic virus*, TMV), Hıyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic virus*, CMV), Patates Y virüsü (*Potato virus Y*, PVY) ve Patates X virüsü (*Potato virus X*, PVX) yer almaktadır. Ayrıca, son yıllarda dünyanın çeşitli bölgelerinde ortaya çıkan Domates kloroz virüsü (*Tomato chlorosis virus*, ToCV), Pepino mozaik virüsü (*Pepino mosaic virus*, PepMV) ve Domates torrado virüsü (*Tomato torrado virus*, ToTV) gibi bazı viral hastalık etmenleri de farklı domates üretim alanlarında ortaya çıkmış ve özellikle örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan bölgelerde hızlı bir şekilde yayılım göstermektedirler (Hanssen vd., 2010).

#### **2.2.2.2. Domates lekeli solgunluk virüsü**

Domates lekeli solgunluk virüsü (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), *Tospoviridae* familyasının *Orthospovirus* cinsine ait bir virüstür (de Ronde vd., 2019). TSWV'nin neden olduğu lekeli solgunluk belirtileri ilk kez 1906 yılında gözlemlenmiş (Sakimura, 1962; Kulshrestha vd., 2013) ve dünyada ilk olarak 1915 yılında Brittlebank tarafından Avusturalya'da hastalık olarak tanımlanmıştır. Samuel vd. (1930) yaptıkları bir çalışmada hastalığa neden olan virüsü '*Tomato spotted wilt virus*' şeklinde isimlendirmişlerdir (Kulshrestha vd., 2013). Günümüzde, Asya, Afrika, Avrupa, Avustralya, Kuzey ve Güney Amerika kıtaları dahil olmak üzere dünyanın çeşitli bölgelerinde birçok bitki türünde TSWV tespit edilmiştir (Şevik,

2011). TSWV, ülkemizde Tekinel vd. (1969) tarafından Mersin çevresinde marulda yapılan bir çalışma ile tespit edilmiştir. Virüs daha sonra ülkemizin çeşitli bölgelerinde başta domates olmak üzere birçok bitkide tespit edilmiştir. TSWV, halen ülkemizde en yaygın bulunan ve ekonomik açıdan en önemli virüs olarak görülmektedir (Şevik, 2011).

TSWV'yi oluşturan partiküller yaklaşık 80-110 nm çapında, küresel ve yer yer çukurlu bir yapıya sahiptir (Best ve Palk, 1964). Virüsün partikülünde %5 nükleik asit (RNA), %70 protein, %20 lipit ve %5 karbonhidrat bulunmaktadır (Adkins, 2000). Virüsün nükleik asit içeriği %35 Adenin, %9 Sitozin, %38 Guanin ve %18 Urasil şeklinde belirlenmiştir (Kulshrestha vd., 2013). TSWV, genomunda küçük (S; 2961 nt), orta (M; 4821 nt) ve büyük (L; 8897 nt) olmak üzere üç farklı düz tek iplikçikli RNA bulunmaktadır (Gielen vd., 1991) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Domates lekeli solgunluk virüsünün genom yapısı ve L, M ve S RNA segmentlerinde gen ekspresyonu (Mitter vd., 2013)

Viral genomu oluşturan tek iplikçikli RNA'lar (vRNA)'dan L RNA, negatif duyarlı olarak RNA-bağımlı bir RNA polimeraz (RdRp)'ı kodlamaktadır. Ancak, S ve M RNA'lar hem negatif hem de pozitif duyarlılıkta gen kodlamakta olup ambisense RNA'ları oluşturmaktadır (Komoda vd., 2014). S RNA, negatif duyarlılıktaki zincirden virüsün kılıf proteini olarak görev yapan nükleoprotein (N) ve pozitif duyarlılıktaki zincirden de gen susturma/baskılayıcı protein (NSs) olmak üzere iki

gen kodlamaktadır. M RNA ise, pozitif duyarlı zincirden glikoprotein G<sub>N</sub> ve G<sub>C</sub>'nin kodlarken, negatif duyarlılıktaki zincirden ise viral hareket proteini (NSm)'ni kodlamaktadır (Mitter vd., 2016).

Geniş bir konukçu aralığına sahip olan TSWV, 1300'den fazla bitki türünde enfeksiyona neden olmaktadır (Parrella vd., 2003). Konukçuları arasında tropik ve subtropik bölgelerde yetişen çeşitli meyve, sebze, süs bitkileri ve yabancı otlar yer almaktadır. Başta domates olmak üzere en önemli konukçuları arasında; biber (*Capsicum annuum*), patates (*Solanum tuberosum*), tütün (*Nicotiana tabacum*), yerfıstığı (*Arachis hypogaea*), marul (*Lactuca sativa*) ve fasulye (*Phaseolus vulgaris*) bulunmaktadır (Mitter vd., 2013). TSWV konukçularına, thrips vektörleri aracılığıyla ve mekanik olarak taşınmaktadır. Virüsün yayılmasında etkili olan tripsler arasında *Frankliniella occidentalis*, *Frankliniella fusca*, *Frankliniella schultzei*, *Frankliniella intonosa*, *Frankliniella bispinosa*, *Frankliniella cephalica*, *Frankliniella gemina*, *Thrips setosus* ve *Thrips tabaci* yer almaktadır (Rotenberg vd., 2015). Çeşitli çalışmalarda, ülkemizde TSWV'nin taşınmasında etkili thripsler arasında *Frankliniella occidentalis* ve *Thrips tabaci* olduğu ve özellikle Ege ve Akdeniz Bölgelerinde tarla ve/veya sera ürünlerinde hastalığın yayılmasına neden oldukları belirlenmiştir (Turhan ve Korkmaz, 2006).

TSWV'nin yaygın olarak bulunduğu alanlarda %50-90 arasında değişiklik gösteren bir enfeksiyon oranı ile büyük ürün kayıpları yaşanmaktadır (Adkins, 2000). Bu durumun bir sonucu olarak da, TSWV'nin her yıl milyarlarca dolar değerinde ticari bir zarara neden olduğu tahmin edilmektedir. Dünya genelinde ekonomik ve bilimsel açıdan en önemli 10 virüsün yer aldığı listede TSWV, yıkıcı etkilerinden dolayı 2. sırada gösterilmektedir (Scholthof vd., 2011). Hastalık sonrası yapraklar, gövde ve meyveler üzerinde nekrotik/klorotik halkalar ve lekeler gibi değişken belirtiler ortaya çıkmaktadır. Bu belirtiler bitkilerde erken dönemli enfeksiyonlarda tek taraflı büyümeye yol açmakla birlikte aynı zamanda, yaprak damarlarında açılmaya, bodurlaşmaya, yapraklarda solgunluğa, dökülmeye ve/veya ölüme neden olmaktadır (Scholthof vd., 2011). TSWV ile mücadele ve hastalığın kontrol altına alınması için geleneksel yöntemlerle başarıya ulaşılamamaktadır. Bu durumun başlıca nedenleri arasında; doğada çok miktarda inokulum kaynağının bulunuyor olması, izolatların çeşitlilik ve değişkenlik göstermesi, virüsün hızlı bulaşabilmesi ve vektör içerisinde



çoğalabilmesi, yüksek taşınma etkinliği, thripslerin geniş alanlara dağılması ve insektisitlere karşı direnç kazanılıyor olması sayılabilir (Roselló vd., 1998). Diğer virüslerde olduğu gibi TSWV ile mücadelede en etkin yöntem genetik dayanıklılıktır. Bu nedenle TSWV'ye karşı doğal dayanıklılığın belirlenmesi amacıyla yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda yabancı bir domates türü olan *Solanum peruvianum*'da dayanıklılık belirlenmiştir. Yapılan melezleme çalışmaları sonucunda dayanıklılığın *Sw-5* adı verilen dominant bir gen ile kontrol edildiği belirlenmiştir (Stevens vd.,1992). *Sw-5* dayanıklılık geni, melezleme yoluyla çok sayıda ticari çeşide aktarılacak şekilde dünyada ve ülkemizde TSWV'ye dayanıklı domates çeşitleri geliştirilmiş ve geliştirilen bu çeşitler yaygın olarak kullanılmaktadır (Stevens vd., 1992).

### 2.3. Bitkisel Üretimde Abiyotik ve Biyotik Streslerin Birlikte Etkileri

Bilim insanları, 2050 yılında dünya nüfusunun 9.6 milyara ulaşacağını öngörmektedirler. Bu nedenle de ihtiyaç duyulacak olan besin ihtiyacının karşılanabilmesi için mevcut tarımsal üretim miktarında %70 oranında bir artış olması gerektiğini belirtmişlerdir (Khan vd., 2018). Ancak, son yıllarda küresel iklim değişikliği nedeniyle gittikçe artan kuraklık, yanlış sulama ve aşırı gübrelemeden kaynaklanan yüksek tuzluluk, tarımsal ürünlerin yetiştiriciliği sırasında karşılaşılan hastalık ve zararlıların sayılarında meydana gelen artışlardan dolayı bu hedeflere ulaşılması mümkün görünmemektedir. (Piasecka vd., 2019).

Abiyotik ve biyotik streslere eş zamanlı olarak maruz bırakılan bitkilerde yapılan çeşitli çalışmalar farklı bitkilerde bu streslere karşı oluşan tepkilerin ve bu tepkilere bağlı olarak gelişen sonuçların farklı olduğunu göstermiştir (Tippmann vd., 2006). Arpa (*Hordeum vulgare*)'da yüksek tuz uygulamasının *Blumeria graminis* (külleme)'e karşı direnci arttırdığı (Wiese vd, 2004), buğday (*Triticum aestivum*) bitkilerinde ise *Puccinia striiformis* (sarı pas) enfeksiyonu sırasında uygulanan yüksek sıcaklıkların hastalık direncini arttırdığı belirlenmiştir (Carter vd., 2009). Domates, yonca (*Medicago sativa*) ve *Arabidopsis*'te kuraklık stresinin, fungal hastalık etmenlerinden *Botrytis cinerea*, *Oidium neolycopersici*, *Verticillium albo-atrum* ve bakteriyel hastalık etmenlerinden *Pseudomonas syringae*'ye karşı dayanıklılık sağladığı bildirilmiştir (Pandey vd., 2017).

Moury vd. (1998), yüksek sıcaklık uygulanan TSWV enfekteli biber (*Capsicum annuum*) bitkilerinde şiddetli belirtiler gözlemlenmiştir ve hastalık direncinin sıcaklık etkisiyle baskılandığını belirtmişlerdir. Audebert vd. (2000), çeltik (*Oryza sativa*) bitkileri ile yaptıkları bir çalışmada kuraklık stresi ve kist nematodu (*Heterodera sacchari*)'nin etkileşimini inceledikleri bir çalışmada kist nematodu enfeksiyonunun bitkilerde yaprak su potansiyeli, stoma iletkenliği ve yaprak kuru ağırlığının azalmasına neden olarak kuraklık ve kuraklığa bağlı kayıpların etkilerini arttırdığını belirlemişlerdir. Audenaert vd. (2002), kurşuni küfe (*Botrytis cinerea*)'ye maruz kalan mutant ve yabancı tipteki domateslere absisik asit (ABA) uygulandığında özellikle yabancı tipteki domates bitkilerinde ABA'nın salisilik asit (SA)'e bağımlı sinyal iletim yolunu negatif olarak etkilediğini ve *Botrytis cinerea*'ye karşı olan duyarlılığını arttırdığını bildirmişlerdir. Domateste yapılan bir diğer çalışmada ise, yüksek tuz stresinin ortamda bulunan *Fusarium*'un daha fazla çoğalmasına sebep olduğunu ve aynı zamanda bitkilerde meydana gelen enfeksiyonun da şiddetini arttırdığını tespit etmişlerdir (Daami-Remadi vd., 2009).

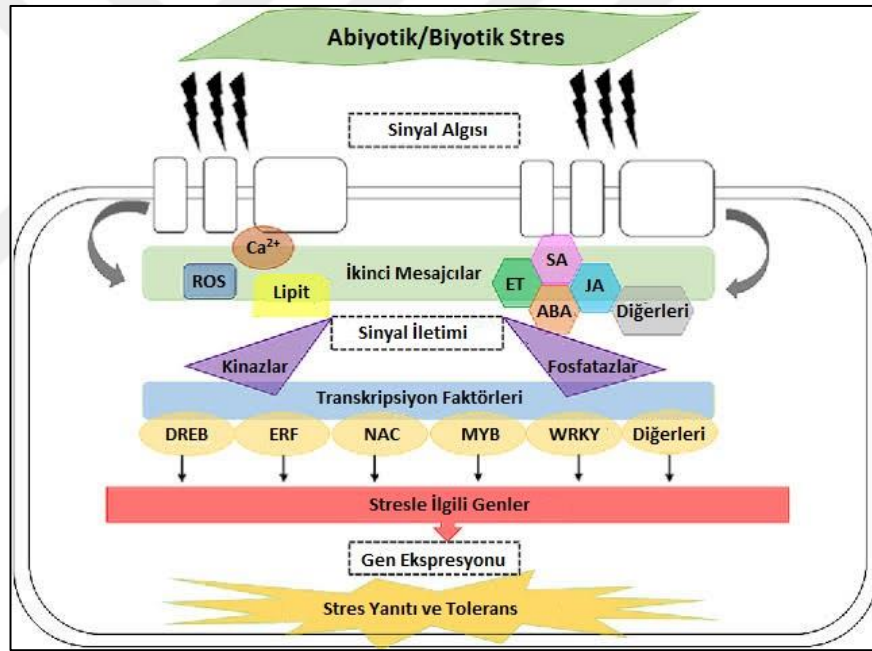
Doğa koşullarının karmaşıklığı ve değişkenliğinin yanı sıra farklı abiyotik ve biyotik stres faktörlerinin bitkisel üretimde çoğunlukla kombineli bir şekilde meydana geldiği dikkate alındığında bitki büyümesi ve gelişmesi ciddi bir şekilde tehlikeyle karşı karşıya kalmaktadır. Bu durum; bitki bünyesinde morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal düzeyde değişikliklerin olmasına neden olmaktadır. Birçok durumda bu gibi değişiklikler bitkilerin verimliliğini olumsuz yönde etkilemekte ve bitkilerin gerçek genetik potansiyellerine ulaşmalarını engellemektedir (Erpen vd., 2017). Bu nedenle, bitkilerin aynı anda farklı çevresel streslere maruz kaldıklarında oluşturdukları adaptasyon ve tolerans mekanizmalarının anlaşılması tarımsal üretim açısından büyük önem taşımaktadır (Taiz ve Zeiger, 2008).

#### **2.4. Çevresel Streslerin Hücrede Algılanması ve İletimi**

Bitkiler doğada yaşamları boyunca farklı abiyotik ve biyotik stres faktörlerinin farklı kombinasyonlarına birlikte maruz kalmaktadırlar (Ku vd., 2018). Bu nedenle de, bitkilerin abiyotik ve biyotik streslere verdikleri tepkilerin hem ayrı ayrı olarak araştırılması hem de bu streslerin birlikte etki etmesi ile bitkilerde ne gibi tepki

ve/veya tepkilerinin olacağı belirlenmesi tarımsal üretimde verim ve kalitenin artırılması açısından önemlidir.

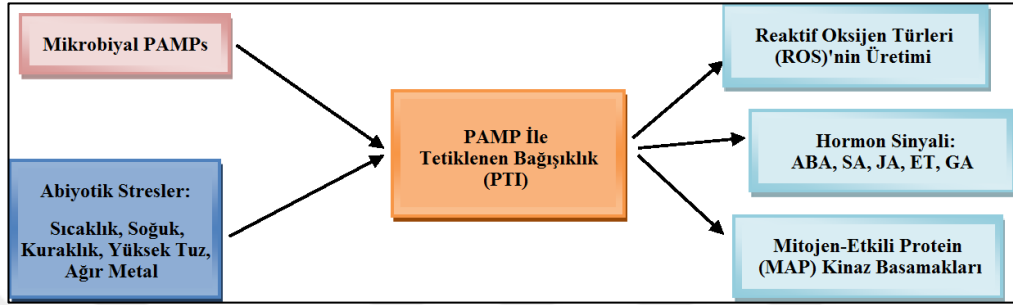
Bir bitki stres koşulları karşısında hayatta kalmak için çevresinden gelen dış sinyalleri algılayarak bu faktörlere karşı en iyi şekilde tepki verebilmek için bünyesinde karmaşık bir dizi farklı mekanizmayı aktif hale getirmektedir (Fujita vd., 2006). Bu farklı mekanizmalar, stresin hücre tarafından algılanmasından, strese dayanıklılıkta ve/veya toleransta yer alan genlerin ifadesine kadar geçen süre içerisinde birtakım farklı hücresel sinyal yolları tarafından koordine edilmektedir. Hücresel tepkiler ilk olarak hücre dışı moleküller olan ligand ve/veya elisitör ile plazma membran proteinleri (reseptör)'nin etkileşimi ile başlamaktadır (Mahaja ve Tuteja, 2005) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Bitkilerde abiyotik ve biyotik stresler sırasında sinyal iletim yolu (Erpen vd., 2017)

Bitkilerin yetiştiği ortamda yer alan ve stres faktörü olan bir patojeni tanıma ve bağışıklık oluşturması iki şekilde gerçekleşmektedir. Bunlardan ilki, bitki hücrelerinde bulunan tanıyıcı reseptör yapıları (pattern recognition receptors, PRR) ile patojenle ilgili moleküler yapıların (pathogen-associated molecular patterns, PAMP) tanınmasıdır. Bu bağışıklık türü, genel olarak PAMP ile tetiklenen bağışıklık (PAMP-triggered immunity, PTI) adı verilen bir bazal savunma tepkisini oluşturmaktadır (Şekil 2.5). İkincisi ise, bitki direnç (resistance, R) proteinleri

tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu proteinler, patojenden gelen spesifik uyarıları (Avr proteinleri) tanıyarak bitki savunma mekanizmalarının çok daha etkili ve spesifik bir şekilde aktive etmektedirler (Gimenez vd., 2018). Bu şekilde gerçekleşen tepki türü ise, efektör tarafından tetiklenen bağışıklık (effector-triggered immunity, ETI) olarak adlandırılmaktadır.

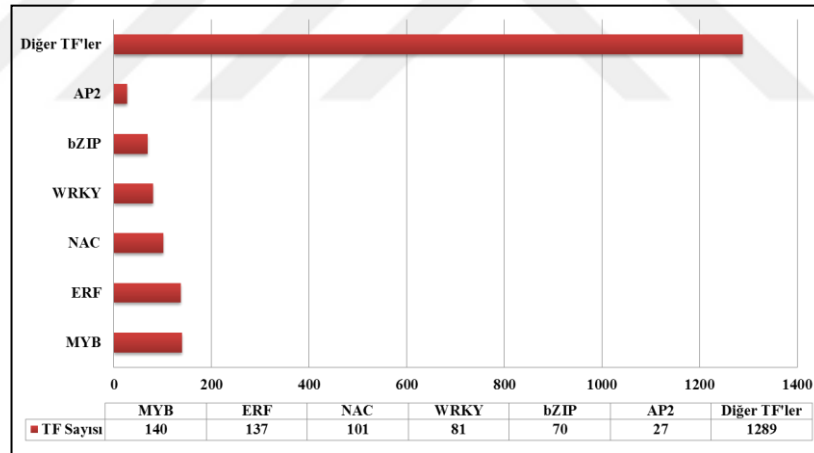


Şekil 2.5. Bitkilerde biyotik ve abiyotik stres tepkisinin düzenlenmesi (Nejat ve Mantri, 2017)

Bitkiler stres etmenlerinin algılanmasıyla oluşan dış sinyalleri, ikincil habercileri üreterek hücre içi sinyallere dönüştürmektedirler. İkincil haberciler arasında ise;  $Ca^{2+}$ , ROS, fosfatidilinositol lipidler ve inositol fosfat gibi normal bir hücrenin sitoplazmasında bulunan küçük hücre içi sinyal molekülleri ve/veya iyon grupları yer almaktadır (Erpen vd., 2017). Hücre içi  $Ca^{2+}$  seviyesindeki artışla birlikte abiyotik ve biyotik stres tepkilerinde çoklu rollere sahip absisik asid (ABA) (Edel vd., 2016; Ku vd., 2018) başta olmak üzere, etilen (ET), jasmonik asid (JA) ve salisilik asid (SA) sinyal iletim yollarına dahil olmaktadır. Daha sonra, bitkilerde mitojen-etkili protein kinazlar (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) ve kalsiyuma-bağlı protein kinazlar (calcium-dependent protein kinases, CDPKs) aktive edilmektedir (Baillo vd., 2019). Tüm bu değişikliklerin ardından transkripsiyon faktörleri (TF), patojenle ilgili genler (PR) ve/veya bitki savunma genleri, ısı şok proteinleri (HSP) ve çevresel streslere karşı yanıtta rol oynayan diğer genlerin ekspresyonları düzenlenmektedir (Rejeb vd., 2014).

## 2.5. Bitkilerde Transkripsiyon Faktörleri ve Çevresel Stresler Sırasında Önemleri

Bitkilerde, abiyotik ve biyotik streslere tepki sürecinde gen ifadesinde meydana gelen değişimler transkripsiyonel düzenlemenin sonucunda meydana gelmektedir. Bu düzenleme, dizi-spesifik DNA bağlanma özelliğine sahip transkripsiyon faktörleri (TF) tarafından DNA metilasyonu, kromatin organizasyonu ve dimerizasyon şeklinde meydana gelen bir dizi değişimle koordine edilmektedir (Feller vd., 2011). TF'leri, içerdikleri DNA bağlanma bölgeleri ve genel protein yapılarındaki değişikliklere bağlı olarak farklı ailelere ayrılmaktadırlar (Shen vd., 2017). Günümüzde, 165 bitki türünde 58 farklı TF ailesi belirlenmiştir (Jin vd., 2017). Bunlar arasında AP2/ERF, bHLH, bZIP, MYB, NAC ve WRKY bitkilerde sıklıkla karşılaşılan TF aileleridir (Nejat ve Mantri, 2017). Domateste, TF özelliği gösteren toplam 1845 protein tanımlanmıştır. Bunlar arasında; 140 MYB, 137 ERF, 101 NAC, 81 WRKY, 70 bZIP ve 27 AP2 TF yer almaktadır (Anonim, 2019c) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Domates genomunda kodlanan bazı transkripsiyon faktörü ailelerinin dağılımı (Anonim, 2019c)

Transkripsiyon faktörleri, genel olarak hedef genlerin promotör bölgelerindeki DNA dizilerini tanıyarak transkripsiyonun düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar (Ito, 2005). Bu nedenle, doğada hücresel süreçlerin esas düzenleyicileri olarak hareket etmektedirler (Ambawat vd., 2013). Gen regülasyonundaki seçicilikten büyük ölçüde sorumlu olan TF'leri, genellikle dokuya spesifik, gelişimsel aşamaya özgü veya uyarıya bağlı bir şekilde ifade edilmektedirler (Zhang, 2003). Vasküler bitki

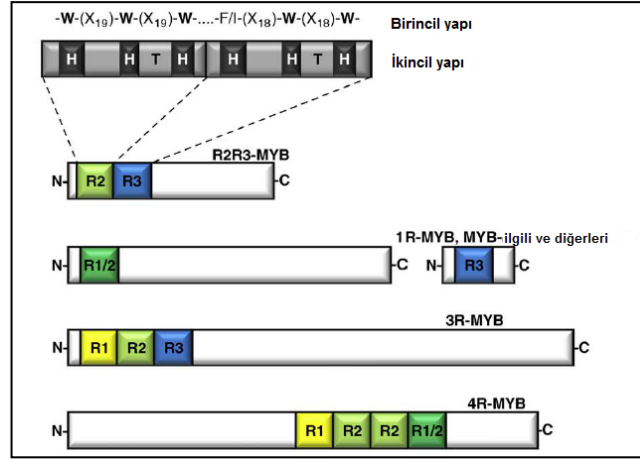
genomlarının kodlama kapasitelerinin yaklaşık %7'si TF'leri tarafından kodlanmaktadır (Rushton vd., 2008).

## 2.6. MYB Transkripsiyon Faktörleri

MYB domaini içeren bir proteinin kodlanması ve bu domainin isimlendirilmesinden sorumlu olarak tanımlanan ilk gen Avian Myeloblastosis Virüsü'nün (AMV) genomunda yer alan *v-myb*'dir (Klempnauer vd., 1982). Dizi karşılaştırmalarından elde edilen bilgiler *v-myb*'nin bir omurgalı geninde meydana gelen mutasyon sonrası virüsün bir parçası haline geldiğini göstermektedir (Stracke vd., 2001). Birçok omurgalıda *v-myb* ile ilişkili üç gen (c-MYB, A-MYB ve B-MYB) bulunmuştur ve bu genlerin hücre çoğalması, hücre farklılaşması ve apoptozun düzenlenmesinde rol aldığı düşünülmüştür (Weston, 1998). Yapılan diğer çalışmalarla birçok MYB genin hayvanlar, bitkiler, funguslar ve mayalarda bulunduğu belirlenmiştir (Li vd., 2015).

Mısır (*Zea mays*)'dan izole edilen ve antosiyanin pigmentasyonunun düzenlenmesinden sorumlu *c-MYB* benzeri *C1 (COLORED1)* geni ilk belirlenen bitki transkripsiyon faktörünü kodlamasının yanı sıra klonlanmış ilk bitki MYB genini de oluşturmaktadır (Paz-Ares vd., 1987). Bitkilerde, toplam TF'lerinin yaklaşık olarak %9'unu MYB TF'leri oluşturmaktadır (Xing vd., 2018). Bu nedenle, MYB bitkilerde karakterize edilen en büyük TF ailelerinden birisidir.

MYB proteinleri tüm ökaryotlarda oldukça korunmuş olarak bulunan ve N-terminalinde, yüksek oranda korunmuş aminoasit dizisi içeren bir MYB ya da DNA-bağlanma domainine (DBD) sahiptir. Ancak, çeşitli MYB proteinlerinde C-terminal bölgesinde birçok fonksiyonu düzenleyen *trans*-etkili domain (TAD) bulunmaktadır (Williams vd., 1997). MYB süper-ailesi içerdikleri MYB domaininin tekrar sayısına bağlı olarak; 1R-MYB ya da MYB ile ilgili proteinler (genellikle tek tekrar), R2R3-MYB (iki tekrar), 3R-MYB (üç tekrar) ve 4R-MYB (dört tekrar) olmak üzere dört farklı gruba ayrılmaktadırlar (Zhao vd., 2017) (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. MYB transkripsiyon faktörlerinin domain bölgelerine göre gruplandırılması (Dubos vd., 2010)

Yüksek oranda korunan DNA bağlanma domainleri *Arabidopsis thaliana* (126 üye R2R3-MYB, 5 üye 3R-MYB ve 1 üye 4R-MYB benzeri), kavak (*Populus trichocarpa*) (192 üye R2R3-MYB ve 5 üye 3R-MYB), hıyar (*Cucumis sativus*) (55 üye R2R3-MYB) ve soya (*Glycine max*) (244 üye R2R3-MYB, 6 üye 3R-MYB ve 2 üye 4R-MYB benzeri) gibi çeşitli bitki türlerinde tanımlanmıştır (Du vd., 2012; Yanhuni vd., 2006; Li vd., 2012; Wilkins vd., 2009). Tekrarlar 50-53 amino asit uzunluğundadır ve düzenli olarak dağılan üç triptofan (Y) veya fenilalanin (F) aminoasitlerini içermektedirler. Her bir MYB domain tekrarı üç  $\alpha$ -sarmalı kodlamaktadır; ikinci ve üçüncü sarmal, spesifik tanıma alanı olan C/TAACG/TG dizisindeki büyük DNA oluşunu tanıyan ve bağlanan sarmal-dönüş-sarmal (HTH) yapısı oluşturmaktadır (Chen vd., 2014).

MYB proteinlerinin fonksiyonları; *Arabidopsis thaliana*, mısır (*Zea mays*), çeltik (*Oryza sativa*), petunya (*Petunia hybrida*), aslanağzı (*Antirrhinum majus*), asma (*Vitis vinifera* L.), kavak (*Populus tremuloides*) ve elma (*Malus domestica*) gibi birçok bitki türünde genetik ve moleküler analizler kullanılarak araştırılmış ve tanımlanmıştır (Dubos vd., 2010).

1R-MYB'leri bitkilerde sirkadiyen saatin düzenlenmesinde ve telomerik DNA-bağlayıcı proteinlerinin ekspresyonunda rol aldığı belirlenmiştir (Ambawat vd., 2013). *Arabidopsis*'te yapılan genetik çalışmalarla R2R3-MYB genlerinin ikincil metabolizmanın (flavonoid, antosiyanin ve lignin gibi) düzenlenmesi, hücrel morfogenez, organ gelişimi ve hormon sinyal iletim yollarını (indol asetik asit,

absisik asit, gibberellik asit, etilen, salisilik asit ve jasmonik asit) içeren önemli fonksiyonları ortaya çıkarılmıştır (Xie vd., 2014). R2R3-MYB'lerin diğer fonksiyonları arasında; hücre şeklinin kontrolü, ikincil duvar oluşumu, aksiller meristem oluşumu, kök tüylerinin ve trikhomların oluşumu bulunmaktadır (Chai vd., 2014). Ayrıca, yapılan araştırmalar sonucunda, R2R3-MYB'lerin yüksek bitkilerde yaygın olarak bulunduğu ve bitkilerin çevresel streslere tepkileri sırasında görev aldıklarını ortaya çıkarılmıştır (Jiang vd., 2018).

## 2.7. Çevresel Stresler Sırasında Bazı Önemli MYB TF'ler ve Etkileri

20 yılı aşkın bir süre önce *Arabidopsis*'te *AtMYB2* geninin, kuraklık, yüksek tuzluluk ve ABA uygulamalarına tepki olarak uyarıldığı belirlenerek abiyotik stresler sırasında uyarıldığı belirlenen ilk MYB TF olarak tarihe geçmiştir (Baldoni vd., 2015). Daha sonra Denekamp ve Smeekens (2003), *Arabidopsis*'te yaptıkları bir çalışmada, *AtMYB102* geninin osmotik stres ve yaralama sırasında, Agarwal vd. (2006) ise, *AtMYB15* geninin soğuk ve donma stresi sırasında etkili genlerin ekspresyonlarını düzenlediğini belirlemişlerdir. Xie vd. (2010), *AtMYB88* ve *AtMYB124* (*MYB FLP*) genlerinin abiyotik streslere tolerans sırasında rol oynadıklarını bildirmişlerdir. Transgenik *Arabidopsis* bitkileri ile yapılan çalışmalarda, *TaMYB33* geninin kısmen osmotik dengeyi yeniden yapılandığı ve ROS detoksifikasyonu ile yüksek tuz ve kuraklık streslerine karşı direnç geliştirdiğini (Qin vd., 2012), *TaMYB73* geninin ise, yüksek tuz stresine karşı toleransta etkili genlerin ekspresyonlarının düzenlenmesinde görev aldığını belirlemişlerdir (He vd., 2012). Shan vd. (2012), kasımpatı (*Chrysanthemum*) bitkisinde *CmMYB* geninin aşırı ifade edilmesi ile elde edilen transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde stres yanıtıyla ilişkili olan *RD22*, *RD29A*, *RAB18*, *COR47*, *ABA1* ve *ABA2* genlerinin ekspresyon seviyelerinin kuraklık, yüksek tuz ve soğuk stresleri sırasında arttığı ve transgenik *Arabidopsis* bitkilerinin bu streslere karşı yüksek tolerans gösterdiğini bildirmişlerdir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda, *TaMYB56-B* geninin buğdayda (Zhang vd., 2012) ve *MdSIMYB1* geninin elma (*Malus domestica*)'da yüksek tuz stresine (Wang vd., 2014), *AtMYB75* geninin ise *Arabidopsis*'te lahana kelebeği (*Pieris brassicae*)'ne karşı dayanıklılıkta etkili olduğu bildirilmiştir (Onkokesung vd., 2014).



*Arabidopsis*'te AtMYB60, AtMYB44 ve AtMYB15 TF'lerin ABA aracılığıyla stomaların kapanmasını etkilediği ve bu sayede kuraklık ve tuzluluk streslerine karşı bitkide oluşan tepkilerin düzenlenmesinde görev aldıkları bildirilmiştir (Jaradat vd., 2013; Sah vd., 2016). Chen vd. (2014), yer fıstığında yaptıkları bir çalışmada *AhMYB1*, *AhMYB2*, *AhMYB6*, *AhMYB7*, *AhMYB12*, *AhMYB18*, *AhMYB28* ve *AhMYB30* genlerinin başta tuz stresi olmak üzere kuraklık, soğuk ve ABA uygulamalarına tepki olarak uyarıldıklarını belirlemişlerdir. Li vd. (2014), domates (*Solanum pimpinellifolium* L.)'te abiyotik ve biyotik streslere tolerans sırasında yer alan *SpMYB* genini tütün (*Nicotiana tabacum*) bitkisine aktarmışlar ve elde ettikleri transgenik tütün bitkilerinin abiyotik stres etmenlerinden kuraklık ve yüksek tuz stresine, biyotik stres etmenlerinden *Alternaria alternate* f.sp.'ye karşı tepkide etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Xiong vd. (2014), *in vivo* ortamda çimlendirilen üç haftalık Nipponbare (*O. sativa* L. ssp. japonica) çeşidine ait çeltik fidelerinde dehidrasyon, tuz, soğuk ve oksidatif stresler sırasında ve ABA uygulamasına tepki olarak *OsMYB48-1* geninin ifadesinin arttığı belirlenmiştir. Yabani tip ve *OsMYB48-1* geninin aşırı ifade edildiği transgenik çeltik bitkilerine uygulanan stres uygulamalarının ardından yapılan analizler sonucunda, *OsMYB48-1* geninin ekspresyonunun yüksek tuz ve soğuk tarafından hafif bir şekilde uyarıldığı belirlenirken, polyetilen glikol (PEG), ABA ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) uygulamaları sırasında ise kuvvetli bir şekilde uyarıldığı belirlenmiştir.

Huang vd. (2015), çeltikte tanımlanan *OsMYB511* geninin soğuk, osmotik stres, yüksek sıcaklık streslerine ve ABA uygulamalarına tepki olarak uyarıldığını belirlemişlerdir. Zhao vd. (2017), buğdayda sıcaklık stresi uygulaması sırasında uyarılan *TaMYB79*, *TaMYB80*, *TaMYB81*, *TaMYB82*, *TaMYB83* ve *TaMYB74* genlerini tanımlamışlardır. Bu sonuçlara ek olarak, *TaMYB80* geninin aşırı ifade edilmesi ile elde edilen transgenik *Arabidopsis* bitkilerinin sıcaklık stresinin yanı sıra kuraklık stresi sırasında da uyarıldığı belirlenmiştir. Shen vd. (2017), yaptıkları bir çalışmada kirazdan izole edilen *PacMYBA* geninin yüksek tuz stresi sırasında ve SA ve JA uygulamalarına tepki olarak uyarıldığını belirlemişlerdir. Ayrıca, *PacMYBA* geninin aşırı ekspresyonu ile elde edilen transgenik *Arabidopsis* bitkilerinin yüksek

tuz stresine ve *Pseudomonas syringe* pv. tomato (Pst) DC3000 enfeksiyonuna karşı tolerans sağlanmasında etkili olduğunu da bildirmişlerdir.

Wei vd. (2017), buğday tohumlarını 14 gün boyunca çimlendirdikten sonra fidelere %20 PEG6000, 200 mM NaCl stresi ve 100 µM ABA ve 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamışlardır. Bitkilerde yapılan analizler sonucunda, bir R2R3-MYB üyesi olan *TaODOTANT1* geninin streslere karşı etkili olduğunu belirlemişler ve bu geni buğdaydan izole ederek tütün bitkisine aktarmışlardır. Transgenik tütün bitkilerine 27 gün boyunca kuraklık ve 19 gün boyunca 500 mM NaCl ile yüksek tuz stresi uygulamışlardır. Elde edilen tüm sonuçlar *TaODOTANT1* geninin hem sinyal iletimi sırasında ROS aktivitesi üzerinde hem de kuraklık ve yüksek tuz streslerine toleransta rol alan genlerin uyarılmasında görev aldığını bildirmişlerdir.

Cui vd. (2018), *SlMYB49* geninin transgenik domates bitkilerinde aşırı ekspresyonu ile elde edilen transgenik bitkilerin *Phytophthora infestans* (mildiyö)'a karşı dayanıklılıklarının önemli ölçüde arttığını, aynı zamanda bu bitkilerin kuraklık ve yüksek tuz streslerine karşı da tolerans düzeylerinin arttığını belirlemişlerdir.

Çevresel stresler sırasında etkili MYB genlerinin belirlenmesi için yapılan diğer çalışmalarda, *AtMYB15*, *AtMYB34*, *AtMYB51* ve *AtMYB75* genlerinin yaralamaya tepki ve/veya böceklerle karşı direnç sırasında etkili oldukları (Cheong vd., 2002; Johnson ve Dowd, 2004), *AtMYB102* geninin *Pieris rapae* (küçük beyaz melek)'ye karşı bazal dirence katkıda bulunduğu (De Vos vd., 2006), *AtMYB44* geninin yaprak bitlerine karşı savunma yanıtında rol oynadığı (Liu vd., 2010) belirlenmiştir.

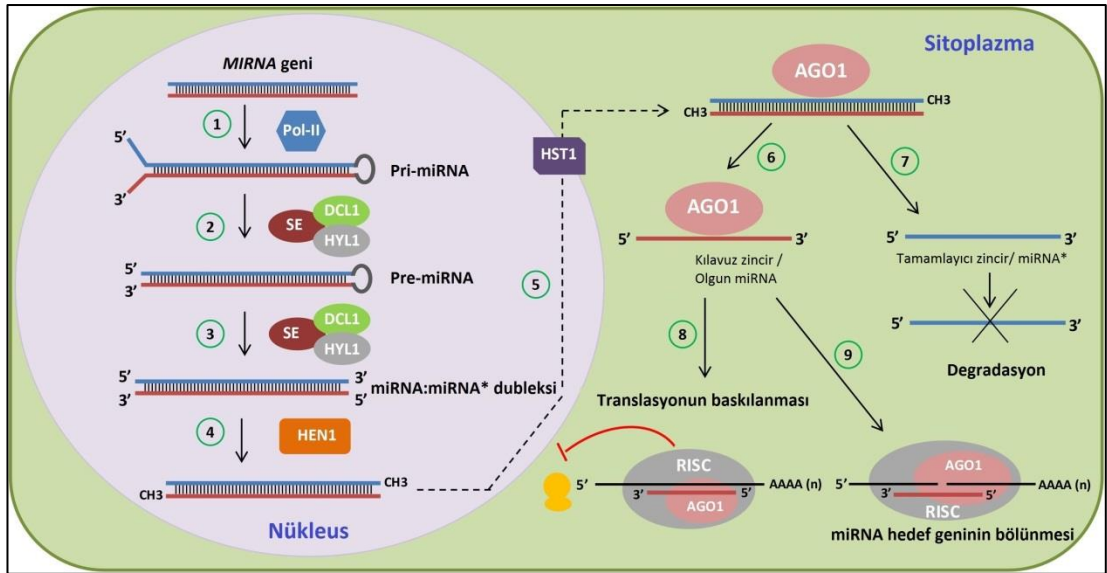
*Scutellaria baicalensis* (Çin takkesi)'den izole edilen *SbMYB2*, *SbMYB7* ve *SbMYB8* genlerinin aşırı ifade edildiği transgenik tütün (*Nicotiana tabacum*) bitkilerinin oksidatif strese (Qi vd., 2015; Yuan vd., 2015), *GbMYB5* geninin aşırı ifade edildiği pamuk (*Gossypium* spp.) ve transgenik tütün bitkilerinin kuraklık stresine (Chen vd., 2015) ve *OsMYB91* geninin aşırı ifade edildiği transgenik çeltik bitkilerinin yüksek tuz stresine karşı tolerans sağlandığı bildirilmiştir (Zhu vd., 2015; Li vd., 2016).

## 2.8. MikroRNA'lar ve Transkripsiyon Sonrasında Önemleri

MikroRNA (miRNA)'lar, transkripsiyon sonrası gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol alan kodlayıcı olmayan RNA'lardır (Zhao vd., 2018). 1993 yılında, iki ayrı araştırma grubu *lin-4* olarak isimlendirilen genden elde edilen 22 nükleotid (nt)'lik küçük RNA'ların *Caenorhabditis elegans* (nematod)'ın larva gelişimini kontrol eden *lin-14* ekspresyonunu baskıladığını keşfetmişlerdir (Lee vd., 1993; Wightman vd., 1993; Zhang vd., 2006). 2002 yılında ise, birkaç araştırma grubu *Arabidopsis*'te küçük RNA'ları klonlayarak bitki miRNA'larını bulmuşlardır (Reinhart vd., 2002; Park vd., 2002; Llave vd., 2002). Bitkilerde, miRNA genlerinin birçoğu farklı promotör ve terminatör bölgelerini içeren bağımsız transkripsiyon ünitelerine sahip intergenik bölgelerde bulunmaktadır (Tang, 2010).

## 2.9. Bitkilerde MikroRNA'ların Biyosentezi

Bitki miRNA'ları, endojen miRNA (*MIR*) genleri tarafından kodlanan küçük (~20-22 nt.) düzenleyici RNA'lardır (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Bitkilerde mikroRNA'ların biyosentez yolu (Sánchez-Retuerta vd., 2018)

miRNA genleri RNA polimeraz II (RNA Pol. II) enzimi ile etkileşime girerek kısmen çift sarmallı stem-loop yapıya sahip primer miRNA (pri-miRNA)'ları oluşturmaktadır (Jones-Rhoades vd., 2006). Bu yapılar, 5' ucuna 7-metil guanozin ( $m^7G$ ; 5'-cap) ve 3' ucuna poli-adenin (polA) kuyruğu eklenerek stabilize

edilmektedir (Gentile vd., 2015). Ardından pri-miRNA'lar, çekirdekte DICER-LIKE 1 (DCL1) enzimi, çift zincirli RNA (dsRNA) bağlayıcı protein (DRB1), SERRATE (SE) (Jones-Rhoades vd., 2006) ve HYPONASTIC LEAVES1 (HYL1) ile bölünmektedir. Böylece, daha küçük öncül-miRNA (pre-miRNA)'ların üretimi gerçekleşmektedir (Liu vd., 2017). pre-miRNA'lar ise, DCL1 tarafından çekirdekte işlenmekte ve miRNA/miRNA\* RNA dubleksleri oluşmaktadır (Ferdous vd., 2015). Daha sonra, miRNA/miRNA\* dubleksinin 3' ucundaki 2'-OH'ına HUA ENHANCER 1 (HEN1) ile metil grubu eklenmektedir. Bu ekleme ile miRNA/miRNA\* dubleksinin 3'-ekzonükleaz bozunması ve 3'-üridilasyondan korunmaktadır (Guleria vd., 2011). RNA dubleksleri, HASTY (HST) tarafından çekirdekte sitoplazmaya taşınmaktadır (Park vd., 2005). RNA susturulmasının uyarılması için miRNA\*'lar sitoplazmada parçalanmakta ve fonksiyonel olmayan yan ürün olarak kabul edilmektedir (Xu vd., 2017). Dubleksin diğer dizisi olan miRNA (kılavuz zincir) RNA-kaynaklı susturma kompleksi (RISC)'ne dahil edilmektedir. Bu yapı, ARGONAUTE (AGO) proteinleri ile bir kompleks oluşturarak miRNA'nın tamamlayıcı RNA'ya yönlendirilmesini sağlamaktadır (Dugas ve Bartel, 2004).

## 2.10. Çevresel Stresler Sırasında Bazı Önemli miRNA'lar ve Etkileri

Bitkilerde, çevresel stresler sırasında miRNA ekspresyonundaki küçük ve geçici değişiklikler dahil önemli fizyolojik etkilere neden olabilmektedir. Çeşitli dokularda (kök, sürgün vb.) ayrı ayrı miRNA ekspresyonunun analiz edildiği birkaç çalışmada bazı miRNA'ların stres sırasında farklı dokularda farklı değişiklikler gösterdiği belirlenmiştir. Örneğin; arpada dehidrasyon sırasında dokuya özgü dört miRNA regülasyonu gözlemlenmiştir. Buna göre; *miR166* geninin yapraklarda ekspresyon seviyesi artarken, köklerde ekspresyon seviyesi azalmıştır. *miR156a*, *miR171* ve *miR408* yapraklarda uyarılırken, köklerde ifadelerinde değişiklik gözlemlenmemiştir (Kantar vd., 2010). Zhang vd. (2009), patatesteki yaptıkları bir çalışmada *miR172*, *miR395*, *miR399*, *miR414* ve *miR778* genlerinin çeşitli hastalıklara ve çevresel streslere karşı bitki savunmasında etkili olduğunu belirlemişlerdir. Han vd. (2013), buğday bitkilerinde *miR1436*, *miR1439*, *miR5067* ve *miR5205* genlerinin hastalık direncinde, *miR395d* ve *miR1435* genlerinin abiyotik streslere toleransta, *miR5181* ve *miR5175* genlerinin hücre içi iyon taşınımı sırasında, *miR774* ve *miR1126* genlerinin

çeşitli metabolik yolların düzenlenmesinde, *miR530* ve *miR5175* genlerinin sinyal iletiminde yer aldığını bildirmişlerdir.

Reyes ve Chua (2007), iki farklı TF'nin stres sırasında miR159 ile etkileşimlerini belirlemek için *Arabidopsis thaliana* tohumlarını *in vivo* ortamda çimlendirmişler ve bir günlük fidelere 1-2 gün boyunca ABA uygulamışlardır. Çalışmalarında, miR159'un ilk 4-8 saat arasında en yüksek ifade seviyesine ulaştığını belirlemişlerdir. Ayrıca, *in vitro* koşullar altında 48 saat boyunca çimlendirilen *A. thaliana* tohumlarına 8 saat kuraklık stresi uygulamışlardır ve miR159'un ifade seviyesinde artışlar olduğu gözlemlenmiştir. Analiz sonuçlarında *in vivo* koşullar altında miR159'un hedeflediği MYB33 ve MYB101 TF'lerin ifade seviyelerini incelemişlerdir. Stres uygulaması yapılan bitki grubunda MYB33 ve MYB101 TF'lerin ifadelerinde herhangi bir değişiklik olmadığını belirlemişlerdir. Buna karşın kontrol grubuna ait bitkilerde ise MYB101 TF'lere ait gen ifade seviyesinde artış meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Elde ettikleri bu sonuçlar karşısında miR159 ekspresyonunun ABA/kuraklık stresleri tarafından negatif olarak düzenlendiğini bildirmişlerdir.

Yapılan çeşitli çalışmalar sonucunda *miR169* geninin domates ve mısırdaki (Zhang vd., 2011; Sheng vd., 2015), *miR160*, *miR166*, *miR159* ve *miR157* genlerinin börülcede (Barrera-Figueroa vd., 2011), *miR393* geninin çeltikte (Zhou vd., 2010), *miR399b* geninin arpada (Lv vd., 2012) kuraklık stresine karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *miR159/miR319* genlerinin domateste TYLCV'ye karşı (Naqvi vd., 2010), *miR156* ve *miR157* genlerinin yer fıstığında (Zhao vd., 2015) ve *miR166* geninin tütünde (Guo vd., 2011) hastalık direncinde rol aldığı belirlenmiştir.

He vd. (2014), kurşun (Pb)'a maruz bıraktıkları pamuk bitkilerinin hem yapraklarında hem de köklerinde *miR156*, *miR159*, *miR164*, *miR167*, *miR395*, *miR833* ve *miR855* genlerinin aşırı düzeyde ifade edildiğini belirlemişlerdir. Bununla birlikte, *miR159*, *miR162*, *miR167*, *miR395* ve *miR396* genlerinin yapraklarda, *miR159*, *miR162*, *miR169*, *miR395*, *miR396*, *miR397*, *miR398*, *miR833a*, *miR858a* ve *miR5658* genlerinin köklerde ifade edildiğini bildirmişlerdir.

Candar-Çakır vd. (2016), domateste kuraklık sırasında uyarılan miRNA'ları belirlemek için kuraklığa duyarlı ve kuraklığa toleranslı olmak üzere iki farklı çeşit kullanmışlardır. Çeşitlere ait tohumları, kontrollü koşulların sağlandığı MS ortamında 14 gün çimlendirmeye tabii tutmuşlar ve ardından genç fidelere 7 gün boyunca %5'lik PEG uygulamışlardır. Çalışma sonunda 578 aileye ait 699 korunmuş miRNA belirlenmiştir. 688 miRNA'nın ise çeşitli işlevler sırasında anlamlı bir şekilde ifade edildiği bildirilmiştir. Aynı zamanda 36 miRNA ailesi ile ilişkili olarak 44 hedef gen tanımlanmıştır. Toplamda 53 miRNA'nın, DRP (dehidrasyona duyarlı protein), GTs (glikosil transferazlar), ERF (etilen duyarlılık faktörü), PSII proteini (fotosistem II), HD-ZIP (homeodomain-lösin fermuar), MYB ve NAC TF'leri dahil olmak üzere kuraklıkla ve doku gelişimiyle ilgili 23 geni hedef aldığı tespit edilmiştir. *miR160*, *miR165*, *miR166*, *miR171*, *miR398*, *miR408*, *miR827*, *miR9472*, *miR9476* ve *miR9552* genlerinin belirtilen genlerin düzenlenmesinde sorumlu miRNA'lar olduğu bildirilmiştir.

Sanz-Carbonell vd. (2019), yaptıkları bir çalışmada soğuk, kuraklık, yüksek tuz, kısa gün, *Monosporascus cannonballus* (fungus), Şerbetçiotu bodurluk viroidi (*Hop Stunt Viroid*, HSVd) ve *Agrobacterium tumefaciens*'e maruz bıraktıkları kavun bitkisinde 24 farklı miRNA geninin ekspresyon seviyelerini belirlemişlerdir. Yapılan analizler sonucunda, farklı streslere tepki sırasında etkili olduğu bilinen *miR398*, *miR397*, *miR408*, *miR162*, *miR395*, *miR6478*, *miR159*, *miR165*, *miR394*, *miR1515*, *miR390*, *miR171*, *miR167*, *miR166*, *miR172*, *miR160*, *miR164*, *miR393*, *miR169*, *miR157*, *miR168*, *miR156*, *miR319* ve *miR396* genlerinden hiçbirinin tüm stres uygulamaları sırasında önemli bir değişikliğe uğramadığı gözlemlenmiştir. Buna rağmen; *miR397*, *miR398* ve *miR408* genlerinin soğuk, kuraklık, HSVd ve *Agrobacterium t.* uygulamasına karşı ekspresyonlarında artışlar olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar ile miRNA'lar ve kavun bitkisinin çevresel stresler faktörlerine karşı verilen yanıtta etkileşimlerini ortaya çıkarılmıştır.

Gen ifadesi mekanizmalarının tüm ayrıntıları ile ortaya çıkarılması ilgi çeken çalışma alanları arasındadır. Günümüzde yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğu belirlenen bir bitki materyalinde ve MYB TF'ler ve miRNA ailelerinin tek yönlü ortaya çıkarılmasını kapsamaktadır. Yaptığımız bu Yüksek Lisans Tez çalışması ile model bir bitki olan domateste, yaygın olarak görülen ve ciddi sorun teşkil eden biyotik

stres etmenlerinden TSWV enfeksiyonu ve abiyotik stres etmenlerinden kuraklık stresinin tekli ve/veya çoklu uygulamaları sayesinde *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* ve *Sly-miR159* genin bitkilerdeki işlevleri hakkında daha kapsamlı bilgilere ulaşılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda, domates üzerinde olumsuz etkisi bulunan tekli ve/veya çoklu stres uygulamaları sırasında bitki bünyesinde kodlanan MYB TF'ler ve miR159'un ifade düzeylerindeki değişimler ve miR159/MYB TF'lerin etkileşimleri moleküler düzeyde belirlenmiştir.



### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

Bu çalışma; Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Moleküler Biyoloji Laboratuvarı ve bünyesinde yer alan bitki büyütme kabini kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### **3.1. Bitki Materyali**

##### **3.1.1. Alsancak**

Alsancak domates çeşidi yapılmış olan bu Yüksek Lisans tezi kapsamında kullanılan domates çeşitlerinden birisidir. Bu domates çeşidinin yetiştiriciliği ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde açıkta tarlada ve seralarda yapılmaktadır. Sırık domates çeşitleri arasında yer alan Alsancak domates çeşidi oldukça kuvvetli bir bitki yapısına sahiptir. Bitkinin boğum araları kısa, yaprakları oldukça fazla ve iridir. Bir salkımda 6-8 adet meyve veren bu çeşit, erkenci bir çeşittir ve verimi son derece yüksektir. Meyveleri kırmızı renkli, sert ve kalitelidir. Meyvelerinin raf ömrü oldukça uzun olup ortalama meyve ağırlığı 180-200 g arasında değişiklik göstermektedir (Anonim, 2019d). Alsancak domates çeşidinin, viral hastalık etmenlerinden TSWV'ye karşı duyarlı olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle de bu tez çalışması kapsamında Alsancak domates çeşidi TSWV'ye karşı duyarlı çeşit olarak seçilmiş ve çeşide ait tohumların TSWV'ye karşı duyarlılığı bu çalışma kapsamında yapılan deneylerde kullanılmadan önce deneysel olarak real-time PCR yöntemi kullanılarak test edilmiştir.

##### **3.1.2. Sedir**

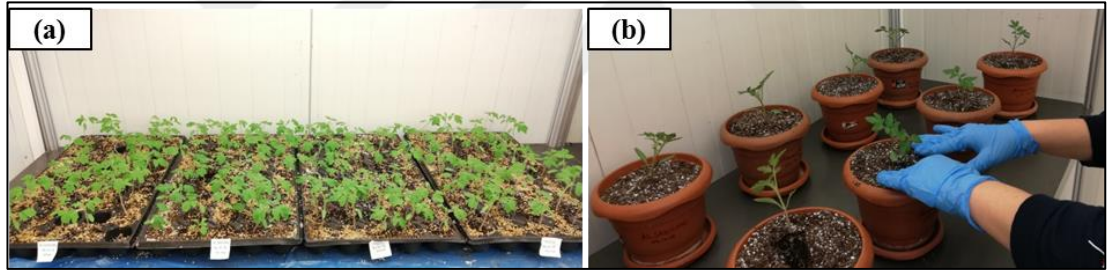
Sedir domates çeşidi yapılmış olan bu Yüksek Lisans tezi kapsamında kullanılan diğer bir domates çeşididir. Sırık domates çeşitleri arasında yer alan Sedir domates çeşidi oldukça kuvvetli bir bitki yapısına sahiptir. Bitkinin boğum araları orta uzunlukta, yaprakları oldukça fazla ve iridir. Bir salkımda 5-6 adet meyve veren bu çeşidin verimi son derece yüksektir. Meyveleri kırmızı renkli, hafif basık, sert ve kalitelidir. Meyvelerinin raf ömrü oldukça uzun olup ortalama meyve ağırlığı 190-200 g arasında değişiklik göstermektedir. Sedir domates çeşidi, viral hastalık



etmenlerinden TSWV'ye karşı dayanıklılık göstermektedir (Anonim, 2019e). Sedir domates çeşidi bu çalışma kapsamında yapılmış olan deneylerde TSWV'ye karşı dayanıklı çeşit olarak seçilmiş ve kullanılmıştır. Tohumların TSWV'ye karşı dayanıklılığı bu çalışma kapsamında yapılan deneylerde kullanılmadan önce deneysel olarak real-time PCR yöntemi kullanılarak test edilmiştir.

### 3.1.3. Bitki materyalinin yetiştirilmesi

Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait domates tohumları, içerisinde 3:1 oranında torf:perlit bulunan 6,5×5 cm viollere, her kuyuda birer tohum olacak şekilde ekilmiştir. Tohumların bitki büyütme kabini içerisinde 25±5 °C sıcaklık %60 ± 5 oransal nem ve 16/8 saat fotoperiyot uygulaması altında çimlenmeleri sağlanmıştır. İlk gerçek yaprakları oluşan fideler aynı şartların sağlandığı 170×135 mm saksılara şaşırtılarak bitkilerin büyümeleri sağlanmıştır (Şekil 3.1).



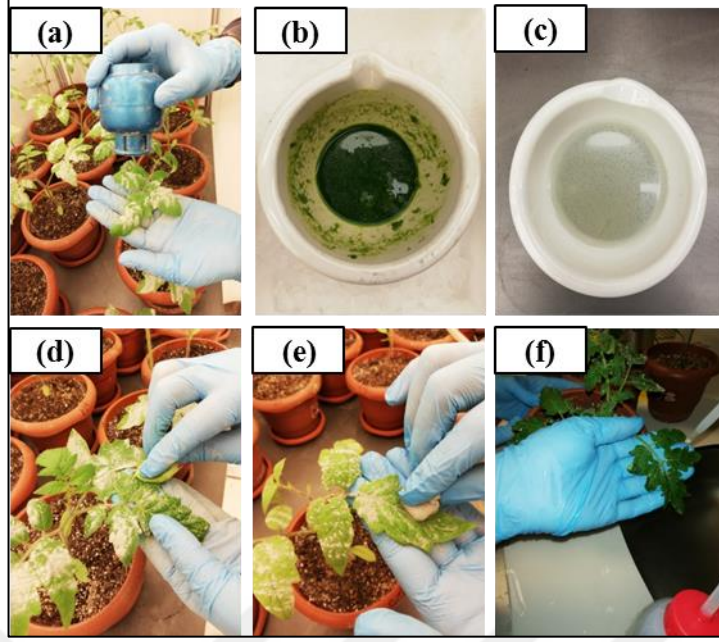
Şekil 3.1. Alsancak ve Sedir domates tohumlarının çimlendirilmesi (a) ve fidelerin saksılara şaşırtılması (b)

### 3.2. Mekanik İnokülasyon

Mekanik inokülasyonda inokulum kaynağı olarak Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Moleküler Biyoloji Laboratuvarı bitki büyütme kabini içerisinde yer alan ve periyodik olarak yeni bitkilere aktarımı gerçekleştirilen TSWV izolatı kullanılmıştır. Yapılmış olan bu Yüksek Lisans tezi kapsamında kullanılan bu izolat daha önce Antalya ili örtü altı domates üretim alanlarında yapılan bir sörvey çalışması sırasında belirlenmiş TSWV izolatı, *Sw-5* geni içermeyen domates bitkilerinin yaprak ve meyvelerinde TSWV'nin tipik belirtilerini oluşturduğu gözlemlenmiştir. TSWV izolatı aynı zamanda Antalya Bölgesinde yaygın olarak bulunan ToCV, TYLCV, TMV ve ToMV virüslerine karşı testlenmiş ve başka bir

virüsle bulaşık olmadığı ve karışık enfeksiyon içermediği daha önce tespit edilmiştir. Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine TSWV inokülasyonu için tohumdan yetiştirilen ve aynı düzeyde gelişme gösteren 1 aylık domates fideleri kullanılmıştır. Her iki domates çeşidi için ayrı ayrı olarak 16 bitkiye TSWV inokülasyonu, 6-10 adet bitkiye yalancı inokülasyon yapılmıştır. Ayrıca, her iki domates çeşidinden 6-10'ar adet bitki içeren iki grup da yapılan deneylerde hiç bir uygulama yapılmayan kontrol bitkileri olarak kullanılmıştır.

İnokülasyon öncesi Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitkiler kendi aralarında üç gruba ayrılmışlardır. Bu gruplardan TSWV inokülasyonu yapılacak bitkiler (V), yalancı inokülasyon yapılacak bitkiler (Yİ) ve kontrol bitkileri (KNT) olarak isimlendirilmiştir. TSWV inokülasyonu ve yalancı inokülasyon yapılacak olan bitkilerin yapraklarına inokülasyon öncesi karborundum tozu serpilirken, kontrol bitkilerine ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Mekanik inokülasyon için TSWV enfekteli kaynak bitkiden alınan yaprak dokuları %0.2 sodyum sülfid ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ), 0.01 M 2-mercaptoethanol ve carborundum içeren 0,1 M fosfat çözeltisi (pH:7) içeren havan içerisinde iyice ezilip karıştırılarak inokülüm hazırlanmıştır. Yalancı inokülasyon için ise %0.2 sodyum sülfid ( $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ), 0.01 M 2-mercaptoethanol ve carborundum içeren 0,1 M fosfat çözeltisi (pH:7) bir havan içerisinde karıştırılarak yalancı inokülüm hazırlanmıştır. TSWV içeren ve içermeyen karışımlar bir gazlı bez yardımıyla sırasıyla TSWV inokülasyonu veya yalancı inokülasyon yapılacak bitki grubuna sürülerek inokülasyon gerçekleştirilmiştir. İnokülasyon ve yalancı inokülasyondan yaklaşık 5 saat sonra inokülasyon yapılan bitki yaprakları saf su ile yıkanmıştır (Şekil 3.2). Yapılan uygulamanın ardından 7., 14. ve 21. günlerde her üç gruba ait bitkilerin üstten 3. ve 4. yaprakları alınarak her bir çeşit için üç farklı grubu temsil etmek üzere ayrı ayrı tüplerde toplanmıştır. Alınan yaprak örnekleri sıvı azot içerisinde dondurularak -80 °C'de muhafaza edilmiştir.



- (a) Yapraklara carborundum tozu dökülmesi  
 (b) Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu için hazırlanan çözelti  
 (c) Yalancı inokülasyon için hazırlanan çözelti  
 (d) Domates lekeli solgunluk virüsü inokülasyonu  
 (e) Yalancı inokülasyon  
 (f) Yaprakların saf su ile yıkanması

Şekil 3.2. Alsancak ve Sedir domates bitkilerine mekanik inokülasyon ile Domates lekeli solgunluk virüsünün bulaştırılma aşamaları

Bitkilere mekanik inokülasyon ile TSWV bulaştırılması farklı zamanlarda olmak üzere iki defa tekrar edilmiştir. Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitkiler tekrarlanan her bir uygulama için daha önce belirtilen koşullarda yetiştirilerek yeni domates fidelerinin elde edilmesi sağlanmıştır.

### 3.3. TSWV Enfekteli Bitkilerin Testlenmesi

Virüs inokülasyonu yapılan bitkilerin TSWV-enfekteli olup olmadıklarının belirlenebilmesi için inokülasyondan 21 gün sonra bitkilerden yaprak örnekleri alınmıştır. Ayrıca, pozitif kontrol olarak kullanılmak üzere TSWV taşıdığı bilinen kaynak domates bitkilerinden de yaprak örnekleri alınmıştır. Alınan yaprak örneklerinden CTAB yöntemi kullanılarak total nükleik asit izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen total nükleik asit konsantrasyonu ve saflığı NanoDrop (Thermo, ABD) ile ölçülerek belirlenmiştir. Daha sonra her bir örneğin TSWV ile enfekteli olup olmadığı SuperScript™ III Platinum™ One-Step qRT-PCR Kit (Invitrogen, ABD) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda tek aşamalı RT-qPCR

yöntemiyle belirlenmiştir. Bu amaçla 1500 ng total nükleik asit ve 100 µM TSWV NP genine spesifik olarak dizayn edilmiş primerler ve HEX etiketli prob 1X SuperScript™ III Platinum™ One-Step qRT-PCR (Invitrogen, ABD) karışımıyla karıştırılarak 20 µl real-time PCR karışımı hazırlanmıştır. Son olarak hazırlanan bu karışım 42°C'de 30 dakika, 95°C'de 3 dakika, 55°C'de 10 saniye ve 72°C'de 20 saniye 39 döngü olacak şekilde programlanan CFX96-Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, ABD)'de çoğaltılmıştır. Reaksiyon sonucunda elde edilen çoğaltım eğrileri analiz edilerek inokülasyon yapılan Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde TSWV enfeksiyonunun olup olmadığı belirlenmiştir. İnokülasyon yapılan bitkilere TSWV bulaştırıldığına real-time RT-PCR yöntemiyle belirlenmesinde kullanılan prob ve primerlere ait primer kodu ve primer dizisi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonunun real-time RT-PCR yöntemiyle belirlenmesinde kullanılan prob ve primerlere ait primer kodları ve dizileri

<b>Primer İsmi</b>	<b>Primer Kodu</b>	<b>Primer Dizisi</b>
Probe - HEX	BC 366	5'-ATCTAAGATTGCTTCCCACCCCTTTGATT-3'
Forward Primer	BC 367	5'-GCTTGTTGAGGAAACTGGGAATT-3'
Reverse Primer	BC 369	5'-AGCCTCACAGACTTTGCATCATC-3'

### 3.4. Kuraklık Stresi

Kuraklık stresi uygulamasında kullanılmak üzere aynı yaşta olan ve kendi aralarında eşit gelişim gösteren Alsancak ve Sedir çeşitlerine ait domates fideleri rastgele seçilerek kontrol ve stres grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Her iki çeşit için 6-10 adet stres ve 6-10 adet kontrol bitkisi kullanılmıştır. Su kısıtlaması yöntemiyle 7 günlük kuraklık uygulaması yapılan stres grubu bitkileri denemenin 0. gününde sulanmıştır. Ancak daha sonraki günlerde stres grubu bitkilerine su verilmemiştir. Kontrol grubu bitkilerine ise 0. günden itibaren düzenli olarak su verilmesine devam edilmiştir. Kuraklık uygulaması süresince stres ve kontrol gruplarına ait bitkilerin toprak nemleri WET Sensor (Delta-T Devices, İngiltere) cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Toprak nemi ölçümleri yaprak örnekleri alınmadan hemen önce yapılmıştır. Her bir ölçüm saksıların birbirlerine karşılıklı olacak şekilde iki farklı yerinden yapılarak gerçekleştirilmiştir ve her bir saksıya ve/veya bitkiye ait toprak nem düzeyleri

yapılan bu ölçümlerin ortalamaları alınarak belirlenmiştir. Sonra eşit ve/veya birbirine yakın nem oranına sahip bitkilerden yaprak örnekleri kuraklık stresi uygulamasının 0., 3., 5. ve 7. günlerinde stres ve kontrol grubunu oluşturan bitkilerden ayrı ayrı olmak üzere alınmış ve iki farklı tüp içerisinde toplanmıştır. Alınan yaprak örnekleri sıvı azot içerisinde dondurularak bir sonraki analiz aşamasına kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Bitkilere uygulanan kuraklık stresi, farklı zamanlarda ve farklı bitki grupları kullanılarak iki defa tekrar edilmiştir. Her bir stres uygulaması için Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait tohumlar daha önce belirtilen koşullar altında çimlendirilerek yeni domates bitkilerinin elde edilmeleri sağlanmıştır.

### **3.5. TSWV/Kuraklık Uygulaması**

Bitkilere mekanik inokülasyonla TSWV uygulamasının ardından 21 gün sonra Alsancak domates çeşidinin TSWV taşıdığı ve Sedir domates çeşidinin ise TSWV taşımadığı real-time RT-PCR yöntemi kullanılarak belirlendikten sonra kuraklık stresi uygulanmıştır. Her iki çeşit için ayrı ayrı olmak üzere 8'er adet TSWV/kuraklık stresi grubu ve 8'er adet de TSWV'li bitkiler kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Stres grubu bitkilerini oluşturan bitki gruplarına su kısıtlaması yöntemiyle 7 günlük kuraklık stresi uygulanmıştır. Bu yöntem uygulayarak yapılan kuraklık stresi sırasında bitkilere en son su verildikten sonra 7 gün boyunca su verilmemiştir. Kontrol grubunu oluşturan bitkilerin ise 0. günden itibaren düzenli olarak sulamalarına devam edilmiştir. Kuraklık uygulaması süresince stres ve kontrol gruplarına ait bitkilerin toprak nemleri WET Sensor (Delta-T Devices, İngiltere) cihazı ile ölçülmüştür. Toprak nemi ölçümleri yaprak örnekleri alınmadan hemen önce yapılmış olup, ölçüm değerleri her bir saksının birbirine karşılık gelen farklı yerinden yapılan iki ölçümün ortalaması alınarak belirlenmiştir. Bitkilerden yaprak örnekleri kuraklık stresi uygulamasının 0., 3., 5. ve 7. günlerinde toprak nem değerleri eşit ve/veya birbirine yakın nem oranına sahip bitkilerden toplanmıştır. Farklı günlerde toplanan yaprak örnekleri her bir çeşit için ayrı ayrı olmak üzere kontrol ve stres gruplarını temsil eden örnekler ayrı ayrı tüpler içerisinde toplanmıştır. Alınan yaprak örnekleri sıvı azot içerisinde dondurulup, bir sonraki analiz zamanına kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

Bitkilere TSWV/kuraklık uygulaması farklı zamanlarda ve farklı bitki grupları kullanılarak iki defa tekrarlanmıştır. Her bir stres uygulaması için Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait tohumlar daha önce belirtilen koşullar altında çimlendirilmiş ve yeni domates fideleri elde edilmiştir.

### **3.6. Total RNA İzolasyonu**

Alınan yaprak örneklerinden toplam RNA izolasyonu RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Aynı zamanda toplam RNA izolasyonu sırasında genomik DNA kontaminasyonunu engellemek amacıyla DNase uygulaması (RNase-Free DNase Set, Qiagen, Almanya) da gerçekleştirilmiştir. Bitki yaprak örnekleri kullanılarak yapılan toplam RNA izolasyonu aşağıda kısaca açıklandığı şekilde yapılmıştır. Sıvı azot içerisinde dondurularak -80 °C'de muhafaza edilen yaprak örnekleri dietil pirokarbonat (diethyl pyrocarbonate, DEPC) ve ardından otoklav kullanılarak sterilizasyonları gerçekleştirilen steril havanlar içerisinde sıvı azot yardımıyla un haline gelinceye kadar ezilmiştir. Sonra ezilen yaprak örneklerinden yaklaşık olarak 100 mg alınarak 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır. Daha sonra her bir örnek için ayrı ayrı hazırlanan 450 µl RCL Buffer ve 5 µl β-mercaptoethanol karışımı 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpü içerisinde yer alan yaprak örneklerinin üzerine eklenmiştir. Elde edilen bu karışım +56 °C'de 3 dak. boyunca inkübasyona tabi tutulmuştur. Kısa süreli inkübasyonun ardından örneklerin RNA izolasyon kiti içerisinde yer alan lila renkli QIAshredder spin kolonuna maksimum hızda santrifüjleri yapılarak aktarımları sağlanmıştır. Santrifüj sonrasında toplama tüpünde oluşan pelete dokunmadan kolondan geçen ~400 µl süpernatantın dikkatli bir şekilde alımı gerçekleştirilmiştir. Daha sonra süpernatant yeni bir 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alınmış ve üzerine ~200 µl % 96'lık etanol eklenerek pipetleme yardımıyla karışımı sağlanmıştır. Son hacmi ~600 µl olan örnekler RNA izolasyon kiti içerisinde yer alan pembe renkli RNeasy spin kolonuna aktarımları 10 000 rpm'de 15 sn süreyle santrifüj yapılarak gerçekleştirilmiş ve kolon altında kalan sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Daha sonra pembe kolon içerisine 350 µl RW1 Buffer eklenerek 10 000 rpm'de 15 sn boyunca santrifüje tabi tutulmuştur. Santrifüj sonrası kolon altında kalan sıvı kısım atılmıştır. Her bir örnek için ayrı bir eppendorf tüpünde 70 µl RDD Buffer üzerine 10 µl DNase I stok solüsyonu eklenerek, örneklere DNase

uygulamasını amacıyla bir karışım hazırlanmıştır. Hazırlanan bu karışım (80 µl) doğrudan RNeasy spin kolonun membranını üzerine eklenerek 15 dak. boyunca oda sıcaklığında (20-30 °C) inkübasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra kolon içerisine 350 µl RW1 Buffer eklenerek 10 000 rpm'de 15 sn boyunca santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrası kolon altında kalan sıvı kısım atılmıştır. Bir sonraki aşamada kolonun yıkanması amacıyla kolonun içerisine 500 µl RPE Buffer eklenmiş ve 10 000 rpm'de 15 sn boyunca santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrası kolon altında kalan sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Yıkamanın iyi bir şekilde gerçekleştirilmesi için kolon içerisine tekrar 500 µl RPE Buffer eklenerek 10 000 rpm'de 2 dak. boyunca santrifüje tabi tutulmuştur. Santrifüj sonrası kolon altında kalan sıvı kısım atılmıştır. Kolonun içerisinde olabilecek olan etanolün uzaklaştırılması amacıyla pembe kolon 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne aktarılmış ve maksimum hızda 1 dak. boyunca santrifüj edilmiştir. Son olarak kolon yeni bir 1.5 ml'lik toplama tüpüne aktararak kolonun membranını üzerine 50 µl RNase'dan arı steril saf su eklenmiş ve 10 000 rpm'de 1 dak. boyunca santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrası RNA degradasyonunu önlemek için örnekler buz içerisine alınmıştır. Elde edilen toplam RNA'nın konsantrasyonu ve saflığı NanoDrop (Thermo, ABD) ile ölçülerek bir sonraki aşamada kullanılmaya kadar -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.7. MYB Genlerinin Seçimi

Yapılmış olan bu Yüksek Lisans Tezi çalışması kapsamında TSWV ve kuraklık stresleri ayrı ayrı ve kombineli bir şekilde uygulanması nedeniyle hem biyotik hem de abiyotik stres faktörlerine karşı dayanıklılıkta etkili olduğu düşünülen çeşitli MYB TF'leri geniş kapsamlı literatür taramasıyla belirlenmiştir. Domates bitkisinde tanımlanan 140 MYB TF'den abiyotik ve biyotik stress faktörleri sırasında ekspresyon seviyelerinde değişiklik meydana gelen ve stres etmenlerine karşı bitki savunmasında yer alan potansiyel genlerin dizi bilgileri bitki transkripsiyon faktörü veri bankasından (Plant Transcription Factor Database, PlantTFDB) elde edilmiştir. Buradan cDNA sekansları elde edilen domates MYB TF'lerinin BLASTX ve BLASTN analizleri yapılarak başta *A. thaliana* olmak üzere farklı bitki gruplarında tanımlanan diğer MYB TF'ler ile olan benzerlikleri ve benzerlik düzeyleri tespit edilmiştir. Literatür taraması ve BLAST sonuçlarına göre abiyotik ve biyotik stresler sırasında ifade olan ve/veya baskılanan genler arasından tesadüfi olarak 8 MYB geni

seçilmiştir (Çizelge 3.2). Bu genlere ait tasarlanan primerler Macrogen (Güney Kore) firmasına sentezlettirilmiştir.

Çizelge 3.2. Abiyotik ve biyotik stres faktörleri sırasında bitkilerde etkili olan bazı MYB TF'leri

Genler	<i>S. lycopersicum</i> TF ID	Accession Number	E. Value
<i>S/MYB15</i>	Solyc03g005570.2.1	XP_004234040.1	0.0
<i>S/MYB31</i>	Solyc06g069850.2.1	XP_004241580.1	0.0
<i>S/MYB44</i>	Solyc02g092930.1.1	XP_010315996.1	0.0
<i>S/MYB60</i>	Solyc10g081490.1.1	NP_001304303.1	0.0
<i>S/MYB73</i>	Solyc04g050090.1.1	XP_015159289.1	1e-26
<i>S/MYN96</i>	Solyc03g116100.2.1	XP_004236011.1	0.0
<i>S/MYB101</i>	Solyc07g052300.2.1	XP_004243474.1	0.0
<i>S/MYB109</i>	Solyc05g052850.2.1	XP_004239924.1	0.0

### 3.8. cDNA Sentezi ve Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR)

Elde edilen toplam RNA'lerden RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo, ABD)'i kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Öncelikle 10 mM random primer, oligo (dT) primeri, miR159 RT primeri ve 2000 ng total RNA bir tüp içerisinde karıştırıldıktan sonra karışım 65 °C'de denatürasyona tabi tutulmuştur. miR159-RT'ye ait primer kodu ve primer dizisi Çizelge 3.3.'de verilmiştir. Denetürasyon yapılan total RNA ve primer karışımına Reverse Transcriptase enzimi eklendikten sonra karışımın hacmi RNase'dan arı steril saf suyla 20 µl'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu karışım 10 dak süreyle 25°C'de bekletildikten sonra 42°C'de 60 dak. ve 72°C'de 10 dak. süreyle iCycler (Bio-Rad, ABD) termal döngü cihazında tutularak cDNA sentezi tamamlanmıştır.

Çizelge 3.3. miR159-RT primerine ait primer kodu ve primer dizisi

Primer İsmi	Primer Kodu	Primer Dizisi
miR159-RT	BC 457	5'-GCGTGGTCCCGACCACCACAGCCGCCACGACCACGCTAGAGC-3'



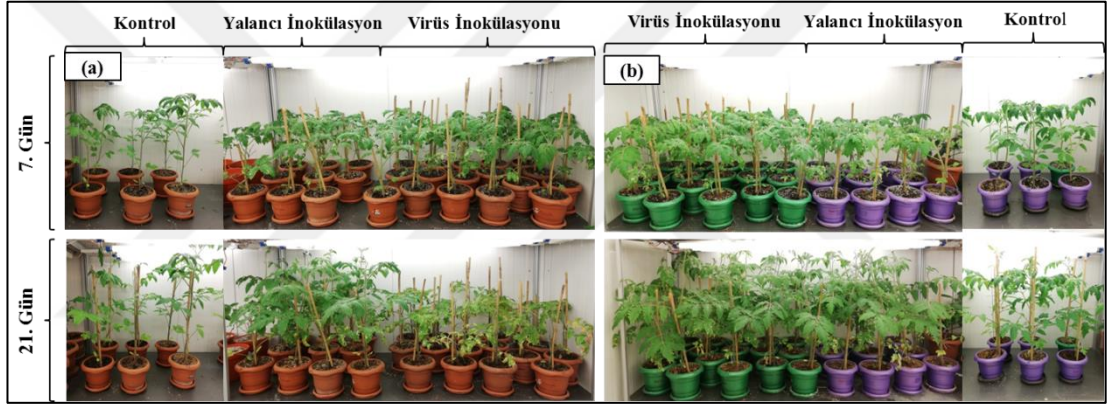
### 3.9. Real-Time PCR

Bu tez kapsamında RealQ Plus 2X Master Mix Green (Ampliion, Danimarka) kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda real-time PCR çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Real-time PCR çalışmaları 96 kuyucuklu platelerde, 20 µl'lik reaksiyon içerisinde toplam primer hacmi 1 µl ve hedef cDNA'dan 100 ng kullanılmıştır. Real-Time PCR; CFX96-Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, ABD) kullanılarak ilk denatürasyon aşamasında 95 °C'de 15 dak., daha sonra 40 döngü olacak şekilde denatürasyon 95 °C'de 10 sn, bağlanma 55 °C'de 10 sn, uzama 72 °C'de 10 sn olarak ayarlanmıştır. MYB genlerinin ekspresyon analizlerinde referans gen olarak 18SrRNA kullanılırken, miRNA159'un ekspresyon analizinde referans gen olarak SnoU6 geni kullanılmıştır. Çalışma, iki biyolojik ve iki teknik tekrar olmak üzere toplam dört kez tekrar edilmiştir. Gen ekspresyonu düzeyindeki değişimler kullanılan referans genlere göre  $2^{-\Delta\Delta CT}$  yöntemi kullanılarak CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System ve CFX Manager programı (Bio-Rad, ABD) ile analiz edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. TSWV İnokülasyonu Enfekteli Bitkilerin Testlenmesi

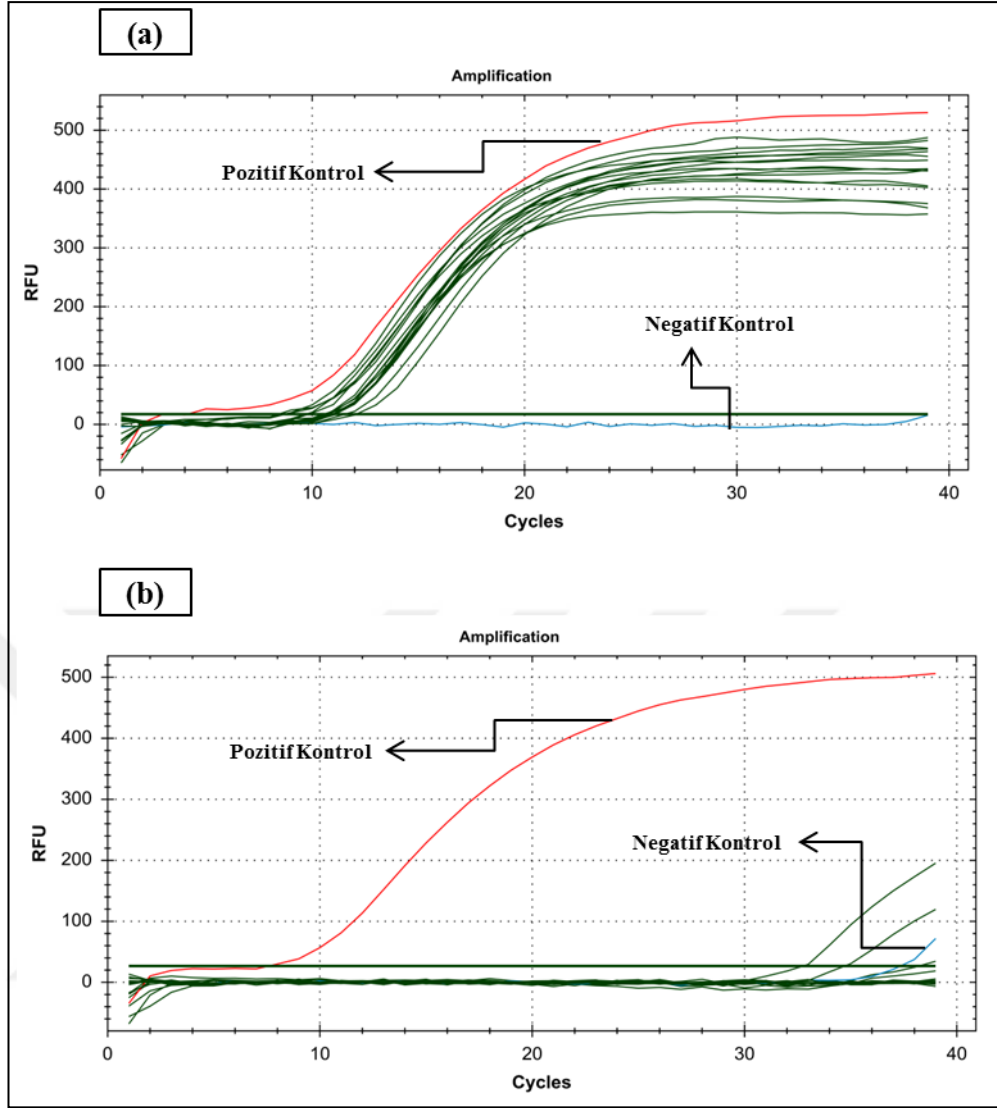
Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine TSWV inokülasyonu yapılarak 21 gün boyunca gözlemlenmiştir. Her iki çeşidin denemede kullanılan bitkileri virüs inokülasyonu, yalancı inokülasyon ve kontrol grubu olacak şekilde gruplandırılmıştır (Şekil 4.1). Tüm uygulamalar her bir domates çeşidi için ikişer defa tekrar edilmiş olup, her uygulama öncesi çeşitlere ait tohumlar yeniden çimlendirilmiştir. Stres uygulamasına tabi tutulacak bitkilerin aynı yaşta ve gelişmeleri açısından birbirlerine yakın düzeyde olanların seçilmelerine dikkat edilmiştir.



Şekil 4.1. Alsancak (a) ve Sedir (b) domates bitkilerinin 21 günlük Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu sırasındaki gelişimi

TSWV inokülasyonu ve yalancı inokülasyon yapılan Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitkilerin uygulamanın 7. gününde kontrol gruplarına göre daha az gelişme gösterdikleri belirlenmiştir. Bu durum, yaralamanın bitki gelişimi üzerine olan etkisinden kaynaklanabileceğini göstermektedir. Uygulamanın 21. gününde ise, Alsancak domates çeşidine ait virüs inokülasyonu yapılan bitkilerin yalancı inokülasyon ve kontrol grubu bitkilerine göre daha az gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca, bu bitkilerin yapraklarında kahverengi nekrozlar ve sararmaların yanı sıra kıvrılmaların da olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, TSWV'ye dayanıklı Sedir domates çeşidine ait tüm bitkilerin grupları arasında ayırıcı nitelikte olabilecek herhangi bir özellik belirlenmemiştir.

Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine virüs inokülasyonu sonrası TSWV'nin bitkilere bulaştırılıp bulaştırılmadığının belirlenebilmesi için uygulamanın 21. gününde bu bitkilerden yaprak örnekleri alınmıştır. Yaprak örneklerinden elde edilen RNA'lar kullanılarak yapılan real-time PCR analizleri sonucunda TSWV inokülasyonu yapılan Alsancak domates çeşidine ait 16 bitkinin tamamının TSWV ile enfekteli olduğu belirlenmiştir. TSWV enfekteli Alsancak bitkilerinin tümünde virüs yoğunluğunun kontrol olarak kullanılan TSWV enfekteli kaynak bitkilerle aynı düzeyde olduğu belirlenmiştir. Ancak yapılan bu testlemeler sonucunda TSWV inokülasyonu yapılan, TSWV'ye dayanıklı Sedir domates çeşidine ait bitkilerin büyük bir çoğunluğunda herhangi bir çoğaltım sağlanamamış ve TSWV ile bulaşık olmadığı belirlenmiştir. Sadece iki Sedir çeşidine ait bitkide 30-35. döngüler arasında az miktarda çoğaltım belirlenmiş ancak benzer bir çoğaltım TSWV inokülasyonu yapılmayan negatif kontrol örneğinde de görüldüğünden dolayı bu bitkilerde TSWV taşıma açısından negatif olarak değerlendirilmiştir. İnokülasyon yapılan Alsancak ve Sedir bitkilerin TSWV testlemesi ile ilgili real-time PCR analizi sonuçlarına ait grafikler Şekil 4.2'de verilmiştir.

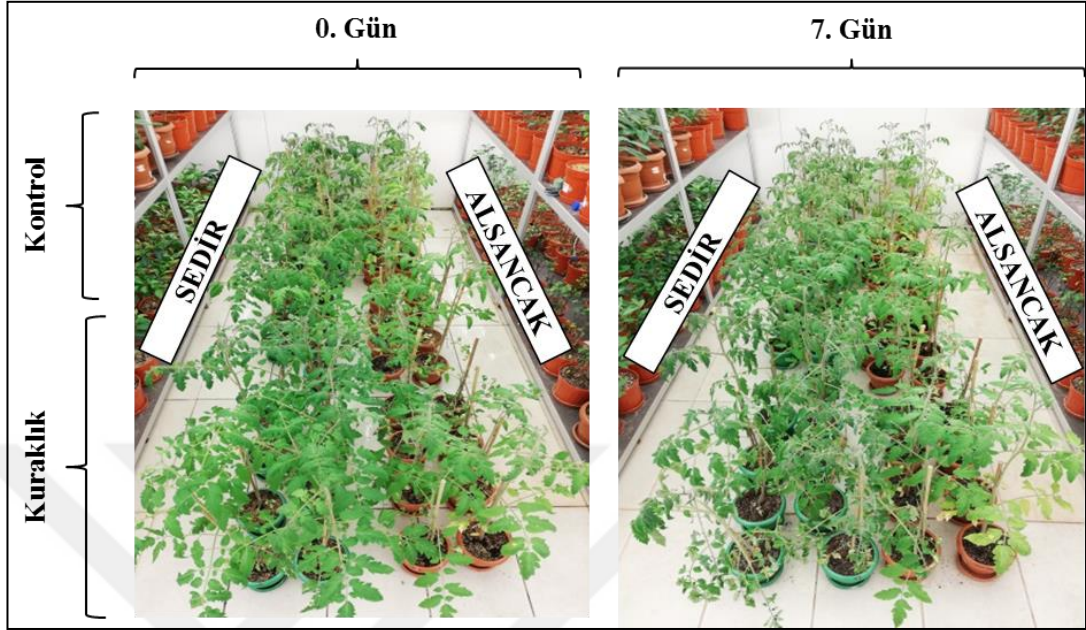


Şekil 4.2. Domates lekeli solgunluk virüsü inokülasyonunun 21. gününde Alsancak (a) ve Sedir (b) domates çeşitlerine ait yaprak örneklerinde virüs enfeksiyonunun belirlenmesi

#### 4.2. Kuraklık Stresi ve Etkileri

Sağlıklı Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine 7 gün boyunca kuraklık stresi uygulanmıştır. Stres uygulaması her bir çeşit için ikişer defa tekrar edilmiştir ve her bir uygulama öncesi çeşitlere ait tohumlar yeniden çimlendirilmiştir. Stres uygulamaları sırasında stres uygulanacak bitkilerin birbirleri ile aynı yaşta ve yakın gelişme düzeyinde olmalarına özen gösterilmiştir. Stres uygulaması süresince kuraklık stresinin farklı domates çeşitlerine olan etkileri kuraklığa maruz bırakılan ve kontrol bitkileri arasındaki farklılıklar morfolojik gözlemler ve saksılardaki toprak nem düzeyleri ölçülerek tespit edilmiştir. Kuraklık stresi uygulanan Sedir domates çeşitlerine ait bitkilerde daha belirgin düzeyde olmak üzere tüm bitkilerin

yapraklarında solgunluk gözlemlenmiş, stres uygulanan tüm bitkilerin uygulanan kuraklık stresini hissettikleri anlaşılmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitkilerin 7 günlük kuraklık stresi sırasındaki gelişimleri

Kuraklık stresi uygulamasının 0., 3., 5. ve 7. günlerinde saksıların toprak nem düzeyleri de ölçülmüş ve bu sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelge 4.1'de yer alan sonuçlar incelendiğinde her iki domates çeşidinde de kuraklık stresinin 3. gününden itibaren saksılarda toprak nem düzeylerinde azalmaların başlamış olduğu ve bu azalmaların kuraklık stresi boyunca da sürdüğü tespit edilmiştir. Buna karşın kuraklık stresi uygulanmayan her iki çeşide ait kontrol gruplarında toprak nem düzeylerinde azalma gözlemlenmiştir. Kuraklık stresi boyunca her iki çeşide ait kontrol ve stres gruplarına ait toprak nem düzeyleri birlikte incelendiğinde kuraklık stresi uygulamasının toprak nem düzeyini olumsuz olarak etkileyerek düşürdüğünü göstermiştir. Bununla birlikte, toprak nem düzeyinde görülen bu azalmaların domates çeşitlerinde yapılan morfolojik gözlemlerle doğru orantılı olduğu da gözlemlenmiştir. Kuraklık stresi sonucunda daha çok yaprak solgunluğu gösteren Sedir domates çeşitlerine ait bitkilerine ait saksıların toprak nem düzeylerinin Alsancak çeşidine göre daha az olduğu belirlenmiştir.

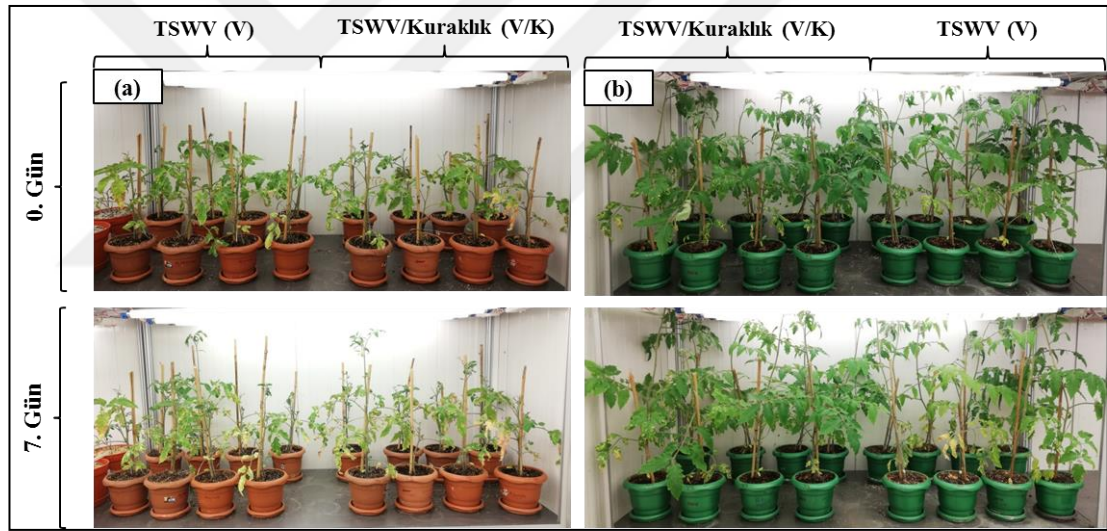
Çizelge 4.1. Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinin 7 günlük kuraklık stresi uygulaması boyunca toprak nem oranları (%)

1. DENEME										
	KURAKLIK STRESİ					KONTROL GRUBU				
	GÜN/ÖRNEK	0. GÜN	3. GÜN	5. GÜN	7. GÜN	GÜN/ÖRNEK	0. GÜN	3. GÜN	5. GÜN	7. GÜN
ALSANCAK	K-1	53.15	43.8	37.8	29.6	Knt-1	45.65	51.5	54.5	55.45
	K-2	48	39.35	27	13.2	Knt-2	50.35	45.4	52.2	53.6
	K-3	51.3	40.3	24.75	11.7	Knt-3	49.2	48.65	52.55	52.45
	K-4	54.05	43.65	30.9	18.15	Knt-4	54.4	54.3	56.55	55.65
	K-5	38.95	21.05	9.7	2.65	Knt-5	53.45	52.95	54.9	55.65
	K-6	53.3	37.5	27.55	12.4	Knt-6	50.9	48.05	53.9	54.2
	K-7	50.9	37.5	24.25	12.15	Knt-7	51.8	50.45	53.85	54.3
	K-8	50.4	33.9	23.65	9.55	Knt-8	49.3	54.25	54.5	58.5
	K-9	53.5	26.2	9.15	2.1	Knt-9	48.75	48.85	53.15	52.65
	K-10	52.25	24.85	8.55	2.55	Knt-10	48.7	44.2	51.75	53.9
SEDİR	K-1	55.65	38.25	22.35	8.3	Knt-1	53.55	52.95	55.4	56.65
	K-2	55.55	32.4	21.2	7.85	Knt-2	53.6	58.05	57.4	53.6
	K-3	44.4	40.95	24.1	10.15	Knt-3	46.15	47.95	57.3	57.25
	K-4	57.2	21.7	8.6	2.9	Knt-4	52.2	45.6	51.95	51.85
	K-5	54.6	29.55	13.15	3.45	Knt-5	47.6	37.6	50.5	44.65
	K-6	53.35	29.55	14.45	3.95	Knt-6	51.85	53.1	55.3	57
	K-7	53.35	35	19.15	6.7	Knt-7	49.4	36.5	44	54.45
	K-8	53.55	23.4	5.45	1.1	Knt-8	52.85	43	52.8	55.2
	K-9		21.5	6.15	1.6	Knt-9	48.1	40.6	48.45	43.7
	K-10	52.35	41	28.95	19.4	Knt-10	49.2	45.35	51.8	45.5
2. DENEME										
	KURAKLIK STRESİ					KONTROL GRUBU				
	GÜN/ÖRNEK	0. GÜN	3.GÜN	5.GÜN	7.GÜN	GÜN/ÖRNEK	0. GÜN	3.GÜN	5.GÜN	7.GÜN
ALSANCAK	K-1	48.85	40	31.2	26	Knt-1	46.15	49.4	55.6	57.5
	K-2	41.95	34	29.2	26.45	Knt-2	46.95	45.35	51.7	56.3
	K-3	38.7	24.5	16.55	16.1	Knt-3	32.15	38.4	36.9	40.85
	K-4	42.15	28.75	28.5	23.4	Knt-4	41.75	42.5	44.7	49.15
	K-5	36.1	25.5	16.75	13.25	Knt-5	31.85	35.65	41.2	43.15
	K-6	47.85	42.75	35.25	31	Knt-6	41	47.05	47.33	47.65
	K-7	52.05	41.2	32.1	25.15					
	K-8	44.4	35.9	32.25	25.9					
SEDİR	K-1	55.9	42.6	36.6	23.8	Knt-1	52.85	51.7	54.05	55.8
	K-2	53.6	16.65	5	1.55	Knt-2	55.55	48.35	55.3	56.05
	K-3	47.8	25.25	10.65	2.7	Knt-3	56.9	56.65	56.5	58.45
	K-4	52.5	24.4	8	3.35	Knt-4	52.95	52.35	56.6	56.9
	K-5	52.35	31.8	19.4	8.4	Knt-5	47.95	53.85	55.15	53
	K-6	52.35	29.85	16.35	7.45	Knt-6				

#### 4.3. TSWV İnokülasyonu ve Kuraklık Stresi Uygulamalarının Birlikte Olan Etkileri

TSWV ile enfekteli ve sağlıklı Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitki gruplarına 7 gün boyunca kuraklık stresi uygulanarak bu çeşitler üzerinde kuraklık ve virüs enfeksiyonunun ortak etkisi araştırılmıştır. TSWV ve kuraklık streslerinin birlikte uygulandığı denemelerde TSWV inokülasyonu yapılan ve inokülasyondan 21 gün sonra TSWV enfekteli olduğu belirlenen Alsancak ve TSWV inokülasyonu ve testlemesi yapılan Sedir bitkileri TSWV/kuraklık uygulaması için kontrol (TSWV) ve kuraklık stresi (TSWV/Kuraklık) gruplarını oluşturmak üzere ikişer olarak farklı

gruplara ayrılmışlardır (Şekil 4.4). Bu gruplara ait bitkilerden TSWV enfeksiyonları gerçekleştirilmiş ve enfeksiyonun 21. gününün sonunda testlemeleri yapılmış olan Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitki grupları 7 gün boyunca sulanmayarak kuraklık stresi tabi tutulurken yine TSWV enfeksiyonları gerçekleştirilmiş ve enfeksiyonun 21. gününün sonunda testlemeleri yapılmış olan Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitki grupları da TSWV/kuraklık stresi uygulamasının kontrol gruplarını oluşturmak üzere ayrılmış ve bu bitkilerin düzenli olarak sulanmalarına devam edilmiştir. TSWV/kuraklık stresi uygulamaları her bir çeşit için ikişer defa tekrar edilmiş olup, her bir uygulama öncesi çeşitlere ait tohumlar yeniden çimlendirilmiş ve bu bitkilerin TSWV inokülasyonları her defasında yeniden yapılmıştır. Ayrıca, stres uygulanacak bitkilerin aynı yaşta ve yakın düzeyde gelişme göstermelerine dikkat edilmiştir.



Şekil 4.4. Alsancak (a) ve Sedir (b) domates çeşitlerine ait bitkilerin 7 günlük Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık uygulaması sırasındaki gelişimleri

TSWV/kuraklık stresi denemesinde kullanılan bitkilerden kuraklık stresi uygulanan TSWV enfekteli grubu oluşturan her iki çeşit domatesin yapraklarında kuraklık stresi uygulanmayan sadece TSWV enfeksiyonu uygulanan kontrol bitkilerine göre bir miktar solgunluk gözlemlenmiştir. Ancak, TSWV enfeksiyonu yapılmış ve TSWV'ne duyarlı Alsancak çeşidine ait bitkiler TSWV'ne dayanıklı Sedir bitkilerine göre kuraklığı daha az hissetmişlerdir. Kuraklık stresi uygulanan ve uygulanmayan bitkilerden kuraklık uygulamasının 0., 3., 5. ve 7. günlerinde yaprak örnekleri toplanmıştır. Bitkilerden örnek alımından hemen önce bitkilerin bulunduğu saksıların

toprak nem düzeyleri ölçülmüştür. Yapılan ölçümlerin sonuçları Çizelge 4.2'de ayrıntılı olarak verilmiştir. Elde edilen verilere göre kuraklık stresi uygulanan bitkilerin kuraklığı 3. günden itibaren hissettikleri ve uygulamanın sonraki günlerinde de toprakta nem kayıplarının devam ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Çizelge 4.2'deki sonuçlar çeşitler bazında incelendiğinde ise sadece kuraklık stresinin uygulandığı domates bitkilerinde olduğu gibi TSWV enfekteli bitkilerde kuraklık stresi sırasında da Sedir domates çeşidine ait bitkilerin Alancak çeşidinden daha fazla oranda su kaybettikleri tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Alancak ve Sedir domates çeşitlerine ait bitkilerin 7 günlük Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık stresi uygulaması boyunca toprak nem oranları (%)

1. DENEME										
	TSWV/KURAKLIK UYGULAMASI					TSWV ENFEKTELİ KONTROL				
	GÜN/ÖRNEK	0. GÜN	3.GÜN	5.GÜN	7.GÜN	GÜN/ÖRNEK	0. GÜN	3. GÜN	5. GÜN	7. GÜN
ALSANCAK	VD-1	54.25	50	43.4	36.7	V-1	49.5	47.2	51.45	41.4
	VD-2	53.3	41.45	35.4	25.85	V-2	50.25	43.2	51.3	41.25
	VD-3	51.95	37.2	26.5	15.95	V-3	54.7	55.8	56	56.5
	VD-4	52.02	40.05	28.35	23.55	V-4	48.3	41	38.05	27.15
	VD-5	50.15	42.55	33.7	30.95	V-5	54.25	51.15	55.7	50.55
	VD-6	50.6	28.45	16.7	7.55	V-6	48.4	46.9	51	44.95
	VD-7	53.1	41.9	34.45	30.85	V-7	51.1	52.75	55.8	54
	VD-8	57.2	49.75	36.1	28.05	V-8	44.45	43.15	52.85	46.8
SEDİR	VD-1	50.95	26.6	8	1.3	V-1	50.15	41.05	50.3	48.55
	VD-2	51.95	32.1	14.7	5.95	V-2	54.7	42.55	53.65	55.85
	VD-3	42.25	19.15	4.9	0.4	V-3	48.4	35.3	44.45	47
	VD-4	55.25	24.1	9.95	2.4	V-4	45.45	29.9	53.95	50.5
	VD-5	48.7	27.65	10.9	3.5	V-5	46.3	33.8	57.65	59.15
	VD-6	52.1	29.35	14.65	2.85	V-6	53.2	42.2	46.6	46.9
	VD-7	43.6	15.7	2.8	.....	V-7	55.7	41.2	51.65	53.2
	VD-8	53.35	33.45	17.1	7.05	V-8	49.9	41.35	55.85	57.3
2. DENEME										
	TSWV/KURAKLIK UYGULAMASI					TSWV ENFEKTELİ KONTROL				
	GÜN/ÖRNEK	0. GÜN	3.GÜN	5.GÜN	7.GÜN	GÜN/ÖRNEK	0. GÜN	3. GÜN	5. GÜN	7. GÜN
ALSANCAK	VD-1	57.7	49.3	48.95	38.45	V-1	53.8	48.65	50	45.85
	VD-2	52.05	35.9	22.45	11.5	V-2	55.85	57.95	58.65	61.85
	VD-3	54.45	43.6	35.65	32.3	V-3	55.35	55.9	59.3	57.45
	VD-4	53.45	44.8	33.8	28.6	V-4	56.95	58.6	59.05	59.5
	VD-5	51.3	35.25	20.55	10.55	V-5	54.7	52.85	55.05	54.9
	VD-6	48.05	34.05	19.15	10.5	V-6	53.8	57.6	58.9	59.35
	VD-7	55.7	43.6	35.25	27.1	V-7	55.3	56	55.8	57.3
	VD-8	55.05	37.75	21.15	12	V-8	56.45	55.5	58.2	53.7
SEDİR	VD-1	55.75	31.5	8.9	5.7	V-1	50.05	44.75	49.8	44.35
	VD-2	55.4	20.2	6.45	3.25	V-2	53.05	50.1	57.05	59.7
	VD-3	49.45	15	6.05	2.05	V-3	54.35	41.8	52.5	53.95
	VD-4	51.95	14.95	4.15	0.9	V-4	50.7	41.25	53.02	52.05
	VD-5	58.65	39.15	26.35	12.55	V-5				
	VD-6	55.45	25.6	5.8	1.4	V-6	50.8	38.85	41.95	39.8
	VD-7	52.65	15.9	4	2.95	V-7	54.05	44.25	55.85	52.9
	VD-8	51.55	14.15	5.25	0.6	V-8	57.25	56.65	58.5	56.15



#### 4.4. Total RNA İzolasyonu

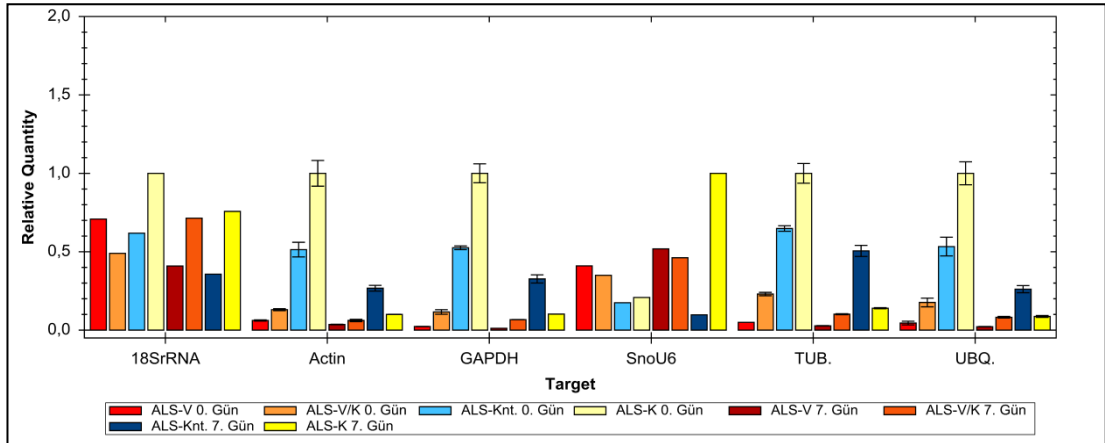
Total RNA izolasyonunun ardından elde edilen RNA'ların konsantrasyonları ve kaliteleri NanoDrop (Thermo, ABD) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Konsantrasyonları ve kaliteleri yeterli görülmeyen örneklerin total RNA izolasyonları tekrar edilmiştir. Çizelge 4.3'te bazı örneklere ait RNA'ların NanoDrop ölçüm sonuçları gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre bitkilerden elde edilen RNA'ların konsantrasyon ve kalite açısından real-time RT-PCR çalışmalarında kullanılmak üzere yeterli miktarda ve kalitede olduklarına karar verilmiştir.

Çizelge 4.3. Total RNA izolasyonu sonrası bazı örneklere ait konsantrasyon ve kalite değerleri

<b>Mekanik İnokülasyon (TSWV İnokülasyonu)</b>					
		<b>Alsancak</b>		<b>Sedir</b>	
<b>Uygulama</b>	<b>Günler</b>	<b>Konsantrasyon</b>	<b>Kalite (260/280)</b>	<b>Konsantrasyon</b>	<b>Kalite (260/280)</b>
Virüs	7. Gün	573.7 ng/µl	2.15	654.6 ng/µl	2.16
Yalancı İnokülasyon	7. Gün	526.5 ng/µl	2.15	399.1 ng/µl	2.16
Kontrol	7. Gün	476.8 ng/µl	2.16	433.2 ng/µl	2.16
Virüs	21. Gün	724.3 ng/µl	2.16	202.4 ng/µl	2.14
Yalancı İnokülasyon	21. Gün	783.5 ng/µl	2.13	457.8 ng/µl	2.17
Kontrol	21. Gün	337.9 ng/µl	2.15	483.7 ng/µl	2.17
<b>Kuraklık Stresi</b>					
		<b>Alsancak</b>		<b>Sedir</b>	
<b>Uygulama</b>	<b>Günler</b>	<b>Konsantrasyon</b>	<b>Kalite (260/280)</b>	<b>Konsantrasyon</b>	<b>Kalite (260/280)</b>
Kuraklık	0. Gün	351.4 ng/µl	2.19	64 ng/µl	2.04
Kontrol	0. Gün	605.9 ng/µl	2.16	367.3 ng/µl	2.15
Kuraklık	7. Gün	295.1 ng/µl	2.19	184.8 ng/µl	2.13
Kontrol	7. Gün	431.3 ng/µl	2.2	433.4 ng/µl	2.17
<b>TSWV/Kuraklık Uygulaması</b>					
		<b>Alsancak</b>		<b>Sedir</b>	
<b>Uygulama</b>	<b>Günler</b>	<b>Konsantrasyon</b>	<b>Kalite (260/280)</b>	<b>Konsantrasyon</b>	<b>Kalite (260/280)</b>
Virüs	0. Gün	825.3 ng/µl	2.18	563 ng/µl	2.15
Virüs/ Kuraklık	0. Gün	205 ng/µl	2.12	774.4 ng/µl	2.15
Virüs	7. Gün	696.6 ng/µl	2.17	108.1 ng/µl	2.13
Virüs/ Kuraklık	7. Gün	222.3 ng/µl	2.11	476.3 ng/µl	2.18

#### 4.5. Referans Genlerinin Seçimi

Yapılmış olan bu Yüksek Lisans Tezi kapsamında domateste, TSWV enfeksiyonu, kuraklık stresi ve TSWV ve kuraklık uygulamaları ile hem tekli stresler hem de çoklu stresler sırasında MYB TF'lerinin ve *miR159* geninin ekspresyon düzeylerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, domateste daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak real-time RT-PCR yönteminde kullanılmak üzere domateste stabil olarak ifade edilen ve ifadesi hiçbir uygulama sırasında değişiklik göstermeyen referans genler belirlenmiştir. Elde edilen bu bilgiler sonucunda *Actin*, gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenaz (*GAPDH*), *18SrRNA*, *SnoU6*, *Tubulin* ve *Ubiquitin* referans genlerinin bu tez çalışması kapsamında kullanılabileceği düşünülmüş ve bu referans genlerden hangisi ve/veya hangilerinin ifadesinin bu tez çalışması kapsamında uygulanan stresler sırasında en az değişiklik gösterdiğini belirlemek amacıyla bir ön çalışma yapılmıştır. Yapılan bu ön çalışma sırasında; Alsancak domates çeşidinin TSWVinokülasyonu, TSWV inokülasyonu ve kuraklık stresi uygulaması, sadece kuraklık stresi uygulaması yapılan ve herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol bitkilerinin 0. ve 7. günlerine ait dokularından elde edilen RNA'lar kullanılarak referans genlerin ekspresyonları incelenmiştir (Şekil 4.5).



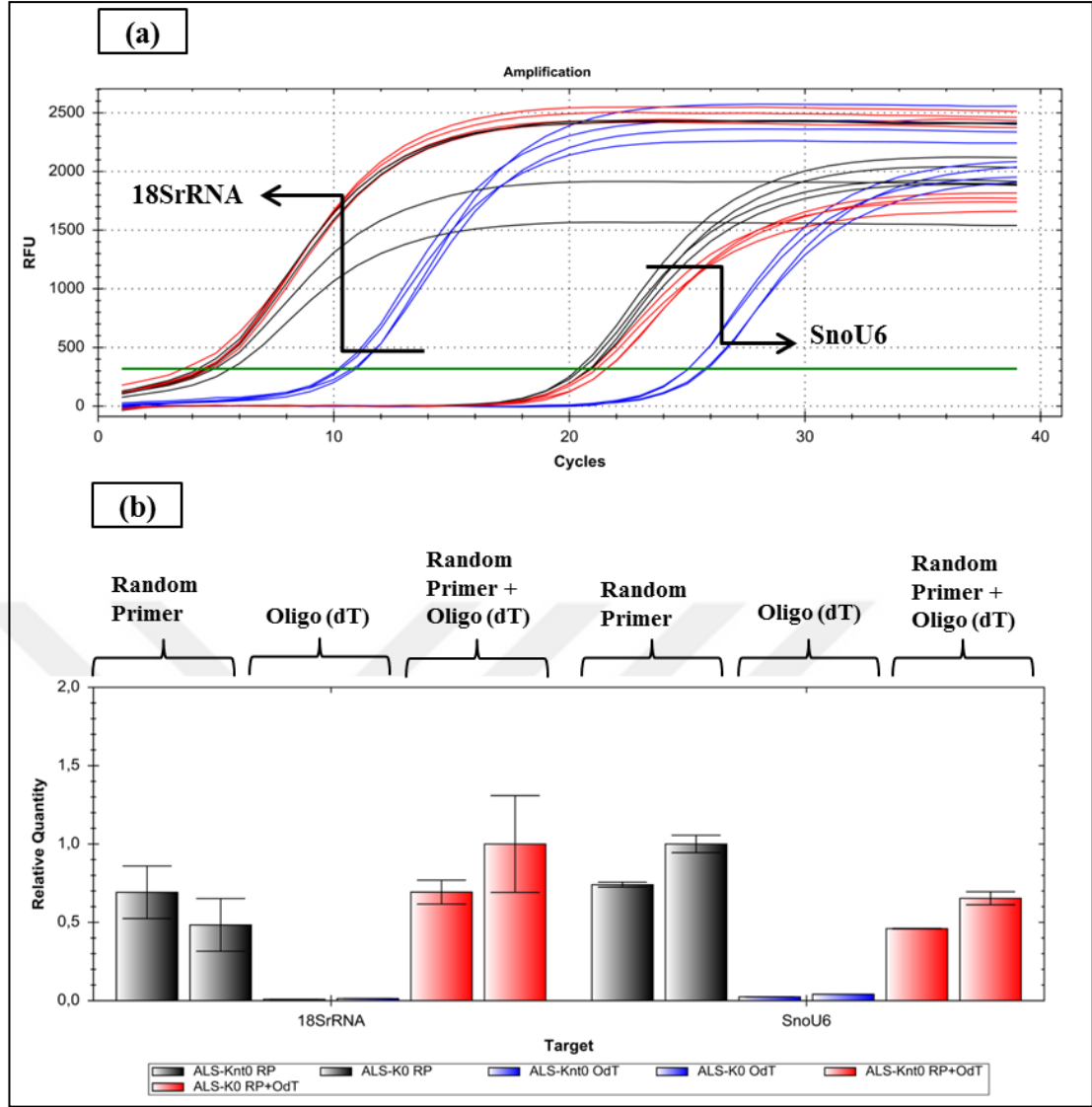
Şekil 4.5. Alsancak domates çeşidine uygulanan stresler sırasında *18SrRNA*, *Actin*, *GAPDH*, *SnoU6*, *Tubulin* ve *Ubiquitin* referans genlerinin ekspresyon analizleri

Referans gen ve/veya genlerin belirlenmesi için yapılan bu ön çalışma sonucunda *18SrRNA* geninin ifadesinin farklı uygulamalar sırasında ve farklı zamanlarda diğer genlerle karşılaştırıldığında daha stabil olduğu belirlenmiştir. *Actin*, *GAPDH*, *Tubulin* ve *Ubiquitin* genlerinin ekspresyon seviyeleri ise farklı uygulamalar ve farklı

zamanlara göre farklılıklar gösterdikleri ve bu referans genleri kendi aralarında farklı zamanlara ve uygulamalara göre karşılaştırıldığında ise incelenen 8 farklı örnekte birbirlerine göre hemen hemen eşit düzeyde ifade edildikleri tespit edilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda *18SrRNA* geninin domates MYB genlerinin ekspresyonunda referans gen olarak kullanılmasına karar verilmiştir. *SnoU6* geni ise yine daha önceki çalışmalar dikkate alınarak bu tez çalışması kapsamında *Sly-miR159* ekspresyonunun belirlenmesinde referans gen olarak seçilmesine karar verilmiştir.

#### **4.6. cDNA Sentezi ve Real-Time PCR**

cDNA sentezi sırasında çalışmanın amacına uygun olarak 3 farklı primer kullanılmıştır. Gen spesifik primerler ile ekspresyon seviyesi belirlenecek genlere özgü hedef mRNA'dan cDNA'nın sentezi gerçekleştirilmiştir. Random primerler kullanılarak bir örnekte bulunan tam uzunluktaki ve/veya parçalanmış tüm mRNA'lar ve diğer RNA'ların tamamından cDNA sentezi yapılmıştır. Diğer bir primer grubu olan oligo(dT)'ler ise, poliA kuyruğu olan tüm A ve parçalanmamış mRNA'ların poliA kuyruğuna bağlanarak cDNA sentezinin gerçekleştirilmesi sağlanmıştır. Yaptığımız gen ekspresyonu çalışmasında *18SrRNA* geninin referans gen olarak seçilmesinden dolayı *18SrRNA* geninin cDNA sentezi aşamasında hangi primer grubunun kullanılacağına karar vermek için bir ön ekspresyon çalışması yapılmıştır. Bu kapsamda, Alsancak domates çeşidine ait kuraklık ve kontrol 0. gün örneklerinden elde edilen total RNA'lardan cDNA sentezi sadece random primer, sadece oligo (dT) ve random ve oligo (dT) primerleri birlikte kullanılarak ayrı ayrı olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA'lardan real-time RT-PCR yapılarak *18SrRNA* ve *SnoU6* referans genlerinin ekspresyonlarındaki değişimler belirlenmiştir (Şekil 4.6).



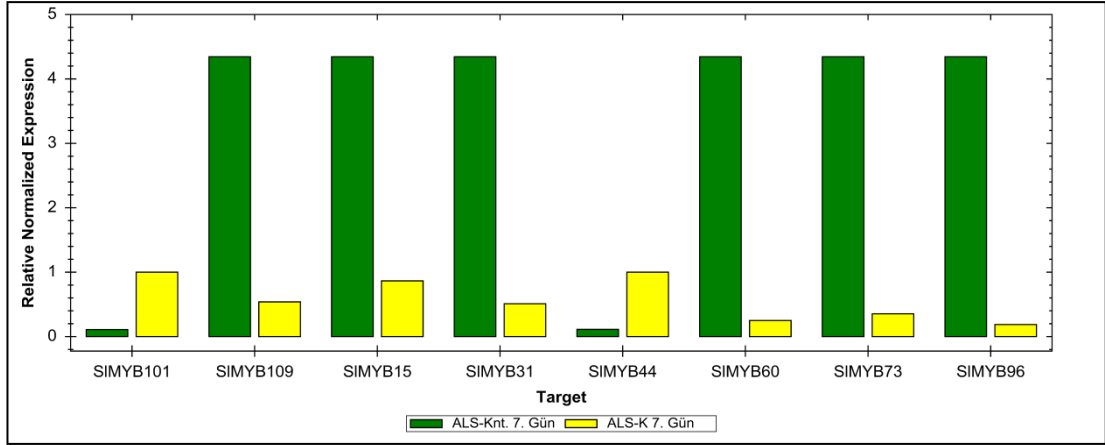
Şekil 4.6. Alsancak domates çeşidinin kuraklık stresi uygulanmış ve uygulanmamış 0. gün örneklerinin random primer, oligo (dT) primer ve random primer+oligo (dT) primeri kullanılarak elde edilen cDNA'larının amplifikasyon düzeyleri (a) ve elde edilen bu cDNA'ların *18SrRNA* ve *SnoU6* genlerinin ekspresyon seviyeleri üzerine olan etkisi (b)

Genlerin ekspresyon düzeylerine bakıldığında oligo (dT) primerleri ile sentezlenen cDNA'larda *18SrRNA* ve *SnoU6* referans genlerinin ekspresyonlarının çok düşük düzeylerde olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, random primer ile sentezlenen cDNA'lardan yapılan real-time RT-PCR analizlerinde, *18SrRNA* ve *SnoU6* referans genlerinin ekspresyon düzeylerinin yüksek olduğu ancak genlerin ekspresyon düzeylerinin kuraklık ve kontrol grupları arasında önemli farklılıklar gösterdiği gözlemlenmiştir. Random ve oligo (dT) primerlerinin her ikisinin birden kullanılmasıyla sentezlenen cDNA'lar ile yapılan analizlerde ise; *18SrRNA* ve *SnoU6* referans genlerinin ekspresyon seviyelerinin diğer primerlere göre daha yüksek

olduğu ve genlerin ekspresyon seviyelerinin kontrol ve kuraklık stresi gruplarına ait örneklerde de birbirlerine benzer sonuçlar gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.4). Böylece yapılan bu ön çalışmadan elde edilen bulgular doğrultusunda MYB gen ekspresyonları çalışmalarında kullanılacak olan cDNA sentezinde random ve oligo (dT) primerlerinin her ikisinin birlikte kullanılmasına karar verilmiştir. Ancak miRNA gen ekspresyon analizindeki farklılıktan dolayı *Sly-miR159* geninin gen ekspresyon seviyesinin belirlenmesi için cDNA sentezinde gen spesifik miR159 RT primeri kullanılmıştır.

#### **4.7. Gen Ekspresyonu Düzeyleri Belirlenecek MYB Genlerinin Seçimi**

TSWV-inokülasyonu, kuraklık stresi ve TSWV ve kuraklık uygulamaları sırasında domatesta *SIMYB15*, *SIMYB31*, *SIMYB44*, *SIMYB60*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* ve *SIMYB109* genlerinin ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için bir ön çalışma yapılmıştır. Bu amaçla, Alsancak domates çeşidine ait kuraklık stresi uygulanmış ve kontrol örneklerinin 7. gününde elde edilen RNA'lar kullanılarak 8 MYB geninin ekspresyon düzeyindeki değişimler real-time RT-PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Yapılan ön çalışmada elde edilen gen ekspresyon bilgileri Şekil 4.7'de verilmiştir. Yapılan ekspresyon analizleri sonucunda *SIMYB101* ve *SIMYB44* genlerinin ekspresyonları 7 günlük kuraklık stresine tepki olarak artarken diğer genlerin ekspresyonlarının kuraklık stresiyile baskılandığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* genleri seçilerek bu genlerin ifadelerindeki değişimlerin iki farklı domates çeşidinde TSWV, kuraklık ve TSWV/kuraklık stresi uygulamaları sırasındaki değişimlerinin incelenmesine karar verilmiştir.



Şekil 4.7. Alsancak domates çeşidine ait kuraklık stresi uygulanmış ve uygulanmamış 7. gün örneklerinde *SIMYB101*, *SIMYB109*, *SIMYB15*, *SIMYB31*, *SIMYB60*, *SIMYB73* ve *SIMYB96* genlerinin ekspresyonlarının analizi

Tez çalışması kapsamında kullanılan referans genlerin ve gen ekspresyon seviyeleri belirlenen *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101*, *Sly-miR159* genlerinin primer kodları ile primer dizilimleri Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Gen ekspresyonunun belirlenmesinde kullanılan referans genler ve ekspresyon seviyeleri belirlenen *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101*, *Sly-miR159* genlerinin primer kodu ve primer dizileri

Gen İsmi	Primer Kodu	Primer Dizisi
<b>18SrRNA<sup>1</sup></b>	MSC 239 - F (Forward)	5'-GAGCCTGAGAAACGGCTACC-3'
	MSC 240 - R (Reverse)	5'-GTCACCTACCTCCCCGTGTCA-3'
<i>SIMYB44</i>	MSC 363 - F (Forward)	5'-CGTCAATCAAGTTGATGATG-3'
	MSC 364 - R (Reverse)	5'-AGCTCCAACCAGAAATCCAC-3'
<i>SIMYB73</i>	MSC 373 - F (Forward)	5'-AACAACAACAACCGCAGCAG-3'
	MSC 374 - R (Reverse)	5'-GCTTAGTCCCATTTCGATTAG-3'
<i>SIMYB96</i>	MSC 367 - F (Forward)	5'-CAAACAACAACCTCCTGAGGC-3'
	MSC 368 - R (Reverse)	5'-GATATCAAGGTAGTCAAGTC-3'
<i>SIMYB101</i>	MSC 375 - F (Forward)	5'-GGTGAAGATTCTTCCAAGTC-3'
	MSC 376 - R (Reverse)	5'-GCCTTCCAATTTACTCTAAC-3'
<b>SnoU6<sup>1</sup></b>	BC 566 - F (Forward)	5'-GGACATCCGATAAAAATTGG-3'
	BC 567 - R (Reverse)	5'-GATTTGTGCGTGTGCATCCT-3'
<i>Sly-miR159</i>	BC 458 - F (Forward)	5'-CGTGCGTTTGGATTGAAGG-3'
	BC 459 - R (Reverse)	5'-TCCCGACCACCACAGCC-3'

<sup>1</sup> Koyu olarak yazılan ifadeler referans genleri temsil etmektedir

#### 4.8. *SIMYB44* Geninin Ekspresyon Analizleri

Daha önce yapılan çalışmalar sonucunda *MYB44* geninin başta biyotik stres etmenlerine karşı tepki olmak üzere bitkilerde çeşitli biyolojik süreçler sırasında rol aldığı belirlenmiştir. Bu nedenle yapılan bu tez çalışmasında, *SIMYB44* genin TSWV'ye duyarlı Alsancak ve dayanıklı Sedir domates çeşitlerinde TSWV enfeksiyonu, kuraklık ve her ikisinin birlikte uygulandığı (TSWV ve kuraklık) bitkilerden elde edilen RNA'lar kullanılarak ekspresyon analizleri yapılmıştır. Alsancak ve Sedir domates çeşitlerine ait örneklerde TSWV inokülasyonundan 7, 14 ve 21 gün sonra, yalnızca 7 günlük kuraklık stresi uygulamasının 0., 3., 5. ve 7. günlerinde ve TSWV/kuraklık denemesinin 0., 3., 5. ve 7. günlerinde *SIMYB44* geninin ekspresyon analizlerinde elde edilen sonuçlar Şekil 4.8'de gösterilmektedir.

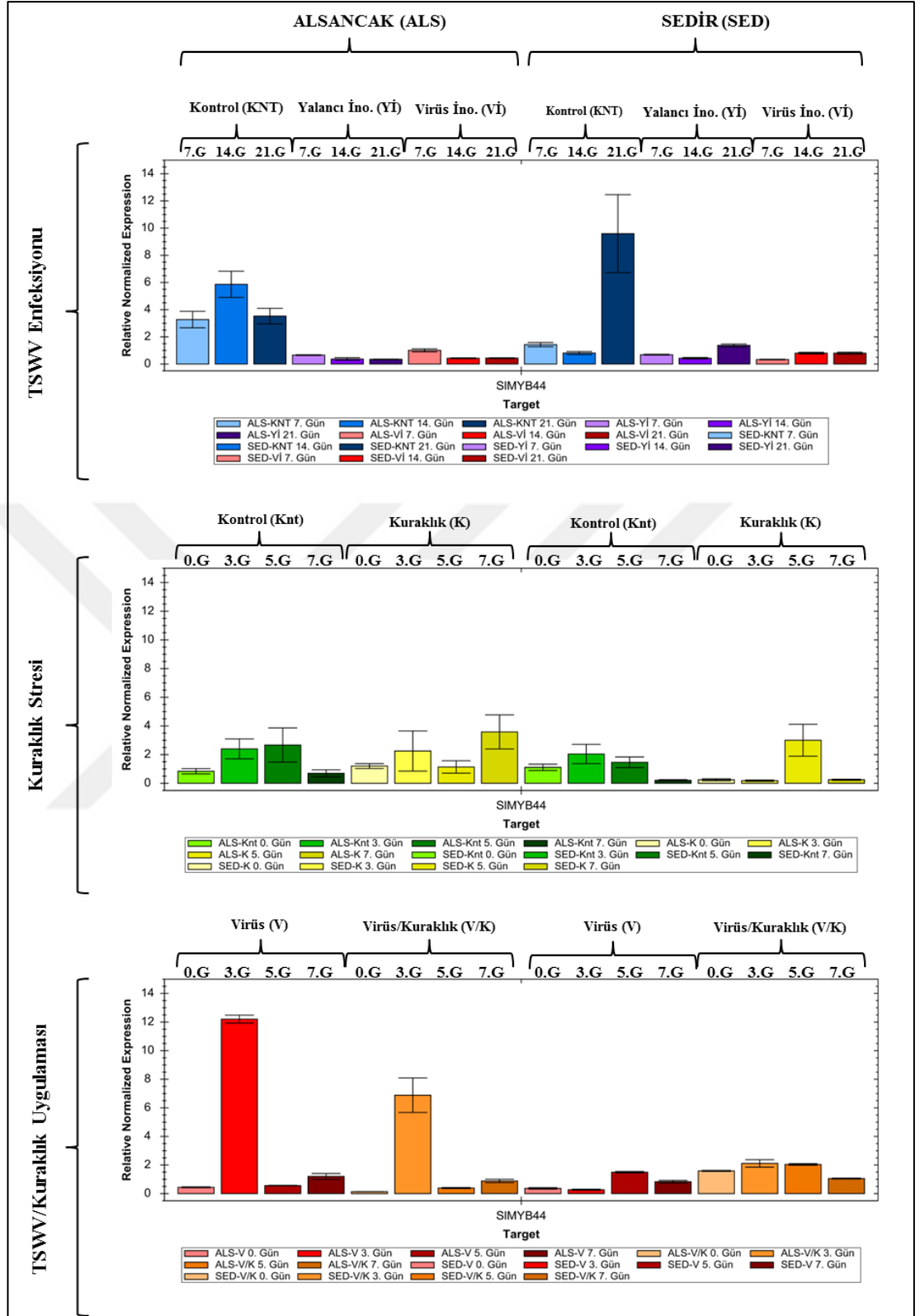
*SIMYB44* geninin virüs inokülasyonuna tepkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizleri sonucunda bu genin ekspresyonunun virüse duyarlı Alsancak domates çeşidinin kontrol bitkilerinde yüksek olmasına rağmen gerek yabancı inokülasyon gerekse TSWV enfeksiyonu yapılan bitkilerde enfeksiyon süresince baskılandığı belirlenmiştir. Buna karşın TSWV'ye dayanıklı Sedir çeşidinde ise *SIMYB44* geninin ekspresyonunun kontrol bitkilerinin sadece 21. gününde yüksek olduğu ancak gerek kontrol gerekse TSWV ve yabancı inokülasyon yapılan bitkilerde 21 günlük sürede genin ekspresyonda önemli düzeyde bir değişiklik belirlenmemiştir (Şekil 4.8).

Kuraklık stresinin gen ekspresyonu üzerine etkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizi sonucunda ise Alsancak domates çeşidinde *SIMYB44* geninin ekspresyonunun 0., 3. ve 5. günlerinde kuraklık uygulanan ve uygulanmayan bitkilerde aynı düzeyde olduğu ancak 7. günde kuraklık uygulanan bitkilerde bu genin ifadesinin kontrole göre önemli oranda (yaklaşık 4 kat) arttığı belirlenmiştir. Buna karşın Sedir domates çeşidinin kuraklık uygulanmayan bitkilerinde 0., 3. ve 5. günlerde *SIMYB44* geninin ekspresyonunun belirli bir düzeyde olduğu ancak 7. günde ekspresyonun azaldığı belirlenmiştir. Buna karşın kuraklık uygulanan Sedir bitkilerinde *SIMYB44* geninin ekspresyonunun kuraklık stresinin 0. ve 3. günlerde minimum düzeyde olduğu ancak kuraklığın 5. gününde ekspresyonun diğer

zamanlara ve kontrol bitkilerine göre önemli ölçüde (yaklaşık 2-4 kat) arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.8).

TSWV enfeksiyonu ve kuraklık stresinin *SIMYB44* geninin ekspresyonu üzerine ortak etkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizi sonucunda ise bu genin ekspresyonunun sadece TSWV enfeksiyonu yapılan duyarlı Alsancak domates çeşidinde 3. günde yaklaşık 12 kat virüs inokülasyonu ve kuraklık uygulanan bitkilerde ise aynı günde 6 kat arttığı belirlenmiş diğer zamanlarda herhangi bir değişiklik görülmemiştir. Buna karşın TSWV'ye dayanıklı Sedir domates çeşidinde *SIMYB44* geninin ekspresyon düzeyinde önemli derecede bir uyarılma veya baskılanma görülmezken kuraklık ve TSWV enfeksiyonunun birlikte uygulandığı bitkilerde gen ekspresyonunun sadece TSWV enfeksiyonu yapılan bitkilere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8).





Şekil 4.8. *SIMYB44* geninin AlsancaK ve Sedir domates çeşitlerinde Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık stresi uygulaması sırasında ekspresyon analizi

#### 4.9. *SIMYB73* Geninin Ekspresyon Analizleri

Daha önce farklı bitkilerde yapılan çalışmalarda *MYB73* geninin hem biyotik hem de abiyotik stres etmenlerine karşı tepkide rol alabileceğine dair bulgular elde edilmiştir. Bu nedenle de bu tez çalışması kapsamında da, *SIMYB73* geninin TSWV'ye duyarlı Alsancak ve dayanıklı Sedir domates çeşitlerinde TSWV inokülasyonundan sonraki 7., 14. ve 21. günlerinde, yalnızca kuraklık stresinin uygulandığı 0., 3., 5. ve 7. günlerinde ve TSWV ve kuraklık streslerinin her ikisinin birlikte uygulandığı bitkilerde TSWV inokülasyonundan 21 gün sonra uygulanan kuraklık stresinin 0., 3., 5. ve 7. günlerinde ekspresyon analizleri araştırılmış ve bu araştırmaya ait sonuçlar Şekil 4.9'da gösterilmektedir.

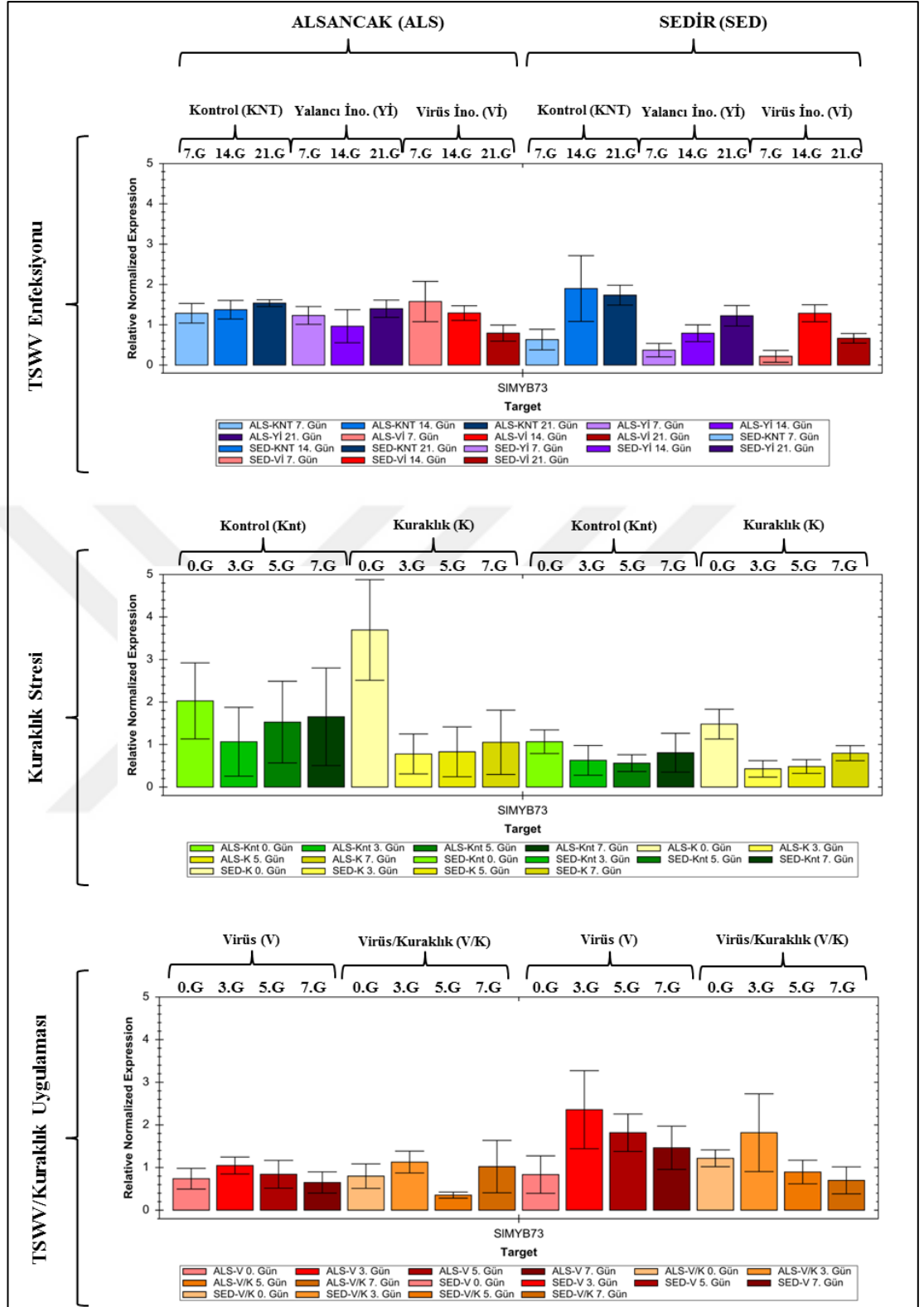
*SIMYB73* geninin virüs inokülasyonuna tepkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizinin sonuçları incelendiğinde virüse duyarlı Alsancak domates çeşidinde bu genin kontrol ve yalancı inokülasyonu yapılan bitkilerde inokülasyonun 7., 14. ve 21. günlerinde belirli düzeyde ifade edildiği gözlemlenirken TSWV inokülasyonu yapılan bitkilerde inokülasyonun 14. gününde azalmaya başlamış ve bu azalma 21. günde de devam etmiştir. TSWV'ne dayanıklı Sedir çeşidinde ise *SIMYB73* geninin ifadesi kontrol ve yalancı inokülasyonu yapılan bitkilerde 14. ve 21. günlerinde, bu bitkilerin 7. günlerindeki ifadelerine göre artışlar belirlenmiştir. *SIMYB73* geninin ifadesi TSWV inokülasyonu yapılan bitkilerde de 14. günde artış göstermiştir. Ancak bu artış bu bitkilerde 21. günde biraz azalma göstermiştir..

Kuraklık stresinin gen ifadesi üzerine etkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizi sonuçları incelendiğinde ise *SIMYB73* geninin ifadesinin her iki domates çeşidinde de kuraklık stresinin 3. gününden itibaren azalma gösterdiği ve bu azalmaların kuraklık stresinin ilerleyen aşamalarında da devam ettiği belirlenmiştir. Ancak bu azalma Alsancak domates çeşidinde daha belirgin bir şekilde gerçekleşmiş ve kuraklık stresi uygulanan Alsancak domates çeşidinde kuraklığın 3., 5. ve 7. günlerinde genin ekspresyonu kuraklık stresinin 0. gününe göre yaklaşık olarak 3 kat oranında azalma göstermiştir (Şekil 4.9).

TSWV enfeksiyonu ve kuraklık stresinin *SIMYB73* geninin ekspresyonu üzerine yapılan analizler sonucunda her iki domates çeşidinin kontrol ve virüs kuraklık stresi

uygulanan bitkilerinde kuraklık stresinin 3. günden itibaren artış görülmüştür. Ancak bu artış Sedir domates çeşidinde Alsancak domates çeşidine göre daha fazla düzeyde gerçekleşmiştir. Kuraklık stresinin 3. günden itibaren her iki domates çeşidinin kontrol ve virüs kuraklık stresi uygulanan bitkilerinde *SIMYB73* geninin ekspresyonunda kuraklık stresi boyunca azalmalar belirlenmiştir (Şekil 4.9).





Şekil 4.9. *SIMYB73* geninin Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık stresi uygulamaları sırasında ekspresyonlarının analizi

#### 4.10. *SIMYB96* Geninin Ekspresyon Analizi

Daha önce farklı bitkilerde yapılan çalışmalarda *MYB96* geninin ekspresyonunun biyotik ve /veya abiyotik stres uygulamaları sırasında değiştiği ve bu nedenle de bu genin bitkilerde biyotik ve abiyotik streslere tepki mekanizmalarında rol alabileceği düşünülmüştür. Yapılmış olan bu tez çalışması kapsamında da *MYB* genleri arasından *SIMYB96* geni seçilerek, TSWV'ye duyarlı Alsancak ve dayanıklı Sedir domates çeşitlerinde TSWV enfeksiyonu, kuraklık ve her iki stresinde birlikte uygulandığı (TSWV/Kuraklık) bitkilerde *SIMYB96* geninin ekspresyonu incelenmiştir.

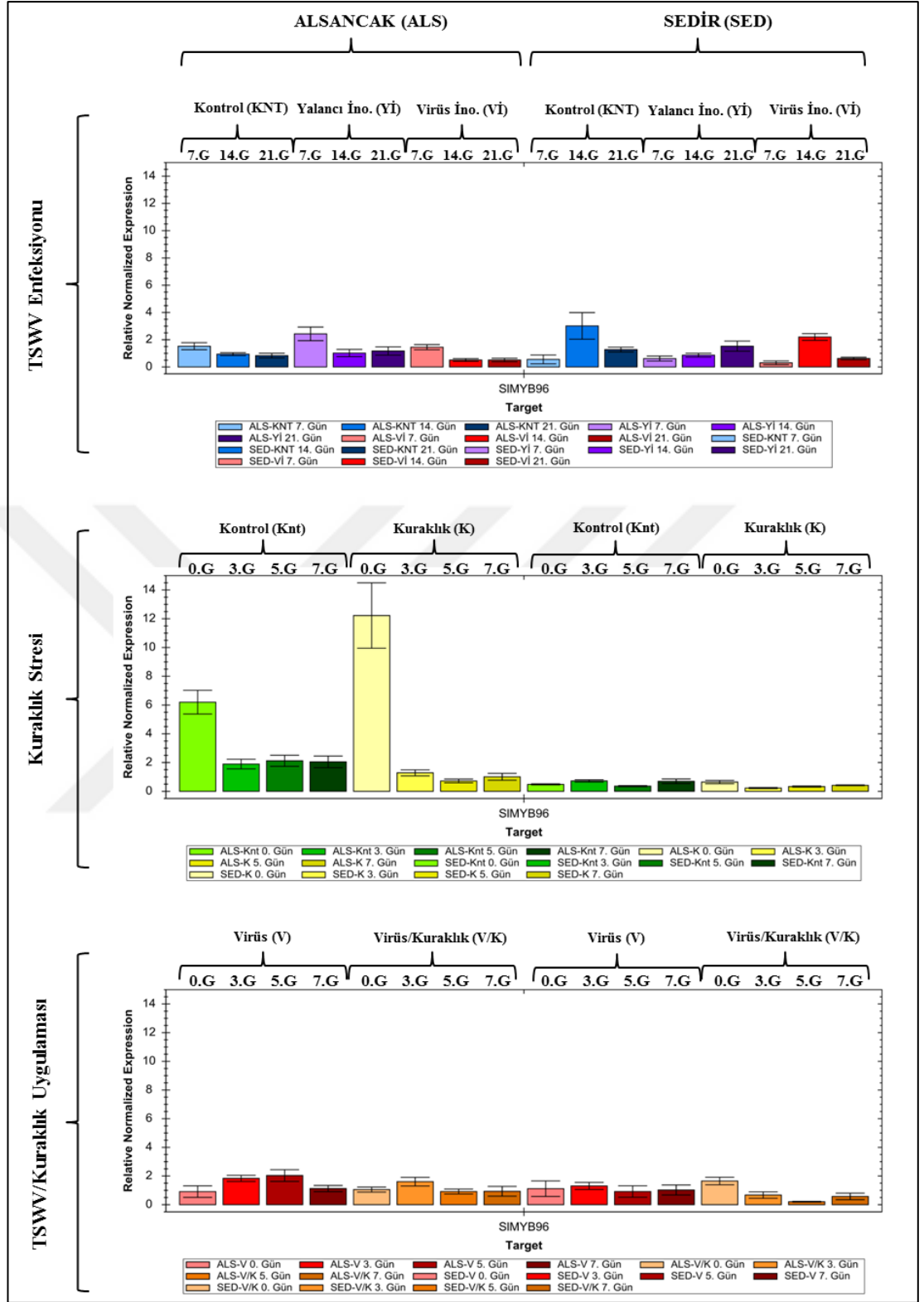
*SIMYB96* geninin virüs inokülasyonuna tepkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizinin sonuçları incelendiğinde virüse duyarlı Alsancak domates çeşidinin kontrol, yalancı inokülasyon ve TSWV inokülasyonu yapılan bitkilerinin hepsinde genin ekspresyonunda 14. günden itibaren azalmalar belirlenmiştir. Bu genin ekspresyonu TSWV'ye dayanıklı Sedir domates çeşidinde ise kontrol, yalancı inokülasyon ve TSWV inokülasyonu yapılan bitkilerin hepsinde 7. gününde artışlar gözlemlenmiştir. Ancak bu artışlar en fazla olarak kontrol grubunda belirlenmiştir. Virüs uygulamasının 21. gününde ise Sedir domates çeşidinde 7. gününde kaydedilen bu artışlar her üç grupta da 21. günde azalma göstermiştir (Şekil 4.10).

Kuraklık stresinin Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde *SIMYB96* geninin ifadesinin araştırıldığı sonuçlar incelendiğinde Alsancak domates çeşidinin Kontrol ve stres gruplarının 0. günlerinde *SIMYB96* geninin ifadesinin fazla olmasına rağmen ilerleyen günlerde hem kontrol hem stres grubunda azalmalar gözlemlenmiştir. Bu azalmalar Alsancak domates çeşidinin kuraklık stresi uygulanan bitkilerinde daha belirgin düzeyde gerçekleşmiştir. Sedir domates çeşidinde ise, kontrol ve kuraklık stresi uygulanan bitkilerinde *SIMYB96* geninin ekspresyonunun da herhangi bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Şekil 4.10).

TSWV enfeksiyonu ve kuraklık stresinin *SIMYB96* geninin ekspresyonu üzerine ortak etkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizleri sonucunda ise, TSWV'ye duyarlı Alsancak domates çeşidinde *SIMYB96* geninin aktivitesi sadece TSWV enfeksiyonunun yapıldığı kontrol bitkilerinde ve TSWV/kuraklık stresi

uygulanan bitki gruplarında *SIMYB96* geninin ifadesinde artışlar gözlemlenmiş ve hatta bu artışlar kontrol grubunu oluşturan TSWV enfekteli bitki gruplarında daha fazla olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.11). TSWV enfeksiyonuna dayanıklı Sedir domates çeşidinde kontrol grubunu oluşturan bitki grubunda *SIMYB96* geninin ekspresyonunda herhangi bir değişiklik gözlemlenmezken, stres grubunu oluşturan TSWV ve kuraklık stresinin birlikte uygulandığı bitki grubunda kuraklık stresi boyunca azalmalar gözlemlenmiş ve bu azalma en fazla olarak kuraklık stresinin 5. gününde gözlemlenmiştir.





Şekil 4.10. *SIMYB96* geninin Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık uygulaması sırasında ekspresyon analizi

#### 4.11. *SIMYB101* Geninin Ekspresyon Analizleri

Daha önce yapılan çalışmalar sonucunda *MYB101* geninin başta biyotik stres etmenlerine karşı tepki olmak üzere bitkilerde çeşitli biyolojik süreçlerde rol aldığı belirlenmiştir. Bu nedenle yapılan bu tez çalışması kapsamında da *SIMYB101* geninin TSWV'ye duyarlı Alsancak ve dayanıklı Sedir domates çeşitlerinde TSWV enfeksiyonu, kuraklık ve her ikisinin birlikte uygulandığı (TSWV/Kuraklık) bitkilerde ekspresyon analizleri yapılmıştır. TSWV inokülasyonundan 7, 14 ve 21 gün sonra ve 7 günlük kuraklık uygulaması sürenince yapılan *SIMYB101* geninin ekspresyon analizlerinde elde edilen sonuçlar Şekil 4.11'de gösterilmektedir.

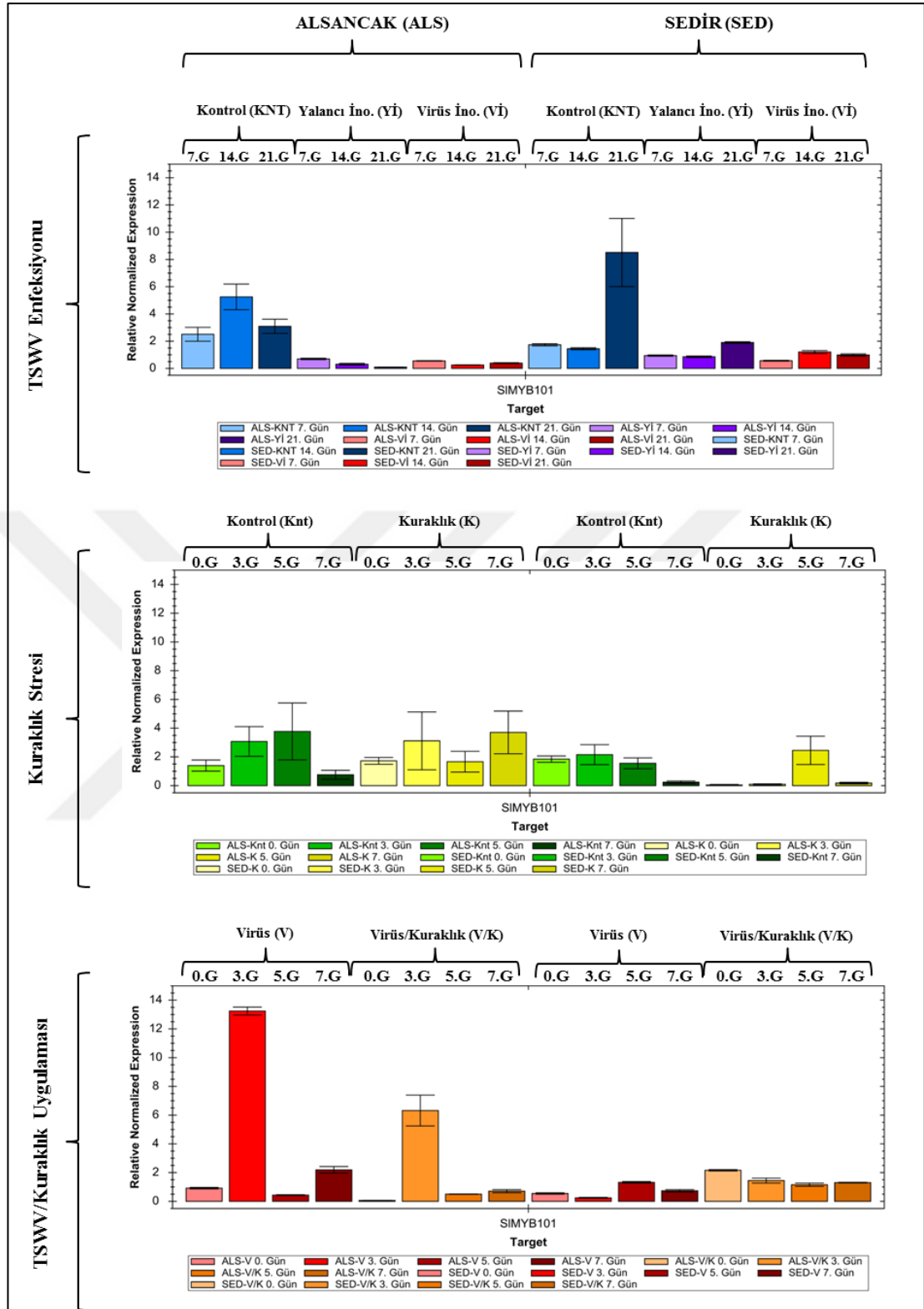
*SIMYB101* geninin virüs inokülasyonuna tepkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizi sonucunda bu genin ekspresyonunun virüse duyarlı Alsancak domates çeşidinin kontrol bitkilerinde yüksek olmasına rağmen gerek yalancı inokülasyon gerekse TSWV enfeksiyonu yapılan bitkilerde enfeksiyon süresince baskılandığı belirlenmiştir. Buna karşın TSWV'ye dayanıklı Sedir domates çeşidinde ise *SIMYB101* geninin ekspresyonu kontrol bitkilerinin sadece 21. gününde yüksek düzeyde bir ekspresyon belirlenmiş; yalancı ve virüs inokülasyonu yapılan bitki gruplarında ise 21. günde ekspresyonda çok az düzeyde bir artış belirlenmiştir (Şekil 4.11).

Kuraklık stresinin gen ekspresyonu üzerine etkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizi sonucunda Alsancak domates çeşidinde *SIMYB101* geninin ekspresyonunun kuraklık stresi uygulamasının 3. gününde hem kontrol hem de stres grubunu oluşturan bitki grubunda artışlar belirlenmiştir. Kuraklık stresinin ilerleyen aşamalarında ise belli düzeylerde ifade edilen artışlar ve azalışlar gözlemlenmiştir (Şekil 4.11). Buna karşın Sedir domates çeşidinin kuraklık stresi uygulanmayan bitkilerinde 0., 3. ve 5. günlerinde *SIMYB101* geninin ekspresyonunun belirli bir düzeyde olduğu ancak 7. günde ekspresyonun azaldığı belirlenmiştir. Buna karşın Sedir domates çeşidinin kontrol grubuna ait bitkilerinde kuraklık stresinin 7. gününde belirgin düzeyde bir azalma gözlemlenmiştir. Buna karşın stres grubunu oluşturan bitkilerde *SIMYB101* geninin ekspresyon düzeyinde kuraklık stresinin sadece 5. gününde belirgin bir şekilde bir artışın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11).



TSWV enfeksiyonu ve kuraklık stresinin *SIMYB101* geninin ekspresyonu üzerine ortak etkisinin belirlenmesi için yapılan ekspresyon analizi sonucunda ise *SIMYB101* geninin ekspresyonun TSWV enfeksiyonu yapılan TSWV'ye duyarlı Alsancak domates çeşidinin kontrol grubunun 3. gününde yaklaşık olarak 12 kat artış belirlenmiştir. Aynı günde stres grubunu oluşturan bitkilerde ise 6 kat olarak belirlenmiştir (Şekil 4.11). Buna karşın TSWV'ye dayanıklı Sedir domates çeşidinin kontrol ve stres grubunu oluşturan bitki gruplarında *SIMYB101* geninin ekspresyon düzeyinde önemli bir değişiklik gözlemlenmemiştir (Şekil 4.11).



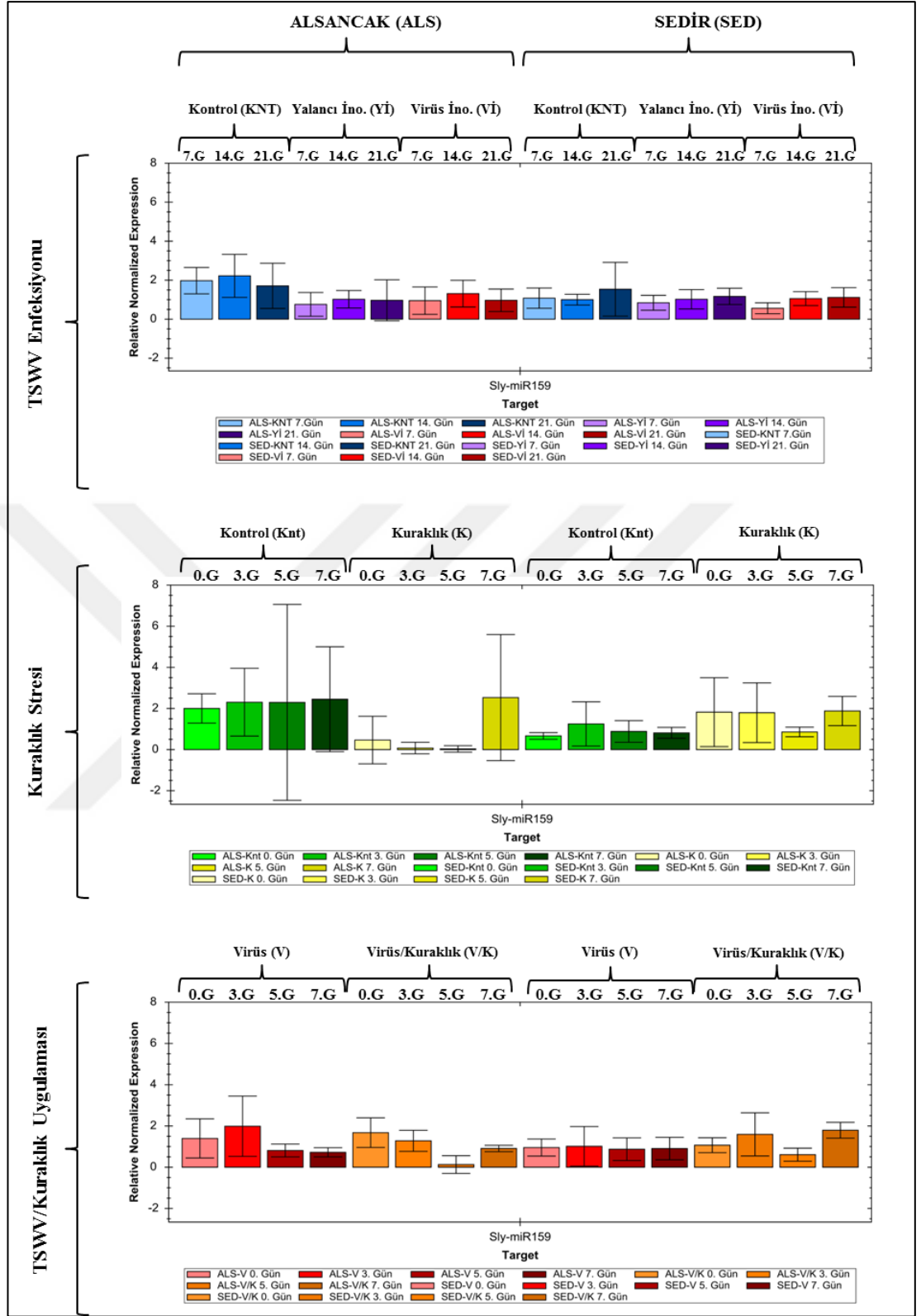


Şekil 4.11. *SIMYB101* genin Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık uygulaması sırasında ekspresyon analizi

#### 4.12. *Sly-miR159* Geninin Biyotik ve Abiyotik Stresler Sırasında Ekspresyon Analizlerinin Karşılaştırılması

Bitkilerde abiyotik ve biyotik stres etmenlerine karşı bitki yanıtının moleküler düzenlemesinde rol oynayan *miR159* geninin Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinde sırasıyla 21 günlük TSWV enfeksiyonu, 7 günlük kuraklık stresi ve 7 günlük TSWV/kuraklık uygulaması sırasındaki ekspresyon düzeyindeki değişimleri Şekil 4.12'de gösterilmektedir. Yapılan analizler sonucunda hem Alsancak hem de Sedir domates çeşitlerine ait bitkilerin TSWV enfeksiyonu, kuraklık stresi ve TSWV/kuraklık uygulamaları sırasında *Sly-miR159* geninin ekspresyon düzeyinde önemli bir değişiklik tespit edilememiştir.



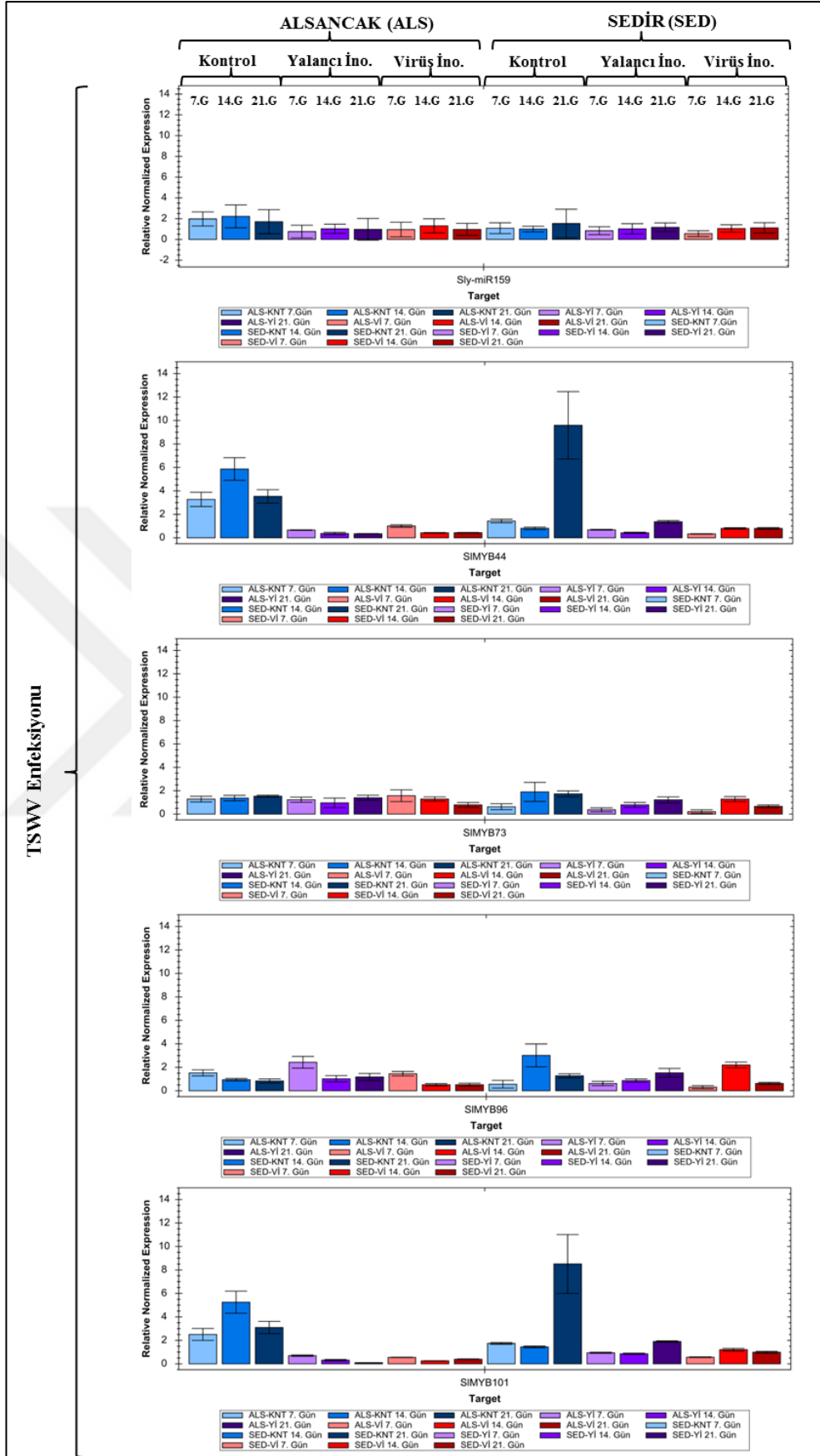


Şekil 4.12. Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu, kuraklık stresi ve Domates lekeli solgunluk virüsü/kuraklık uygulaması yapılmış olan ve kontrol grubu bitkilerinde *Sly-miR59* genin ekspresyon analizi

#### **4.13. *Sly-miR159* ve *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* Genlerinin TSWV Enfeksiyonu Sırasındaki Ekspresyonlarının Karşılaştırılması**

Bu tez çalışması kapsamında, Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinden elde edilen verilerde 21 gün boyunca uygulanan TSWV enfeksiyonu sırasında ekspresyon seviyeleri belirlenen *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* genlerinin *Sly-miR159* tarafından hedeflenmediği belirlenmiştir (Şekil 4.13).





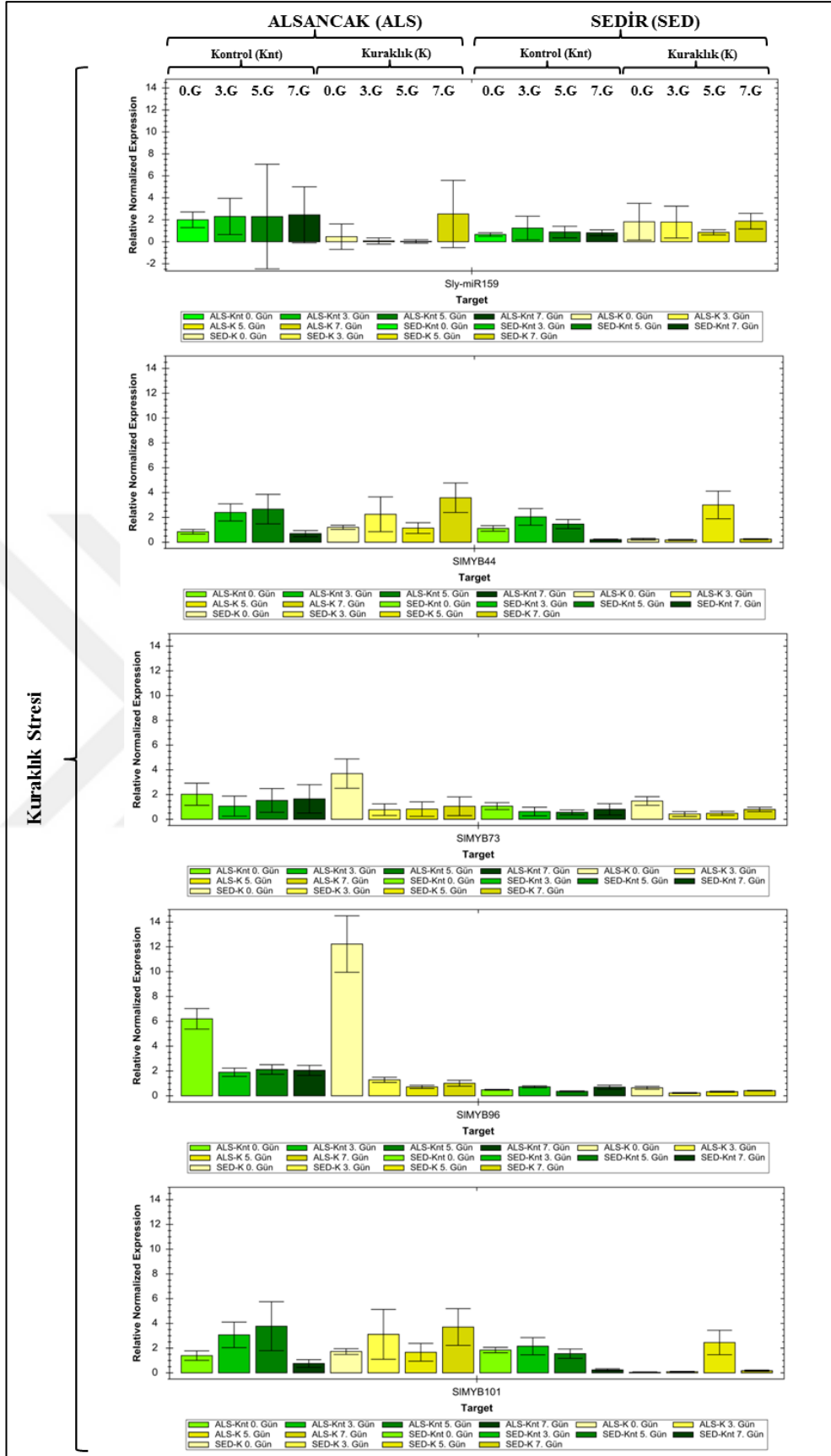
TSWV Enfeksiyonu

Şekil 4.13. Domates lekeli solgunluk virüsü enfeksiyonu sırasında *Sly-miR159*, *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96* ve *SIMYB101* genlerinin ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

#### **4.14. *Sly-miR159* ve *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* Genlerinin Kuraklık Stresi Srasındaki Ekspresyonlarının Karşılaştırılması**

Bu tez çalışması kapsamında, Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinden elde edilen verilerde 7 gün boyunca uygulanan kuraklık stresi sırasında ekspresyon seviyeleri belirlenen *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* genlerinin *Sly-miR159* tarafından hedeflenmediği belirlenmiştir (Şekil 4.14).





Kuraklık Stresi

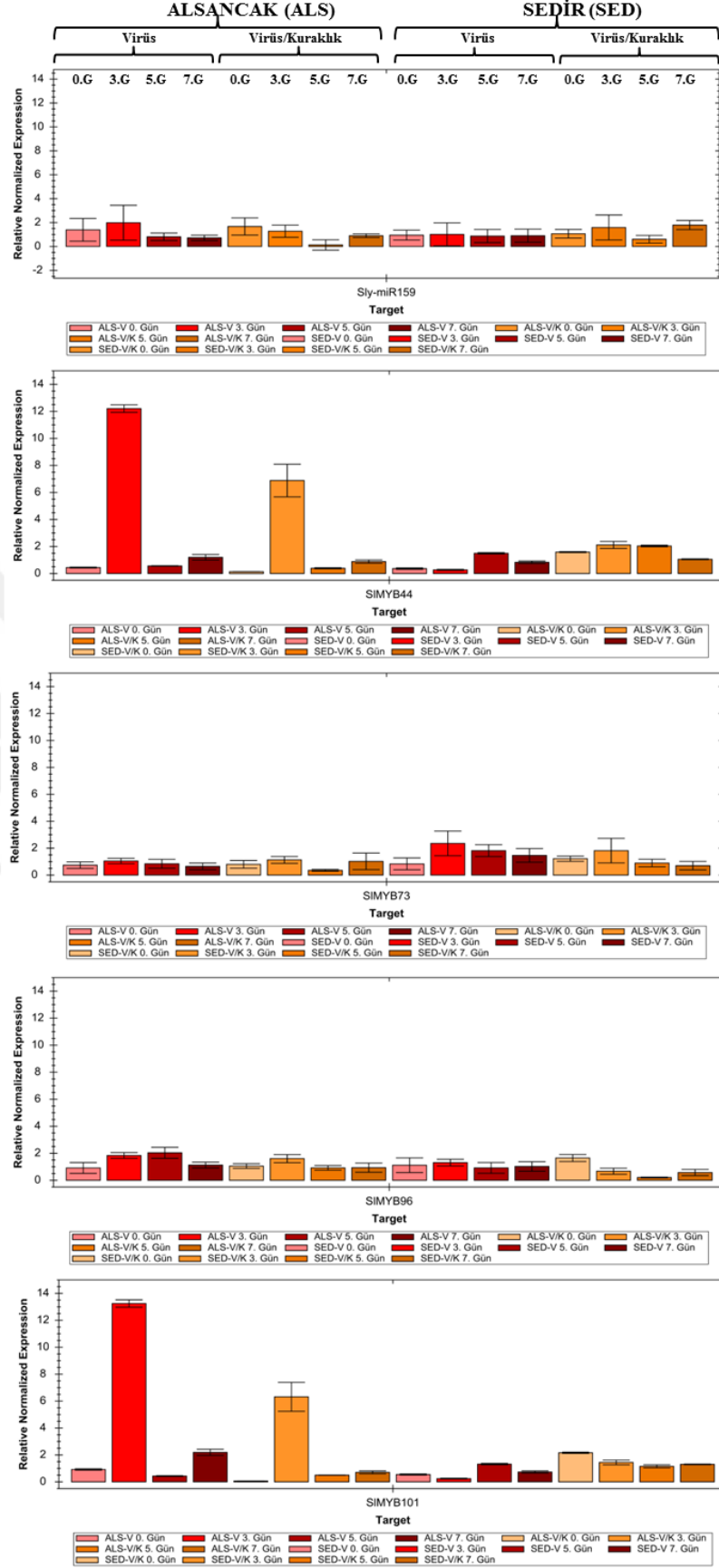
Şekil 4.14. Kuraklık stresi sırasında *Sly-miR159*, *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96* ve *SIMYB101* genlerinin ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması



#### **4.15. *Sly-miR159* ve *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* Genlerinin TSWV/Kuraklık Uygulaması Sırasındaki Ekspresyonlarının Karşılaştırılması**

Tez çalışması kapsamında, Alsancak ve Sedir domates çeşitlerinden elde edilen verilerde 7 gün boyunca uygulanan sırasında ekspresyon seviyeleri belirlenen *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96*, *SIMYB101* genlerinin *Sly-miR159* tarafından hedeflenmediği belirlenmiştir (Şekil 4.15).





Şekil 4.15. Domates lekeli solgunluk virüsü/Kuraklık uygulaması sırasında *Sly-miR159*, *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96* ve *SIMYB101* genlerinin ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılması

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkiler, yaşam döngüleri boyunca büyüme ve gelişmeyi etkileyen çeşitli çevresel stresler ile sürekli ya da belirli aralıklarla karşı karşıya kalmaktadırlar. Son yıllarda, tarımsal üretimi olumsuz olarak etkileyen çevresel stres etmenlerinin sayısında ve etki sürelerinin artışında küresel ısınma, insan nüfusunda meydana gelen sürekli artışlar, sanayileşme, çevresel kirlilik vb. gibi faktörler önemli rol oynamaktadır. Dünya genelinde meydana gelen sıcaklık artışları küresel ısınma olarak ifade edilirken, bu duruma bağlı olarak hava durumu, yağış, nem, soğuk, kuraklık gibi çeşitli iklim unsurlarının değişmesi küresel iklim değişikliği olarak tanımlanmaktadır (Bayraç ve Doğan, 2016). Küresel ısınma ve buna bağlı olarak gelişen küresel iklim değişiklikleri nedeniyle ülkemizde ve dünyada tarımsal üretimde önemli düzeyde verim kayıplarına neden olan kuraklık stresi etkisini son yıllarda giderek arttırmaktadır. Ülkemizin güneyinde bir çöl kuşağının bulunması küresel ısınmayla birlikte kuraklık stresinin etki derecesinin artmasına ve ülke genelinde bir çöl ikliminin yaşanmasına neden olmaktadır (Kanat ve Keskin, 2018). Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli (Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC)'nde yer alan Küresel İklim Modeline göre, 2030 yılında Türkiye'nin birçok bölgesinde kuru ve sıcak bir iklimin etkili olacağı; kış mevsiminde yağışların %5 oranında artış göstereceği, yazları ise sıcaklıkların %5-15 düzeyinde azalacağı tahmin edilmektedir. Ayrıca, toprak neminde %15-25 arasında bir azalmanın meydana geleceği yapılan tahminler arasındadır (Anonim, 2007; Kanat ve Keskin, 2018).

Dünyada ve ülkemizde üretimi ve ticareti yapılan ekonomik anlamda önemli bir sıcak iklim sebzesi olan domatesin yetiştiriciliği genel olarak kuraklık etkisinin şiddetli hissedildiği bölgelerde yapılmaktadır ve bu nedenle de kuraklık stresinin meydana getirmiş olduğu olumsuzluklardan oldukça fazla düzeyde etkilenmektedir. Domates üretiminde kuraklık stresinin ilerleyen aşamalarında verim ve kalite üzerine oldukça önemli düzeylerde etkileri bulunan kloroz ve solmalar ortaya çıkmaktadır. Kuraklık stresinin yanında domateste verim ve kaliteyi düşüren bir diğer önemli etmen domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'dür. Bir çeşit RNA virüsü olan TSWV; yüksek replikasyon yeteneğine sahip olması ve buna bağlı olarak gelişen kısa sürede çoğalma yeteneğinin olması ve genetik düzeyde sürekli meydana gelen değişkenliği ile karakterize edilmektedir (Domingo ve Holland 1997; Tsompana vd.,

2005). Diğer virüslerde olduğu gibi TSWV'ye karşı etkin bir mücadele yönteminin geliştirilememiş olmasından dolayı konukçusu olduğu bitkiler son derece zarar görmektedirler. Bugüne kadar yapılmış olan araştırmalar sonucunda birçok bitki virüsünün yüksek sıcaklıklara karşı oldukça hassas olduklarının belirlenmiş olmasına rağmen TSWV'nün yüksek sıcaklıklarda daha yüksek enfeksiyon oranına sahip olduğu gözlemlenmiştir (Soler vd, 1998; de Ronde vd., 2019). Bu durum devam eden iklim değişikliği ve küresel ısınmanın etkisiyle tarımsal üretimde TSWV'nin çok daha önemli oranlarda verim kayıplarına neden olacağını düşündürmektedir. Bu nedenle de ülkemizde ve dünyada önemli bir sebze türü olan domates üretiminde TSWV'ye karşı önlemler alınması ve/veya bu virüse karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi bir zorunluluk haline gelmektedir.

Bitkilerin, herhangi bir stres etmeni ile karşı karşıya kalmasının hemen ardından bitkilerde hücresel düzeyde bazı moleküler ve biyokimyasal değişiklikler meydana gelmektedir. Oluşan bu değişiklikler sayesinde bitkilerde fizyolojik düzeyde değişiklikler meydana gelmekte ve bu değişikliklerin sonucunda da bitkilerde streslere karşı tolerans ve/veya dayanıklılık sağlanmaktadır. Bitkilerin çevresel streslere karşı verdikleri tepkilerin mekanizmalarının araştırılması ve bu mekanizmaların aydınlatılması tarımsal üretimde streslere dayanıklı ve/veya toleranslı bitki tür ve/veya çeşitlerinin geliştirilmesi ve buna bağlı olarak da tarımsal üretimde verimliliğin artırılması bakımından oldukça önemlidir. Son yıllarda, bitkilerin tekli ve/veya çoklu stres kombinasyonları sırasında genom düzeyinde meydana gelen değişikliklerin belirlenmesi, bu değişikliklerin meydana gelmesinde etkili olan sinyal yollarının ve bu yollarda etkili olan spesifik proteinlerin ve aynı zamanda bu proteinlerin hedefledikleri diğer proteinlerin tanımlanması streslere dayanıklı ve/veya toleranslı bitki tür ve/veya çeşitlerinin geliştirilmesi açısından oldukça önemli düzeyde meydana gelen gelişmeler olarak kabul edilmektedir. Ancak, bitkilerin çoklu stres kombinasyonları sırasında verdikleri tepkilerin araştırılması üzerine yapılan çalışmalar ve özellikle de bitkilerin abiyotik ve biyotik stres faktörlerine verdikleri tepkiler üzerine yapılan araştırmaların sayısı oldukça sınırlı düzeyde kalmıştır. Bugüne kadar bitkilerin çevresel streslere karşı vermiş oldukları tepkilerin araştırılmasına yönelik olarak yapılmış olan çalışmalar genel olarak kuraklık stresi ve yüksek tuz stresinin patojen direnci üzerindeki etkisinin ve/veya patojene özgü bir

şekilde direnç üzerindeki etkilerinin belirlenmesine yönelik yapılmaktadır (Kissoudis vd., 2016).

Bitkilerde streslere dayanıklılık ve/veya toleransla ilgili olarak yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda bazı TF'lerinin ve miRNA'ların çevresel streslere yanıt olarak transkripsiyonu arttırıcı ve/veya baskılayıcı olarak belirlenmesi ve bu TF'lerinin ve miRNA'ların abiyotik-biyotik streslere karşı bitkilerde direncin oluşumunda ve/veya geliştirilmesinde oldukça önemli rollerinin oldukları anlaşılmıştır. Bu konularda yapılan çalışmalarda TF'leri arasında MYB TF'lerinin, miRNA'lar arasında ise miR159'un oldukça önemli oldukları ortaya konulmuş ve bitkilerde abiyotik ve/veya biyotik streslere karşı dayanıklı ve/veya toleranslı bitki tür ve/veya çeşitlerinin geliştirilmesinde kullanılabilecekleri belirlenmiştir.

Yapılan bu tez çalışması kapsamında da bitkilerde çeşitli abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı tepkilerin düzenlenmesinde etkili olduğu düşünülen *MYB44*, *MYB73*, *MYB96*, *MYB101* ve *miR159* genlerinin domates bitkisinde abiyotik stres etmenleri arasında yer alan kuraklık stresi, biyotik stres etmenleri arasında yer alan TSWV'nin enfeksiyonu sırasında ve kuraklık ve TSWV'nin kombineli bir şekilde uygulanması sırasında ekspresyon düzeylerindeki değişimler belirlenmeye çalışılmıştır.

Bu çalışma kapsamında yapılmış olan analizler sonucunda, *SIMYB44* geninin biyotik stres uygulamasına karşı duyarlı bitkilerin kontrol gruplarında ifade edildiği, buna karşın yaralama ve/veya virüs enfeksiyonu sırasında baskılandığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, virüse karşı dayanıklı bitkilerde uygulamanın 21. gününde sadece kontrol gruplarında bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Ancak, Jung vd. (2010), *AtMYB44* geninin aşırı düzeyde ifade edildiği transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde *MYB44* geninin yaralama ile birlikte aşırı düzeyde ifade edildiğini ve bu genin yaralamaya karşı etkili olabileceğini bildirmişlerdir. Bu çalışma kapsamında yapılmış olan kuraklık stresi sırasında yapılan analizler sonucunda ise, *SIMYB44* geninin Alsancak bitkilerinde uygulamanın 7. gününde arttığı ancak Sedir bitkilerinde aynı gün baskılandığı belirlenmiştir. Jung vd. (2008) ise, yaptıkları bir çalışmada *AtMYB44* geninin kuraklık stresine karşı bitkide oluşan tepki sırasında ve büyüme-gelişme gibi biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde etkili olduğunu ortaya

çıkarmışlardır. Bu çalışma kapsamında yapılmış olan denemeler sonucunda ise abiyotik ve biyotik stres etmenlerinin birlikte uygulandığı denemeler sonucunda *SIMYB44* geninin Alsancak bitkilerinin hem virüs hem de virüs/kuraklık gruplarının 3. gününde ifade edildiğini, Sedir bitkilerinde ise virüs/kuraklık gruplarında uygulamanın ilerleyen günlerinde artışlar olduğu belirlenmiştir. Jaradat vd. (2013), yaptıkları bir çalışmada ise *AtMYB44* (*AtMYBR1*) geninin bitkilerde kuraklık stresi ve yaralama/patojen enfeksiyonu sırasında bitkide oluşan tepki sırasında yer aldığını belirlemişlerdir. Shim ve Choi (2013), *AtMYB44* geninin aşırı düzeyde ifade edildiği transgenik *Arabidopsis* bitkilerini *Alternaria brassicicola* ve *Pseudomonas syringae* pv. patojenlerine maruz bırakmışlar ve yaptıkları analizler sonucunda, bu bitkilerin biyotik streslere maruz bırakılan transgenik bitkilerin bu hastalıklara daha dirençli olduklarını belirlemişlerdir. Bu çalışmadan ve diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlar *SIMYB44* geninin bitkinin çeşidine ve stres faktörüne bağlı olarak abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı oluşturulan tepki mekanizmalarında yer aldığı sonucuna varılmıştır.

*SIMYB73* geninin hem tekli hem de çoklu stresler sırasında ekspresyon düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışma kapsamında yapılan analizler sonucunda, bu genin ifadesinin TSWV'ne duyarlı Alsancak bitkilerinde virüs inokülasyonun ilerleyen günlerinde ekspresyonun azaldığı belirlenmiştir. TSWV'ne dayanıklı Sedir bitkilerinde ise, hem yaralama yapılan gruplarda hem de kontrol grubunda uygulamanın ilerleyen günlerinde artışlar meydana gelmiştir. Ancak, Sedir bitkilerinin virüs inokülasyonu yapılan gruplarında *SIMYB73* geninin ifadesinin 21. günde azaldığı belirlenmiştir. *SIMYB73* geninin Alsancak ve Sedir domates çeşitleri arasındaki ifade düzeyinde meydana gelen bu değişimler çeşitlerin TSWV'ne karşı farklı düzeyinin bulunması bu çeşitlerin TSWV'ne karşı dayanıklılık düzeylerinin farklı olduğundan dolayı kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Diğer bitkilerde yapılmış olan diğer çalışmalar incelendiğinde ise, virüs enfeksiyonu sırasında *MYB73* geninin ifadesinde meydana gelen değişimlere yönelik bir çalışma yer almamaktadır. Ancak Jia vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada *Arabidopsis* bitkilerinde *MYB73* geninin fungal bir patojen olan *Bipolaris oryzae* enfeksiyonuna karşı ifadesinin arttığını ve bu genin ifadesinin SA ve JA hormonları tarafından düzenlendiğini belirlemişlerdir. Bu çalışma kapsamında yapılan kuraklık stresine tepki sırasında ise, *SIMYB73* geninin kuraklık stresinin 3. gününden itibaren

bitkilerde ifadesinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu genin ifadesi, TSWV/kuraklık uygulaması sırasında ise TSWV'ne duyarlı Alsancak bitki gruplarında önemli bir değişiklik oluşmazken, TSWV'ne dayanıklı Sedir bitkilerinde uygulamanın ilerleyen günlerinde kademeli olarak azalmalar olduğu belirlenmiştir. TSWV'ne dayanıklı Sedir domates çeşidinde meydana gelen bu azalmaların *SIMYB73* geninin bitkideki gelişimsel değişikliklerden kaynaklanabileceğini ve ilerleyen dönemlerde ise abiyotik ve biyotik streslere karşı tepkide ifadesinin negatif olarak düzenlenebileceği belirlenmiştir. He vd. (2012), yaptıkları bir çalışmada transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde *TaMYB73* geninin başta yüksek tuz stresi olmak üzere osmotik stres ve dehidrasyona karşı etkili olduğunu belirlemişlerdir. Bununla birlikte; ABA, SA, JA, GA ve ACC (1-Aminosiklopropan-1-karboksilik asit) gibi hormonların endojen uygulanması ile *TaMYB73* geninin erken dönemde ifade edildiğini, böylece bitkilerde hem abiyotik hem de biyotik streslere tepki sırasında yer alabileceğini bildirmişlerdir.

Domateste yapılan bu çalışmada biyotik ve abiyotik stresler sırasında *SIMYB96* geninin ifadesi incelendiğinde ise, virüse duyarlı Alsancak çeşidinde kontrol grubu dahil olmak üzere *SIMYB96*'nın ifadesinde azalmalar olduğu belirlenmiştir. Virüse karşı dayanıklı Sedir bitkilerinde ise, bu genin tüm gruplarda stresin 7. gününden itibaren arttığı ancak stres uygulamasının ilerleyen günlerinde ise azaldığı belirlenmiştir. Seo ve Park (2010), *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 enfeksiyonuna karşı *Arabidopsis*'te *MYB96* geninin hastalık direnci yanıtı ile yakından ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Buna karşın, bu çalışma kapsamında yapılmış olan analiz sonuçları incelendiğinde *SIMYB96* geninin ekspresyon seviyesinde çeşitler arasında farklılıklar olabileceğini ancak TSWV'ye karşı bu genin rolünün olabileceği belirlenmiştir. Kuraklık stresi sırasında *SIMYB96* geninin Alsancak bitkilerinde hem stres hem de kontrol gruplarında uygulamanın ilk günlerinde ifade edildiği ancak ilerleyen günlerde bu ifadenin azaldığı, Sedir bitkilerinde ise stres uygulaması boyunca bu genin ifadesinde anlamlı bir değişikliğin oluşmadığı anlaşılmıştır. Seo vd. (2011), yaptıkları bir çalışmada *MYB96* geninin bitkilerde kuraklık stresi sırasında arttığını bildirmişlerdir. Yapılmış olan bu çalışma kapsamında ise çoklu stres uygulaması sırasında Sedir bitkilerinde *SIMYB96* geninin ifadesinde azalmalar olduğu belirlenmiştir.

*SIMYB101* geninin abiyotik ve biyotik stresler sırasında bitki tepkilerindeki rolünün belirlenmesi amacıyla yapılan denemeler sonucunda virüs etmenine karşı TSWV'ye duyarlı Alsancak bitkilerinin kontrol gruplarında bu genin ifade edildiği belirlenmiştir. Bu durum, muhtemelen *SIMYB101* geninin büyüme ve gelişme gibi çeşitli biyolojik süreçlerle ilgili olabileceğini göstermektedir. Liang vd. (2013), çeşitli genlerin *Arabidopsis*'te polen tüpü oluşumu, fertilizasyon, çiçek tutumu gibi çeşitli biyolojik süreçlerle ilgili rollerini araştırdıkları bir çalışmada *MYB101* geninin tüm bu biyolojik süreçlerde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışma kapsamında alınan sonuçlar hem Alsancak hem de Sedir bitkilerinin mekanik inokülasyon yapılan gruplarında *SIMYB101* geninin ifadesinin baskılandığını ve bu sonuçların bitkilerde yaralama tepkisine karşı negatif olarak düzenlenebileceğini göstermektedir. Ayrıca, bu çalışma kapsamında alınan sonuçlar incelendiğinde *SIMYB101* geni kuraklık stresi sırasında Alsancak bitkilerinin stres ve kontrol gruplarında 3. günde ifade edilirken, Sedir bitkilerinde *SIMYB101* geninin ifadesinin stresin 7. gününde azaldığı belirlenmiştir. TSWV/kuraklık uygulaması sonucunda ise *SIMYB101* geninin ifadesinin Alsancak bitkilerinin kontrol ve stres gruplarının 3. gününde ciddi artışlar olduğu belirlenmiştir. Ancak, böyle bir değişim Sedir bitkilerinde gözlemlenmemiştir.

Alsancak ve Sedir domates bitkilerine uygulanan tekli ve çoklu stresler sırasında *Sly-miR159* genin ifadesinde anlamlı bir değişiklik olduğu belirlenmemiştir. Bununla birlikte, *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96* ve *SIMYB101* genlerinin uygulanan TSWV enfeksiyonu, kuraklık stresi ve TSWV/kuraklık uygulamasında stresler sırasındaki ifade düzeylerinde meydana gelen değişiklikler *Sly-miR159* geni ile ilişkilendirilememiştir. Esmaili vd. (2017), kuraklık stresi uyguladıkları şeftalilerde *miR159*'un ifadesinde önemli bir değişiklik olmadığını, bademlerde ise kuraklık stresi sırasında *miR159*'un ifadesinde artış belirlemişlerdir. Bunun yanı sıra, şeftali ve badem melezi bitkilerde kuraklık stresi sırasında *miR159*'un ifadesinde artış meydana geldiğini ve bu artışla birlikte *mir159*'un hedef geni olan *MYB33* geninin ifadesinde azalma olduğunu belirlemişlerdir. Bu durum, *miR159* geninin ifadesinde meydana gelen değişimlerin strese maruz kalan bitkinin türü ve çeşidine göre farklılıklar gösterebileceğini ortaya çıkarmaktadır. Lopez-Galiano vd. (2019), yaptıkları bir çalışmada kuraklık stresi ve Kolorado patates böceği (Colorado potato beetle, CPB)'ne maruz kalan domates bitkilerinde *Sly-miR159*, *SIMYB33*, *SIMYB65*,



*SIMYB97*, *SIMYB104* ve *SIMYB120* genlerinin ekspresyon seviyelerini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda, hem abiyotik hem de biyotik stresler sırasında *SIMYB65*, *SIMYB97* ve *SIMYB120* genlerinin ekspresyon seviyelerinde herhangi bir değişim gözlemlenmemişlerdir.

Yapılan bu Yüksek Lisans tez çalışmasında, domateste *SIMYB44*, *SIMYB73*, *SIMYB96* ve *SIMYB101* genlerinin abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı bitkide oluşan tepkiler ve büyüme ve gelişme süreçleri sırasında rol aldığı belirlenmiştir. Uygulanan abiyotik ve biyotik stresler sırasında ise *Sly-miR159*'un etkinliği belirlenmemiştir. Önceki çalışmalar ve bu çalışmadan alınan sonuçlar birlikte incelendiğinde, kullanılan bitki materyalinin yaşı, bitkinin büyüme ortamı ve gelişim düzeyi, kullanılan bitkinin çeşidi ve analiz edilen bitki dokularının oluşturulan deneysel koşulların ve analiz tekniklerin farklı olması gibi birçok nedenden dolayı genlerin ekspresyon düzeylerinde farklılıklar olabileceği belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Adkins, S. (2000). Tomato Spotted Wilt Virus-Positive Steps Towards Negative Success. *Molecular Plant Pathology*, 1, 151-157.
- Agarwal, M., Hao, Y., Kapoor, A., Dong, C. H., Fujii, H., Zheng, X. & Zhu, J. K. (2006). A R2R3 Type MYB Transcription Factor Is Involved in the Cold Regulation of CBF Genes and in Acquired Freezing Tolerance. *Journal of Biological Chemistry*, 281, 37636-37645. doi: 10.1074/jbc.M605895200
- Ahanger, M. A., Akram, N. A., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., Wijaya, L. & Ahmad, P. (2017). Plant Responses to Environmental Stresses-from Gene to Biotechnology. *AoB Plants*, 9, plx025. doi:10.1093/aobpla/plx025
- Alptekin, B., Langridge, P. & Budak, H. (2017). Abiotic Stress miRNomes in the Triticeae. *Functional & Integrative Genomics*, 17, 145-170. doi:10.1007/s10142-016-0525-9
- Ambawat, S., Sharma, P., Yadav, N. R. & Yadav, R. C. (2013). MYB Transcription Factor Genes as Regulators for Plant Responses: An Overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19, 307-321. doi:10.1007/s12298-013-0179-1
- Anonim (2007). Climate Change 2007: The Physical Science Basis. <https://www.ipcc.ch/report/ar4/wg1/> (Son erişim tarihi: 12.06.2019)
- Anonim (2019a). Tomatoes Are Area Harvested and Production Quantity Online <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Son erişim tarihi: 18.09.2019)
- Anonim (2019b). *Sebzelerin Üretim Miktarı (Seçilmiş Ürünlerde)*. Türkiye İstatistik Kurumu, <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist> (Son erişim tarihi: 18.09.2019)
- Anonim (2019c). Plant Transcription Factor Database <http://plantfdb.cbi.pku.edu.cn/index.php?sp=Sly> (Son erişim tarihi: 29.05.2019)
- Anonim (2019d). Domates Tohumu, Yüksel Tohum <http://www.yukseltohum.com/tr/urunler/domates-tohumu/tane> (Son erişim tarihi: 21.01.2019)
- Anonim (2019e) Domates Tohumları, Tofida Tarım <https://www.tofida.com/tr/urun-detay/sedir-f1> (Son erişim tarihi: 21.01.2019)
- Atkinson, N. J. & Urwin, P. E. (2012). The Interaction of Plant Biotic and Abiotic Stresses: From Genes to The Field. *Journal of Experimental Botany*, 63, 3523-3543. doi:10.1093/jxb/ers100

- Audebert, A., Coyne, D., Dingkuhn, M. & Plowright, R. (2000). The Influence of Cyst Nematodes (*Heterodera sacchari*) and Drought on Water Relations and Growth of Upland Rice in Côte d'Ivoire. *Plant and Soil*, 220, 235-242. doi:10.1023/A:1004734415254
- Audenaert, K., De Meyer, G. B. & Höfte, M. M. (2002). Abscisic Acid Determines Basal Susceptibility of Tomato to *Botrytis cinerea* and Suppresses Salicylic Acid-Dependent Signaling Mechanisms. *Plant Physiology*, 128, 491-501. doi:10.1104/pp.010605
- Ayhan, B., Ekmekçi, Y. & Tanyolaç, D. (2006). Bitkilerde Ağır Metal Zararları ve Korunma Mekanizmaları. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7, 1-16.
- Bai, Y., Kissoudis, C., Yan, Z., Visser, R. G. F. & van der Linden, G. (2018). Plant Behaviour Under Combined Stress: Tomato Responses to Combined Salinity and Pathogen Stress. *The Plant Journal*, 93, 781-793. doi:10.1111/tpj.13800
- Baillo, E. H., Kimotho, R. N., Zhang, Z. & Xu, P. (2019). Transcription Factors Associated with Abiotic and Biotic Stress Tolerance and Their Potential for Crops Improvement. *Genes*, 10, 771. doi:10.3390/genes10100771
- Baldoni, E., Genga, A. & Cominelli, E. (2015). Plant MYB Transcription Factors: Their Role in Drought Response Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 15811-15851. doi:10.3390/ijms160715811
- Barrera-Figueroa, B. E., Gao, L., Diop, N. N., Wu, Z., Ehlers, J. D., Roberts, P. A., Chose, T. J., Zhu, J. K. & Liu, R. (2011). Identification and Comparative Analysis of Drought-Associated microRNAs in Two Cowpea Genotypes. *BMC Plant Biology*, 11, 127. doi:10.1186/1471-2229-11-127
- Bauchet, G. & Causse, M. (2012). Genetic Diversity in Tomato (*Solanum lycopersicum*) and Its Wild Relatives. *Genetic Diversity in Plants*, 133-162.
- Bayraç, H. N. & Doğan, E. (2016). Türkiye’de İklim Değişikliğinin Tarım Sektörü Üzerine Etkileri. *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi İktisadî ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 11, 23- 48.
- Bergougnoux, V. (2014). The History of Tomato: From Domestication to Biopharming. *Biotechnology Advances*, 32, 170-189. doi:10.1016/j.biotechadv.2013.11.003
- Best, R. J. & Palk, B. A. 1964. Electron microscopy of strain E of *Tomato spotted wilt virus* and comments on its probable biosynthesis. *Virology*, 23, 445-460. doi: 10.1016/0042-6822(64)90229-6
- Blum, A. (1986). Breeding Crop Varieties for Stress Environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2, 199-237

- Brittlebank, C. C. (1915). Tomato Diseases. *Journal of the Department of Agriculture of Victoria*, 17, 231-235.
- Candar-Çakır, B., Arıcan, E. & Zhang, B. (2016). Small RNA and Degradome Deep Sequencing Reveals Drought and Tissue-Specific microRNAs and Their Important Roles in Drought-Sensitive and Drought-Tolerant Tomato Genotypes. *Plant Biotechnology Journal*, 14, 1727-1746. doi:10.1111/pbi.12533
- Canpolat, S. (2016). Domateste Görülen Önemli Hastalıklar ve Mücadelesi. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 17, 55-58.
- Carter, A. H., Chen, X. M., Garland-Campbell, K. & Kidwell, K. K. (2009). Identifying QTL Forhigh-Temperature Adult-Plant Resistance to Stripe Rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) in The Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivar 'Louise'. *Theoretical and Applied Genetics*, 119, 1119-1128.
- Chai, G., Wang, Z., Tang, X., Yu, L., Qi, G., Wang, D., Yan, X., Kong, Y. & Zhou, G. (2014). R2R3-MYB Gene Pairs in Populus: Evolution and Contribution to Secondary Wall Formation and Flowering Time. *Journal of Experimental Botany*, 65, 4255-4269. doi:10.1093/jxb/eru196
- Chaves, M. M., Maroco, J. P. & Pereira, J. S. (2003). Understanding Plant Responses to Drought from Genes to the Whole Plant. *Functional Plant Biology*, 30, 239-264. doi:10.1071/FP02076
- Chen, N., Yang, Q., Pan, L., Chi, X., Chen, M., Hu, D., Yang, Z., Wang, T., Wang, M. & Yu, S., (2014). Identification of 30 MYB Transcription Factor Genes and Analysis of Their Expression During Abiotic Stress in Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Gene*, 533, 332-345. doi:10.1016/j.gene.2013.08.092
- Chen, T., Li, W., Hu, X., Guo, J., Liu, A. & Zhang, B. (2015). A Cotton MYB Transcription Factor, GbMYB5, is Positively Involved in Plant Adaptive Response to Drought Stress, *Plant and Cell Physiology*, 56, 917-929. doi:10.1093/pcp/pcv019
- Cheong, Y. H., Chang, H. S., Gupta, R., Wang, X., Zhu, T. & Luan, S. (2002). Transcriptional Profiling Reveals Novel Interactions Between Wounding, Pathogen, Abiotic Stress, and Hormonal Responses in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 129, 661-677. doi:10.1104/pp.002857
- Chinnusamy, V., Zhu, J. & Zhu, J. K. (2007). Cold Stress Regulation of Gene Expression in Plants. *Trends in Plant Science*, 12, 444-451. doi:10.1016/j.tplants.2007.07.002
- Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M. & Shinozaki, K. (2011). Effects of Abiotic Stress on Plants: A Systems Biology Perspective. *Biomed Central Plant Biology*, 11, 163-176. doi:10.1186/1471-2229-11-163

- Cui, J., Jiang, N., Zhou, X., Hou, X., Yang, G., Meng, J. & Luan, Y. (2018). Tomato MYB49 Enhances Resistance to *Phytophthora Infestans* and Tolerance to Water Deficit and Salt Stress. *Planta*, 248, 1487-1503. doi:10.1007/s00425-018-2987-6
- Çelik, Ö., Ayan, A. & Atak, Ç. (2017). Enzymatic and Non-Enzymatic Comparison of Two Different Industrial Tomato (*Solanum lycopersicum*) Varieties Against Drought Stress. *Botanical Studies*, 58, 32. doi:10.1186/s40529-017-0186-6
- Daami-Remadi, M., Souissi, A., Oun, H. B., Mansour, M. & Nasraoui, B. (2009). Salinity Effects on Fusarium Wilt Severity and Tomato Growth. *Dynamic Soil, Dynamic Plant*, 3, 61-69.
- de Ronde, D., Lohuis, D. & Kormelink, R. (2019). Identification and Characterization of A New Class of Tomato Spotted Wild Virus Isolates That Break Tsw-Based Resistance In A Temperature-Dependent Manner. *Plant Pathology*, 68, 60-71. doi:10.1111/ppa.12952
- De Vos, M., Denekamp, M., Dicke, M., Vuylsteke, M., Van Loon, L., Smeekens, S. C. & Pieterse, C. M. (2006). The Arabidopsis thaliana Transcription Factor AtMYB102 Functions in Defense Against the Insect Herbivore *Pieris rapae*. *Plant Signaling & Behavior*, 1, 305-311. doi:10.4161/psb.1.6.3512
- Denekamp, M. & Smeekens, S. C. (2003). Integration of wounding and osmotic stress signals determines the expression of the AtMYB102 transcription factor gene. *Plant Physiology*, 132, 1415-1423. doi:10.1104/pp.102.019273  
doi:10.1007/s11103-005-2910-y
- Domingo, E. & Holland, J. J. (1997). RNA Virus Mutations and Fitness for Survival. *Annual Review of Microbiology*, 51, 151-178. doi:10.1146/annurev.micro.51.1.151
- Du, H., Yang, S. S., Liang, Z., Feng, B. R., Liu, L., Huang, Y. B. & Tang, Y. X. (2012). Genome-Wide Analysis of the MYB Transcription Factor Superfamily in Soybean. *BMC Plant Biology*, 12, 106. doi:10.1186/1471-2229-12-106
- Dubos, C., Stracke, R., Grotewold, E., Weisshaar, B., Martin, C. & Lepiniec, L. (2010). MYB Transcription Factors in Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 15, 573-581. doi:10.1016/j.tplants.2010.06.005
- Dugas, D. V. & Bartel, B. (2004). MicroRNA Regulation of Gene Expression in Plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 7, 512-520. doi:10.1016/j.pbi.2004.07.011
- Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdorran, F. & Xie, Y. (2015). Heavy Metal Stress and Some Mechanisms of Plant Defense Response. *The Scientific World Journal*, 2015, 756120. doi:10.1155/2015/756120

- Ercan, N. (2002). Domates Meyvesini Büyüme ve Olgunlaşması Sırasında Bileşiminde Meydana Gelen Değişimler. *Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü Yayını*, 19, 2-15.
- Erpen, L., Devi, H. Sunitibala, Grosser, J. W. & Dutt, M. (2017). Potential use of the DREB/ERF, MYB, NAC and WRKY transcription factors to improve abiotic and biotic stress in transgenic plants. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*, 132, 1-25. doi: 10.1007/s11240-017-1320-6
- Esmaeili, F., Shiran, B., Fallahi, H., Mirakhorli, N., Budak, H. & Martínez-Gómez, P. (2016). In silico search and biological validation of microRNAs related to drought response in peach and almond. *Functional & Integrative Genomics*, 17, 189-201.
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., Saud, S., Ihsan, M. Z., Alharby, H., Wu, C., Wang, D. & Huang, J. (2017). Crop Production under Drought and Heat Stress: Plant Responses and Management Options. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1147. doi:10.3389/fpls.2017.01147
- Fang, Y. & Xiong, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72, 673-689. doi: 10.1007/s00018-014-1767-0
- Feller, A., Machemer, K., Braun, E. L. & Grotewold, E. (2011). Evolutionary and Comparative Analysis of MYB and bHLH Plant Transcription Factors. *The Plant Journal*, 66, 94-116. doi:10.1111/j.1365-3113X.2010.04459.x
- Ferdous, J., Hussain, S. S. & Shi, B. J. (2015). Role of MicroRNAs in Plant Drought Tolerance. *Plant Biotechnology Journal*, 13, 293-305. doi:10.1111/pbi.12318
- Foolad, M. R. (2007). Genome Mapping and Molecular Breeding of Tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 2007, 64358. doi:10.1155/2007/64358
- Fujita, M., Fujita, Y., Noutoshi, Y., Takahashi, F., Narusaka, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., & Shinozaki, K. (2006). Crosstalk Between Abiotic and Biotic Stress Responses: A Current View from The Points of Convergence in The Stress Signaling Networks. *Current Opinion in Plant Biology*, 9, 436-442. doi:10.1016/j.pbi.2006.05.014
- Gaspar, T., Franck, T., Bisbis, B., Kevers, C., Jouve, L., Hausman, J. F. & Dommes, J. (2002). Concepts in Plant Stress Physiology. Application to Plant Tissue Cultures. *Plant Growth Regulation*, 37, 263-285.
- Gentile, A., Dias, L. I., Mattos, R. S., Ferreira, T. H. & Menossi, M. (2015). MicroRNAs and Drought Responses in Sugarcane. *Frontiers in Plant Science*, 23. doi:10.3389/fpls.2015.00058

- Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T. & Kononowicz, A. K. (2015). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in The Service of Biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120, 881-902. doi:10.1007/s11240-014-0664-4
- Gielen, J. J. L., de Haan, P., Kool, A. J., Peters, D., van Grinsven, M. Q. J. M. & Goldbach, R. W. (1991). Engineered Resistance to Tomato Spotted Wilt Virus, A Negative-Strand RNA Virus. *Nature Biotechnology*, 9, 1363-1367. doi:10.1038/nbt1291-1363
- Gimenez, E., Salinas, M. & Manzano-Agugliaro, F. (2018). Worldwide Research on Plant Defense Against Biotic Stresses as Improvement for Sustainable Agriculture. *Sustainability*, 10, 391. doi:10.3390/su10020391
- Grandilio, S., Ku, H. M. & Tanksley, S. D. (1996). Characterization of fs8.1 A Major QTL Influencing Fruit Shape in Tomato. *Molecular Breeding*, 2, 251-260.
- Grime, J. P. (1977). Evidence for The Existence of Three Primary Strategies in Plants and Its Relevance to Ecological and Evolutionary Theory. *The American Naturalist*, 111, 1169-1194.
- Guleria, P., Mahajan, M., Bhardwaj, J. & Yadav, S. K. (2011). Plant Small RNAs: Biogenesis, Mode of Action and Their Roles in Abiotic Stresses. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 9, 183-199. doi:10.1016/S1672-0229(11)60022-3
- Guo, H., Kan, Y. & Liu, W. (2011). Differential Expression of miRNAs in Response to Topping in Flue-Cured Tobacco (*Nicotiana tabacum*) roots. *PloS One*, 6, e28565. doi:10.1371/journal.pone.0028565
- Han, J., Kong, M. L., Xie, H., Sun, Q. P., Nan, Z. J., Zhang, Q. Z. & Pan, J. B. (2013). Identification of miRNAs and Their Targets in Wheat (*Triticum aestivum* L.) by EST Analysis. *Genetics and Molecular Research*, 12, 3793-3805. doi:10.4238/2013.September.19.11
- Hanssen, I. M., Lapidot, M. & Thomma, B. P. H. J. (2010). Emerging Viral Diseases of Tomato Crops. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23, 539-548. doi:10.1094/MPMI -23-5-0539
- He, Q., Zhu, S. & Zhang, B. (2014). MicroRNA-Target Gene Responses to Lead-Induced Stress in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Functional and Integrative Genomics*, 14, 507-515.
- He, Y., Li, W., Lv, J., Jia, Y., Wang, M. & Xia, G. (2012). Ectopic Expression of a Wheat MYB Transcription Factor Gene, TaMYB73, Improves Salinity Stress Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 63, 1511-1522. doi:10.1093/jxb/err389

- He, Y., Li, W., Lv, J., Jia, Y., Wang, M. & Xia, G. (2012). Ectopic Expression of A Wheat MYB Transcription Factor Gene, *TaMYB73*, Improves Salinity Stress Tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, *63*, 1511-1522. doi: 10.1093/jxb/err389
- Holtan, H. E. & Hake, S. (2003). Quantitative Trait Locus Analysis of Leaf Dissection in Tomato Using *Lycopersicon Pennellii* Segmental Introgression Lines. *Genetics*, *165*, 1541-1550.
- Hong-Bo, S., Li-Ye, C., Cheng-Jiang, R., Hua, L., Dong-Gang, G. & Wei-Xiang, L. (2010). Understanding Molecular Mechanisms for Improving Phytoremediation of Heavy metal-Contaminated Soils. *Critical Reviews in Biotechnology*, *30*, 23-30. doi:10.3109/07388550903208057
- Hu, Y. & Schmidhalter, U. (2005). Drought and Salinity: A Comparison of Their Effects on Mineral Nutrition of Plants. *Journal of Plant Nutrient and Soil Science*, *168*, 541-549. doi:10.1002/jpln.200420516
- Huang, G., Ma, S., Bai, L., Zhang, L., Ma, H., Jia, P., Liu, J., Zhong, M., & Guo, Z. (2012). Signal Transduction During Cold, Salt, and Drought Stresses in Plants. *Molecular Biology Reports*, *39*, 969-987. doi:10.1007/s11033-011-0823-1
- Huang, P., Chen, H., Mu, R., Yuan, X., Zhang, H. S. & Huang, J. (2015). OsMYB511 Encodes a MYB Domain Transcription Activator Early Regulated by Abiotic Stress in Rice. *Genetics and Molecular Research*, *14*, 9506-9517. doi:10.4238/2015.August.14.14
- Ismayil, A., Yang, M. & Liu, Y. (2019). Role of Autophagy During Plant-Virus Interactions. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. doi:10.1016/j.semcd.2019.07.001
- Ito, M., (2005). Conservation and Diversification of Three-Repeat Myb Transcription Factors in Plants. *Journal of Plant Research*, *118*, 61-69. doi:10.1007/s10265-005-0192-8
- Jaradat, M. R., Feurtado, J. A., Huang, D., Lu, Y. & Cutler, A. J. (2013). Multiple Roles of the Transcription Factor AtMYBR1/AtMYB44 in ABA Signaling, Stress Responses, and Leaf Senescence. *BMC Plant Biology*, *13*, 192.
- Jenkins, J. (1948). The Origin of The Cultivated Tomato." *Economic Botany*, *2*, 379-392. doi:10.1007/bf02859492
- Jia, J., Xing, J. H., Dong, J. G., Han, J. M. & Liu, J. S. (2011). Functional Analysis of *MYB73* of *Arabidopsis thaliana* Against *Bipolaris oryzae*. *Agricultural Sciences in China*, *10*, 721-727. doi: 10.1016/S1671-2927(11)60055-2



- Jiang, X., Li, S., Ding, A., Zhang, Z., Hao, Q., Wang, K., Liu, Q. & Liu, Q. (2018). The Novel Rose MYB Transcription Factor RhMYB96 Enhances Salt Tolerance in Transgenic Arabidopsis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 36, 406-417. doi:10.1007/s11105-018-1094-y
- Jin, J., Tian, F., Yang, D. C., Meng, Y. Q., Kong, L., Luo, J. & Gao, G. (2017). PlantTFDB 4.0: Toward a Central Hub for Transcription Factors and Regulatory Interactions in Plants. *Nucleic Acids Research*, 45(D1), D1040-D1045. doi:10.1093/nar/gkw982
- Johnson, E. T. & Dowd, P. F. (2004). Differentially Enhanced Insect Resistance, at a Cost, in *Arabidopsis thaliana* Constitutively Expressing a Transcription Factor of Defensive Metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5135-5138. doi:10.1021/jf0308049
- Jones-Rhoades, M. W., Bartel, D. P. & Bartel, B. (2006). MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 19-53. doi:10.1146/annurev.arplant.57.032905.105218
- Joshi, R., Wani, S. H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., Pareek, A. & Singla-Pareek, S. L. (2016). Transcription Factors and Plants Response to Drought Stress: Current Understanding and Future Directions. *Frontiers in plant science*, 7, 1029. doi:10.3389/fpls.2016.01029
- Jung, C., Seo, J. S., Han, S. W., Koo, Y. J., Kim, C. H., Song, S. I., Nahm, B. H., Choi, Y. D. & Cheong, J. J. (2008). Overexpression of AtMYB44 Enhances Stomatal Closure to Confer Abiotic Stress Tolerance in Transgenic Arabidopsis. *Plant Physiology*, 146, 623-635. doi:10.1104/pp.107.110981
- Jung, C., Shim, J. S., Seo, J. S., Lee, H. Y., Kim, C. H., Choi, Y. D. & Cheong, J. J. (2010). Non-Specific Phytohormonal Induction of AtMYB44 and Suppression of Jasmonate-Responsive Gene Activation in Arabidopsis thaliana. *Molecules and Cells*, 29, 71-76. doi: 10.1007/s10059-010-0009-z
- Kalefetoğlu, T. & Yasemin Ekmekçi, Y. (2005). The Effects of Drought on Plants and Tolerance Mechanisms. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 18, 723-740.
- Kanat, Z. & Keskin, A. (2018). Dünyada İklim Değişikliği Üzerine Yapılan Çalışmalar ve Türkiye'de Mevcut Durum. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 49, 67-78.
- Kantar, M., Unver, T. & Budak, H. (2010). Regulation of Barley miRNAs upon Dehydration Stress Correlated with Target Gene Expression. *Functional & Integrative Genomics*, 10, 493-507. doi: 10.1007/s10142-010-0181-4
- Khan, S. A., Li, M. Z., Wang, S. M. & Yin, H. J. (2018). Revisiting the Role of Plant Transcription Factors in the Battle against Abiotic Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1634. doi:10.3390/ijms19061634

- Kissoudis, C., Sunarti, S., van de Wiel, C., Visser, R. G., van der Linden, C. G. & Bai, Y. (2016). Responses to combined abiotic and biotic stress in tomato are governed by stress intensity and resistance mechanism. *Journal of Experimental Botany*, *67*, 5119-5132. doi:10.1093/jxb/erw285
- Klempnauer, K. H., Gonda, T. J. & Bishop, J. M. (1982). Nucleotide Sequence of The Retroviral Leukemia Gene v-myb and Its Cellular Progenitor c-myb: The Architecture of A Transduced Oncogene. *Cell*, *31*, 453-63. doi:10.1016/0092-8674(82)90138-6
- Komoda, K., Ishibashi, K., Kawamura-Nagaya, K. & Ishikawa, M. (2014). Possible Involvement of eEF1A in Tomato Spotted Wilt Virus RNA Synthesis. *Virology*, *468-470*, 81-87. doi:10.1016/j.virol.2014.07.053
- Korkmaz, H. & Durmaz, A., (2017). Bitkilerin Abiyotik Stres Faktörlerine Verdiği Cevaplar. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi/GUSTIJ*, *7*, 192-207. doi:10.17714/gufbed.2017.07.013
- Ku, Y. S., Sintaha, M., Cheung, M. Y. & Lam, H. M. (2018). Plant Hormone Signaling Crosstalks between Biotic and Abiotic Stress Responses. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*, 3206. doi:10.3390/ijms19103206
- Kulshrestha, S., Sharma, A. & Seth, C. A. (2013). Molecular biology of Tomato Spotted Wilt Virus: An Update. *Journal of Applied Horticulture*, *15*, 71-80.
- Lämke, J. & Bäurle, I. (2017). Epigenetic and Chromatin-Based Mechanisms in Environmental Stress Adaptation and Stress Memory in Plants. *Genome Biology*, *18*. doi:10.1186/s13059-017-1263-6
- Lee, R. C., Feinbaum, R. L. & Ambrost, V. (1993). The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to lin-14. *Cell*, *75*, 843-854.
- Levitt, J. (1980). Responses of Plant to Environmental Stress. Academic Press, New York, 365.
- Li, C., Ng, C. K. Y. & Fan, L. M. (2015). MYB Transcription Factors, Active Players in Abiotic Stress Signaling. *Environmental and Experimental Botany*, *114*, 80-91. doi: 10.1016/j.envexpbot.2014.06.014
- Li, J. B., Luan, Y. S. & Yin, Y. L. (2014). Spmyb Overexpression in Tobacco Plants Leads to Altered Abiotic and Biotic Stress Responses. *Gene*, *547*, 145-151. doi:10.1016/j.gene.2014.06.049. Epub 2014 Jun 24.
- Li, Q., Zhang, C., Li, J., Wang, L. & Ren, Z. (2012). Genome-Wide Identification and Characterization of R2R3MYB Family in Cucumis sativus. *PLoS One*, *7*, e47576. doi:10.1371/journal.pone.0047576

- Li, Z., Peng, R., Tian, Y., Han, H., Xu, J. & Yao, Q. (2016). Genome-Wide Identification and Analysis of the MYB Transcription Factor Superfamily in *Solanum lycopersicum*. *Plant & Cell Physiology*, *57*, 1657-77. doi: 10.1093/pcp/pcw091
- Liang, Y., Tan, Z. M., Zhu, L., Niu, Q. K., Zhou, J. J., Li, M., Chen, L. Q., Zhang, X. Q. & Ye, D. (2013). MYB97, MYB101 and MYB120 Function as Male Factors That Control Pollen Tube-Synergid Interaction in *Arabidopsis thaliana* Fertilization. *PLoS Genetics*, *9*, e1003933. doi:10.1371/journal.pgen.1003933
- Liu, R., Lü, B., Wang, X., Zhang, C., Zhang, S., Qian, J., Chen, L., Shi, H. & Dong, H. (2010). Thirty-Seven Transcription Factor Genes Differentially Respond to a Harpin Protein and Affect Resistance to the Green Peach Aphid in *Arabidopsis*. *Journal of Biosciences*, *35*, 435-450. doi: 10.1007/s12038-010-0049-8
- Liu, S. R., Zhou, J. J., Hu, C. G., Wei, C. L. & Zhang, J. Z. (2017). MicroRNA-Mediated Gene Silencing in Plant Defense and Viral Counter-Defense. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 1801. doi:10.3389/fmicb.2017.01801
- Liu, W. W., Meng, J., Cui, J. & Luan, Y. S. (2017). Characterization and Function of MicroRNAs in Plants. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 2200. doi:10.3389/fpls.2017.02200
- Llave, C., Kasschau, K. D., Rector, M. A. & Carrington, J. C. (2002). Endogenous and Silencing-Associated Small RNAs in Plants. *The Plant Cell*, *14*, 1605-1619. doi:10.1105/tpc.003210
- López-Galiano, M. J., García-Robles, I., González-Hernández, A. I., Camañes, G., Vicedo, B., Real, M. D. & Rausell, C. (2019). Expression of miR159 Is Altered in Tomato Plants Undergoing Drought Stress. *Plants (Basel)*, *8*, 201. doi:10.3390/plants8070201
- Lv, S., Nie, X., Wang, L., Du, X., Biradar, S. S., Jia, X., & Weining, S. (2012). Identification and Characterization of microRNAs from Barley (*Hordeum vulgare* L.) by High-Throughput Sequencing. *International Journal of Molecular Sciences*, *13*, 2973-2984. doi:10.3390/ijms13032973
- Mahajan, S. & Tuteja, N. (2005). Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *444*, 139-158. doi:10.1016/j.abb.2005.10.018
- Meena, K. K., Sorty, A. M., Bitla, U. M., Choudhary, K., Gupta, P., Pareek, A., Singh, D. P., Ratna Prabha, R., Sahu, P. K., Gupta, V. K., Singh, H. B., Krishanani, K. K. & Minhas, P. S. (2017). Abiotic Stress Responses and Microbe-Mediated Mitigation in Plants: The Omics Strategies. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 172. doi:10.3389/fpls.2017.00172

- Mengü, G. P., Anaç, S. & Özçakal, E. (2011). Kuraklık Yönetim Stratejileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48, 175-181.
- Mishra, A. K. & Singh, V. P. (2010). A Review of Drought Concepts. *Journal of Hydrology*, 391, 202-216.
- Mitter, N., Koundal, V., Williams, S. & Pappu, H. (2013). Differential Expression of Tomato Spotted Wilt Virus-Derived Viral Small RNAs in Infected Commercial and Experimental Host Plants. *PloS one*, 8(10), e76276. doi:10.1371/journal.pone.0076276
- Mitter, N., Zhai, Y., Bai, A. X., Chua, K., Eid, S., Constantin, M., Mitchell, R. & Pappu, H. R. (2016). Evaluation and Identification of Candidate Genes for Artificial microRNA-Mediated Resistance to Tomato Spotted Wilt Virus. *Virus Research*, 211, 151-158. doi:10.1016/j.virusres.2015.10.003
- Moury, B., Selassie, K. G., Marchoux, G., Daub`eze, A. M. & Palloix, A. (1998). High Temperature Effects on Hypersensitive Resistance to Tomato Spotted Wilt Tospovirus (TSWV) in Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *European Journal of Plant Pathology*, 104, 489-498.
- Naqvi, A. R., Haq, Q. M. & Mukherjee, S. K. (2010). MicroRNA Profiling of Tomato Leaf Curl New Delhi Virus (ToLCNDV) Infected Tomato Leaves Indicates that Dereglulation of mir159/319 and mir172 Might be Linked with Leaf Curl Disease. *Virology Journal*, 7, 281. doi:10.1186/1743-422X-7-281
- Nejat, N. & Mantri, N. (2017). Plant Immune System: Crosstalk Between Responses to Biotic and Abiotic Stresses the Missing Link in Understanding Plant Defence. *Current Issues in Molecular Biology*, 23, 1-16. doi:10.21775/cimb.023.001
- Novaković, L., Guo, T., Bacic, A., Sampathkumar, A. & Johnson, K. L. (2018). Hitting the Wall-Sensing and Signaling Pathways Involved in Plant Cell Wall Remodeling in Response to Abiotic Stress. *Plants*, 7, 89. doi:10.3390/plants7040089
- Onkokesung, N., Reichelt, M., Van Doorn, A., Schuurink, R.C., Van Loon, J.J. & Dicke, M. (2014). Modulation Of Flavonoid Metabolites In Arabidopsis Thaliana Through Overexpression Of The MYB75 Transcription Factor: Role Of Kaempferol-3,7-Dirhamnoside In Resistance To The Specialist Insect Herbivore Pierisbrassicae. *Journal Of Experimental Botany*, 65, 2203-2217. doi:10.1093/Jxb/Eru096
- Öktüren-Asri, F. & Sönmez, S. (2006). Ağır Metal Toksisitesinin Bitki Metabolizması Üzerine Etkileri. *Derim*, 23, 36-45.
- Özbahçe, A. & Padem, H. (2007). Üstün Verim ve Teknolojik Özelliklere Sahip Bazı Salçalık Domates Çeşitlerinin Isparta Koşullarına Uygunluğunun Belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11, 128-133.

- Öztürk, N. Z. (2015). Bitkilerin Kuraklık Stresine Tepkilerinde Bilinenler ve Yeni Yaklaşımlar. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3, 307-315.
- Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M. V. & Senthil-Kumar, M. (2017). Impact of Combined Abiotic and Biotic Stresses on Plant Growth and Avenues for Crop Improvement by Exploiting Physio-morphological Traits. *Frontiers in Plant Science*, 8, 537. doi:10.3389/fpls.2017.00537
- Park, M. Y., Wu, G., Gonzalez-Sulser, A., Vaucheret, H. & Poethig, R. S. (2005). Nuclear Processing and Export of microRNAs in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 3691-3696. doi:10.1073/pnas.0405570102
- Park, W., Li, J., Song, R., Messing, J. & Chen, X. (2002). Carpel Factory, A Dicer Homolog, and HEN1, A Novel Protein, Act in microRNA Metabolism in Arabidopsis thaliana. *Current biology*, 12, 1484-1495. doi:10.1016/s0960-9822(02)01017-5
- Parrella, G., Gognalons, P., Gebre-Selassie, K., Vovlas, C. & Marchoux, G. (2003). An Update of The Host Range of Tomato Spotted Wilt Virus. *Journal of Plant Pathology*, 85, 227-264.
- Paz-Ares, J., Ghosal, D., Wienand, U., Peterson, P. A. & Saedler, H. (1987). The Regulatory C1 Locus of Zea mays Encodes A Protein with Homology to MYB Proto-Oncogene Products and with Structural Similarities to Transcriptional Activators. *The EMBO Journal*, 6, 3553-3558.
- Peralta, I. E., Spooner, D. M. & Knapp, S. (2008). Taxonomy of Wild Tomatoes and Their Relatives (*Solanum*, sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; Solanaceae). *Systematic Botany Monographs*, 1-186.
- Piasecka, A., Kachlicki, P. & Stobiecki, M. (2019). Analytical Methods for Detection of Plant Metabolomes Changes in Response to Biotic and Abiotic Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 379. doi:10.3390/ijms20020379
- Qi, L., Yang, J., Yuan, Y., Huang, L. & Chen, P. (2015). Overexpression of Two R2R3-MYB Genes From Scutellaria Baicalensis Induces Phenylpropanoid Accumulation and Enhances Oxidative Stress Resistance in Transgenic Tobacco. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94, 235e243. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.06.007
- Qin, Y., Wang, M., Tian, Y., He, W., Han, L. & Xia, G. (2012). Over-expression of TaMYB33 Encoding A Novel Wheat MYB Transcription Factor Increases Salt and Drought Tolerance in Arabidopsis. *Molecular Biology Reports*, 39, 7183-7192. doi:10.1007/s11033-012-1550-y
- Reinhart, B. J., Weinstein, E. G., Rhoades, M. W., Bartel, B. & Bartel, D. P. (2002). MicroRNAs in Plants. *Genes and Development*, 16, 1616-1626. doi:10.1101/gad.1004402

- Rejeb, I. B., Pastor, V. & Mauch-Mani, B. (2014). Plant Responses to Simultaneous Biotic and Abiotic Stress: Molecular Mechanisms. *Plants*, 3, 458-475. doi:10.3390/plants3040458
- Reyes, J. L. & Chua, N. H. (2007). ABA Induction of miR159 Controls Transcript Levels of Two MYB Factors During Arabidopsis Seed Germination. *The Plant Journal*, 49, 592-606. doi:10.1111/j.1365-313X.2006.02980.x
- Rodríguez, M., Canales, E., Borroto, C. J., Carmona, E., López, J., Pujol, M. & Borrás-Hidalgo, O. (2006). Identification of Genes Induced Upon Water-Deficit Stress in a Drought-Tolerant Rice Cultivar. *Journal of Plant Physiology*, 163, 577-584. doi:10.1016/j.jplph.2005.07.005
- Rosello, S., Diez, M. J. & Nuez, F. (1998). Genetics of Tomato Spotted Wilt Virus Resistance Coming From *Lycopersicon Peruvianum*. *European Journal of Plant Pathology*, 104, 499-509.
- Rotenberg, D., Jacobson, A. L., Schneweis, D. J. & Whitfield, A. E. (2015). Thrips Transmission of Tospoviruses. *Current Opinion in Virology*, 15, 80-89. doi:10.1016/j.coviro.2015.08.003
- Rushton, P. J., Bokowiec, M. T., Laudeman, T. W., Brannock, J. F., Chen, X. & Timko, M. P. (2008). TOBFAC: the database of tobacco transcription factors. *BMC Bioinformatics*, 9, 53. doi:10.1186/1471-2105-9-53
- Sah, S. K., Reddy, K. R. & Li, J. (2016). Abscisic Acid and Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, 571. doi:10.3389/fpls.2016.00571
- Sakimura, K. (1962). The Present Status of Thrips Borne Viruses. *Biological Transmission of Disease Agents*. 33-40.
- Samuel, G., Bald, J. G. & Pitman, H. A. (1930). Investigations on 'Spotted wilt' of Tomatoes. *Commonwealth of Australia, Council for Scientific and Industrial Research*, 44, 56-106.
- Sánchez-Retuerta, C., Suárez-López, P. & Henriques, R. (2018). Under a New Light: Regulation of Light-Dependent Pathways by Non-coding RNAs. *Frontiers in Plant Science*, 9, 962. doi:10.3389/fpls.2018.00962
- Sanz-Carbonell, A., Marques, M. C., Bustamante, A., Fares, M. A., Rodrigo, G. & Gomez, G. (2019). Inferring the Regulatory Network of the miRNA-mediated Response to Biotic and Abiotic Stress in Melon. *BMC Plant Biology*, 19, 78. doi:10.1186/s12870-019-1679-0
- Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J. N. & Hollier, C. A. (2012). Crop Losses due to Diseases and Their Implications for Global Food Production Losses and Food Security. *Food Security*, 4, 519-537. doi:10.1007/s12571-012-0200-5

- Scholthof, K. B. G., Adkins, S., Czosnek, H., Palukaitis, P., Jacquot, E., Hohn, T., Hohn, B., Saunders, K., Candresse, T., Ahlquist, P., Hemenway, C. & Foster, G. D. (2011). Top 10 Plant Viruses in Molecular Plant Pathology. *Molecular Plant Pathology*, *12*, 938-954. doi:10.1111/j.1364-3703.2011.00752.x
- Seo, P. J. & Park, C. M. (2010). MYB96-Mediated Abscisic Acid Signals Induce Pathogen Resistance Response by Promoting Salicylic Acid Biosynthesis in Arabidopsis. *New Phytologist*, *186*, 471-483. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03183.x
- Seo, P. J., Lee, S. B., Suh, M. C., Park, M. J., Go, Y. S. & Park, C. M. (2011). The MYB96 Transcription Factor Regulates Cuticular Wax Biosynthesis Under Drought Conditions in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *23*, 1138-1152. doi:10.1105/tpc.111.083485
- Shan, H., Chen, S., Jiang, J., Chen, F., Chen, Y., Gu, C., Li, P., Song, A., Zhu, X., Gao, H., Zhou, G., Li, T. & Yang, X. (2012). Heterologous Expression of The Chrysanthemum R2R3-MYB Transcription Factor *CmMYB2* Enhances Drought and Salinity Tolerance, Increases Hypersensitivity to ABA and Delays Flowering in Arabidopsis thaliana. *Molecular Biotechnology*, *51*, 160-173.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A. & Zhao, C. X. (2008). Water-deficit Stress-induced Anatomical Changes in Higher Plants. *Comptes Rendus Biologies*, *331*, 215-225. doi:10.1016/j.crv.2008.01.002
- Shen, X., Guo, X., Guo, X., Zhao, D., Zhao, W., Chen, J. & Li, T. (2017). PacMYBA, A Sweet Cherry R2R3-MYB Transcription Factor, is A Positive Regulator of Salt Stress Tolerance and Pathogen Resistance. *Plant Physiology and Biochemistry*, *112*, 302-311. doi:10.1016/j.plaphy.2017.01.015
- Sheng, L., Chai, W., Gong, X., Zhou, L., Cai, R., Li, X., Zhao, Y., Jiang, H. & Cheng, B. (2015). Identification and Characterization of Novel Maize Mirnas Involved in Different Genetic Background. *International Journal of Biological Sciences*, *11*, 781-793. doi:10.7150/ijbs.11619
- Shim, J. S. & Choi, Y. D. (2013). Direct Regulation of WRKY70 by AtMYB44 in Plant Defense Responses. *Plant Signaling & Behavior*, *8*, e20783. doi:10.4161/psb.24509
- Shinozaki, K. & Yamaguchi-Shinozaki, K. (1997). Gene Expression and Signal Transduction in Water-Stress Response. *Plant Physiology*, *115*, 327-334. doi:10.1104/pp.115.2.327
- Shulaeva, V., Cortesa, D., Millerb, G. & Mittler, R. (2008). Metabolomics for Plant Stress Response. *Physiologia Plantarum*, *132*, 199-208. doi:10.1111/j.1399-3054.2007.01025.x

- Soler, S., Diez, M. J. & Nuez, F. (1998). Effect of Temperature Regime and Growth Stage Interaction on Pattern of Virus Presence in TSWV-Resistant Accessions of *Capsicum Chinense*. *Plant Disease*, 82, 1199-1204.
- Stevens, M. R., Scott, S. J. & Gergerich, R. C. (1992). Inheritance of a Gene for Resistance to *Tomato Spotted Wilt Virus* (TSWV) from *Lycopersicon peruvianum* Mill. *Euphytica*, 59, 9-17.
- Stracke, R., Werber, M. & Weisshaar, B. (2001). The R2R3-MYB Gene Family in *Arabidopsis thaliana*. *Current Opinion in Plant Biology*, 4, 447-456. doi:10.1016/s1369-5266(00)00199-0
- Şevik, M. A., (2011). Domates lekeli solgunluk virüsü (TSWV)'nün Tarımsal Ürünlerde Meydana Getirdiği Ekonomik Kayıplar. *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15, 35- 42.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2008). Bitki Fizyolojisi. Ankara. Palme Yayıncılık
- Tang, G. (2010). Plant microRNAs: An insight into their gene structures and evolution. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 21, 782-789. doi:10.1016/j.semcd.2010.07.009
- Tekinel, N., Dolar, M. S., Sağsöz, S. & Salcan, Y. (1969). Mersin Bölgesinde Ekonomik Bakımdan Önemli Bazı Sebzelerin Virüsleri Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 9, 37-49.
- Thomashow, M. F. (1999). Plant Cold Acclimation: Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms. *Annal Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50, 571-599. doi:10.1146/annurev.arplant.50.1.571
- Tippmann, H. F., Schlüter, U. & Collinge, D. B. (2006). Common Themes in Biotic and Abiotic Stress Signalling in Plants. *Global Science Books*.
- Tripathi, A., Goswami, K. & Sanan-Mishra, N. (2015). Role of Bioinformatics in Establishing microRNAs as Modulators of Abiotic Stress Responses: The New Revolution. *Frontiers in Physiology*, 6, 286. doi:10.3389/fphys.2015.00286
- Tsompana, M., Abad, J., Purugganan, M. & Moyer, J. W. (2005). The Molecular Population Genetics of The Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV) Genome. *Molecular Ecology*, 14, 53-66. doi:10.1111/j.1365-294X.2004.02392.x
- Turhan, P. & Korkmaz, S. (2006). Çanakkale İlinde Domates Lekeli Solgunluk Virüsünün Serolojik ve Biyolojik Yöntemlerle Saptanması. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12, 130-136.
- van der Knaap, E. & Tanksley, S. D. (2001). Identification and Characterization of A Novel Locus Controlling Early Fruit Development in Tomato. *Theoretical and Applied Genetics*, 103, 353-358. doi: 10.1007/s001220100623



- Velásquez, A. C., Castroverde, C. & He, S. Y. (2018). Plant and Pathogen Warfare under Changing Climate Conditions. *Current Biology*, 28, R619-R634. doi:10.1016/j.cub.2018.03.054
- Wang, R. K., Cao, Z. H. & Hao, Y. J. (2014). Overexpression of a R2R3 MYB gene MdSIMYB1 Increases Tolerance to Multiple Stresses in Transgenic Tobacco and Apples. *Physiologia Plantarum*, 150, 76-87. doi:10.1111/ppl.12069
- Wang, X., Xu, C., Cai, X., Wang, Q. & Dai, S. (2017). Heat-Responsive Photosynthetic and Signaling Pathways in Plants: Insight from Proteomics. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 2191. doi:10.3390/ijms18102191
- Wei, Q., Luo, Q., Wang, R., Zhang, F., He, Y., Zhang, Y., Qiu, D., Li, K., Chang, J., Guangxiao Yang, G. & Guangyuan He, G. (2017). A Wheat R2R3-type MYB Transcription Factor TaODORANT1 Positively Regulates Drought and Salt Stress Responses in Transgenic Tobacco Plants. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1374. doi:10.3389/fpls.2017.01374
- Weston, K. (1998). Myb Proteins in Life, Death and Differentiation. *Current Opinion in Genetics & Development*, 8, 76-81. doi: 10.1016/S0959-437X(98)80065-8
- Wiese, J., Kranz, T. & Schubert, S. (2004). Induction of Pathogen Resistance in Barley by Abiotic Stress. *Plant Biology*, 6, 529-36. doi:10.1055/s-2004-821176
- Wightman, B., Ha, I. & Ruvkun, G. (1993). Posttranscriptional Regulation of the Heterochronic Gene *lin-14* by W-4 Mediates Temporal Pattern Formation in *C. elegans*. *Cell*, 75, 855-862.
- Wilkins, O., Nahal, H., Foong, J., Provart, N. J., & Campbell, M. M. (2009). Expansion and diversification of the *Populus* R2R3-MYB family of transcription factors. *Plant Physiology*, 149, 981-993. doi:10.1104/pp.108.132795
- Williams, C. E. & Grotewold, E. (1997). Differences between Plant and Animal Myb Domains Are Fundamental for DNA Binding Activity, and Chimeric Myb Domains Have Novel DNA Binding Specificities. *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 563-571. doi:10.1074/jbc.272.1.563
- Xie, R., Li, Y., He, S., Zheng, Y., Yi, S. Lv, Q. & Deng, L. (2014). Genome-Wide Analysis of Citrus R2R3MYB Genes and Their Spatiotemporal Expression Under Stresses and Hormone Treatments. *PloS one*, 9, e113971. doi:10.1371/journal.pone.0113971
- Xie, Z., Li, D., Wang, L., Sack, F. D. & Grotewold, E. (2010). Role of The Stomatal Development Regulators FLP/MYB88 in Abiotic Stress Responses. *Plant Journal*, 64, 731–739. doi:10.1111/j.1365-313X.2010.04364.x

- Xing, C., Liu, Y., Zhao, L., Zhang, S. & Huang, X. (2018). A Novel MYB Transcription Factor Regulates Ascorbic Acid Synthesis and Affects Cold Tolerance. *Plant, Cell & Environment*, 42, 832-845. doi: 10.1111/pce.13387
- Xiong, H., Li, J., Liu, P., Duan, J., Zhao, Y., Guo, X., Li, Y., Zhang, H., Jauhar Ali, J. & Li, Z. (2014). Overexpression of OsMYB48-1, a Novel MYB-Related Transcription Factor, Enhances Drought and Salinity Tolerance in Rice. *PLoS One*, 9, e92913. doi:10.1371/journal.pone.0092913
- Xu, L., Hu, Y., Cao, Y., Li, J., Ma, L., Li, Y. & Qi, Y. (2017). An Expression Atlas of miRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *Science China Life Sciences*, 61, 178-189. doi: 10.1007/s11427-017-9199-1
- Yamaguchi-Shinozaki, K. & Shinozaki, K. (2006). Transcriptional Regulatory Networks in Cellular Responses and Tolerance to Dehydration and Cold Stresses. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 781-803. doi:10.1146/annurev.arplant.57.032905.105444
- Yanhui, C., Xiaoyuan, Y., Kun, H., Meihua, L., Jigang, L., Zhaofeng, G., Zhiqiang, L., Yunfei, Z., Xiaoxiao, W., Xiaoming, Q., Yunping, S., Li, Z., Xiaohui, D., Jingchu, L., Xing-Wang, D., Zhangliang, C. & Hongya, G. (2006). The MYB Transcription Factor Superfamily of Arabidopsis: Expression Analysis and Phylogenetic Comparison with the Rice MYB Family. *Plant Molecular Biology*, 60, 107-124.
- Yuan, Y., Qi, L., Yang, J., Wu, C., Liu, Y. & Huang, L. (2015). A *Scutellaria baicalensis* R2R3-MYB Gene, *SbMYB8*, Regulates Flavonoid Biosynthesis and Improves Drought Stress Tolerance in Transgenic Tobacco. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 120, 961-972. doi: 10.1007/s11240-014-0650-x
- Zhang, B., Pan, X., Cobb, G. P. & Anderson, T. A. (2006). Plant microRNA: A Small Regulatory Molecule with Big Impact. *Developmental Biology*, 289, 3-16. doi:10.1016/j.ydbio.2005.10.036
- Zhang, J. Z. (2003). Overexpression Analysis of Plant Transcription Factors. *Current Opinion in Plant Biology*, 6, 430-440. doi:10.1016/s1369-5266(03)00081-5
- Zhang, L., Zhao, G., Xia, C., Jia, J., Liu, X. & Kong, X. (2012). A Wheat R2R3-MYB Gene, *TaMYB30-B*, Improves Drought Stress Tolerance in Transgenic *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 63, 5873-5885 doi:10.1093/jxb/ers237
- Zhang, W., Luo, Y., Gong, X., Zeng, W. & Li, S. (2009). Computational Identification of 48 Potato MicroRNAs and Their Targets. *Computational Biology and Chemistry*, 33, 84-93. doi:10.1016/j.compbiolchem.2008.07.006
- Zhang, X., Zou, Z., Gong, P., Zhang, J., Ziaf, K., Li, H., Xiao, F. & Ye, Z. (2011). Over-expression of MicroRNA169 Confers Enhanced Drought Tolerance to Tomato. *Biotechnology Letters*, 33, 403-409. doi:10.1007/s10529-010-0436-0

- Zhao, C., Xia, H., Cao, T., Yang, Y., Zhao, S. Z., Hou, L., Zhang, Y., Li, C., Xinyou, Z. & Wang, X. (2015). Small RNA and Degradome Deep Sequencing Reveals Peanut MicroRNA Roles in Response to Pathogen Infection. *Plant Molecular Biology Reporter*, *33*, 1013-1029. doi: 10.1007/s11105-014-0806-1.
- Zhao, Y., Tian, X., Wang, F., Zhang, L., Xin, M., Hu, Z., Yao, Y., Ni, Z., Sun, Q. & Peng, H. (2017). Characterization of wheat MYB genes responsive to high temperatures. *BMC Plant Biology*, *17*, 208. doi:10.1186/s12870-017-1158-4
- Zhao, Z., Niu, S., Fan, G., Deng, M. & Wang, Y. (2018). Genome-Wide Analysis of Gene and microRNA Expression in Diploid and Autotetraploid Paulownia fortunei (Seem) Hemsl. Under Drought Stress by Transcriptome, microRNA, and Degradome Sequencing. *Forests*, *9*, 88. doi:10.3390/f9020088
- Zhou, L., Liu, Y., Liu, Z., Kong, D., Duan, M. & Luo, L. (2010). Genome-Wide Identification and Analysis of Drought-Responsive microRNAs in *Oryza sativa*. *Journal of Experimental Botany*, *61*, 4157-4168. doi: /10.1093/jxb/erq237
- Zhu, J. K. (2016). Abiotic Stress Signaling and Responses in Plants. *Cell*, *167*, 313-324. doi:10.1016/j.cell.2016.08.029
- Zhu, N., Cheng, S., Liu, X., Du, H., Dai, M., Zhou, D. X., Yang, W. & Zhao, Y.(2015). The R2R3-Type MYB Gene OsMYB91 has a Function in Coordinating Plant Growth and Salt Stress Tolerance in Rice. *Plant Science*, *236*, 146-156. doi: 10.1016/j.plantsci.2015.03.023

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı : Fatma SARIKAYA

Doğum Yeri ve Yılı : Eskişehir, 1994

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : fsarikaya\_705@hotmail.com

### **Eğitim Durumu**

Lise : Bilecik Ertuğrulgazi Lisesi, 2012

Lisans : SDÜ, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, 2016