

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) BİTKİSİNDE BÜYÜME DÜZENLEYİCİ
FAKTÖR (GRF) TRANSKRİPSİYON FAKTÖRÜ GEN AİLESİNİN GENOM
BOYUTUNDA *In silico* TANIMLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Türkan Bengü TAŞDAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2018

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Türkan Bengü TAŞDAN tarafından hazırlanan “Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Bitkisinde Büyüme Düzenleyici Faktör (GRF) Transkripsiyon Faktörü Gen Ailesinin Genom Boyutunda *In silico* Tanımlanması ve Karakterizasyonu” adlı tez çalışması 13/06/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

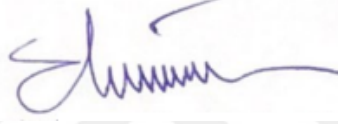
Danışman: Prof. Dr. E. Sümer ARAS
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü



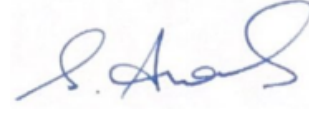
Jüri Üyeleri:



Başkan: Prof. Dr. Ekrem GÜREL
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü



Üye: Prof. Dr. E. Sümer ARAS
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü



Üye: Doç. Dr. İlker BÜYÜK
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Atila YETİŞEMİYEN
Enstitü Müdürü

ETİK

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

13.06.2018



Türkan Bengü TAŞDAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) BİTKİSİNDE BÜYÜME DÜZENLEYİCİ
FAKTÖR (GRF) TRANSKRİPSİYON FAKTÖRÜ GEN AİLESİNİN GENOM
BOYUTUNDA *IN SILICO* TANIMLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Türkan Bengü TAŞDAN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. E. Sümer ARAS

GRF proteinleri (Growth-Regulating Factors-Büyüme Düzenleyici Faktör) ilk olarak pirinç bitkisinde keşfedilmiş ve daha sonra farklı bitki türlerinde belirlenmiştir. Ayçiçeği bitkisinde genom seviyesinde farklı gen aileleri belirlenmiş olsa da, GRF genlerinin belirlenmesine yönelik daha önce böyle bir çalışma bilgimiz dahilinde yapılmamıştır. Bu çalışmada ayçiçeği genomundaki *GRF* genleri belirlenerek her biri isimlendirilmiş ve ayçiçeği kromozomlarına yerleştirilmiştir. Belirlenen *GRF*'lerin karakterizasyonu yapılmıştır. Ayrıca motif taraması yapılarak her bir protein dizisinde yer alan motifler belirlenmiş ve filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir. HeaGRF'lerin hangi biyolojik süreçlerde yer aldığı, hücredeki lokalizasyonları ve moleküler fonksiyonları, gen ontoloji analizi yapılarak belirlenmiştir. Yapılan tez çalışmasıyla transkripsiyon faktörlerinin tanımlanmasının ve karakterizasyonunun, *Helianthus annuus* L. bitkisindeki moleküler biyolojik mekanizmaların aydınlatılması ve ıslah çalışmalarına katkıda bulunması beklenmektedir.

Haziran 2018, 58 sayfa

Anahtar Kelimeler: büyüme-düzenleyici faktör, genom boyutunda *in silico* tanımlama, ayçiçeği, *Helianthus annuus* L.

ABSTRACT

Master Thesis

GENOME-WIDE *IN SILICO* IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF THE TRANSCRIPTION FACTOR FAMILY OF GROWTH-REGULATING FACTORS (GRF) IN SUNFLOWER (*Helianthus annuus* L.)

Türkan Bengü TAŞDAN

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

Supervisor: Prof. Dr. E. Sümer ARAS

GRF (Growth-Regulating Factor) proteins were first discovered in rice and then identified in different plant species. Although different GRF gene families have been identified in different plant species at genome level, no studies were reported for sunflower plant to date, to our knowledge. In this study, the *GRF* genes that take role in the sunflower genome were determined, named and placed on the sunflower chromosomes. The determined *GRFs* were characterized, the motifs in each protein sequence were identified and phylogenetic analyzes were performed. The biological processes of HeaGRFs were described by analyzing their localizations and molecular function in the cell by gene ontology analysis. The results of the thesis study provide information about *GRF* proteins in sunflower plant by genome-wide analysis. Identification and characterization of these transcription factors are expected to contribute the future studies about illuminating the molecular mechanisms for improvement of *Helianthus annuus* L.

June 2018, 58 pages

Key Words: genome-wide *in silico* identification, growth-regulating factor, *Helianthus annuus* L., sunflower

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar insan ilişkilerinde de engin fikirleriyle yetişme ve gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. E. Sümer ARAS'a, moleküler teknikler konusunda kendilerinden çok şeyler öğrendiğim Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Fungus Biyoteknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Demet CANSARAN DUMAN'a, çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. İlker BÜYÜK'e, bilimsel çalışmaların yanında her aşamada pratik çözümleriyle bir hoca bir arkadaş olarak destek olan doktora öğrencisi Ayla BEHNEJAD KAZANCIK'a, çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar göstererek beni destekleyen başta babaannem Türkan TAŞDAN ve babam Sedat TAŞDAN olmak üzere yardımlarını esirgemeyen tüm aile üyelerime en derin duygularla teşekkür ederim.

Türkan Bengü TAŞDAN

Ankara, Haziran 2018

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

| | |
|---|-----|
| ETİK..... | i |
| ÖZET..... | ii |
| ABSTRACT | iii |
| TEŞEKKÜR | iv |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | ix |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | ix |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1 Ayçiçeği (<i>Helianthus annuus</i> L.)..... | 2 |
| 1.1.1 Tarihçe | 3 |
| 1.1.2 Sınıflandırılması | 4 |
| 1.2 Dünya ve Türkiye’de Önemi ve Üretimi..... | 4 |
| 2. TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİ..... | 9 |
| 2.1 Bitkilerde Gen Regülasyonu için Transkripsiyon Faktörleri | 9 |
| 2.2 GRF Gen Ailesi..... | 10 |
| 2.2.1 GRF transkripsiyon faktörü ailesinin yapısal özellikleri | 12 |
| 2.2.2 Yaprak büyümesinin GRF’lerle regülasyonu | 14 |
| 2.2.3 Floral organ gelişimi | 16 |
| 2.2.4 GRF’nin tohum ağırlığı ve yağ içeriği üzerindeki etkileri | 17 |
| 2.2.5 GRF’ler ve kök gelişimi | 18 |
| 2.2.6 GRF’ler ve bitki ömrü | 18 |
| 2.2.7 GRF’lerin bitki büyümesiyle ve stres cevabıyla ilişkilendirilmesi | 19 |
| 2.2.8 GIF (GRF interacting factors- GRF ile etkileşen faktörler) | 20 |
| 2.2.9 Büyük ölçekli genom duplikasyonu ve gen ayrımı (retention) ile elde edilen GRF’ler..... | 21 |
| 2.2.10 GRF’ler ve perspektif | 23 |
| 3. KAYNAK ÖZETLERİ | 24 |
| 4. MATERYAL VE YÖNTEM..... | 27 |
| 4.1 <i>Helianthus annuus</i> L. GRF Proteinlerinin Tanımlanması | 27 |
| 4.2 Korunmuş Motiflerin Belirlenmesi ve Filogenetik Analiz | 29 |
| 4.3 <i>HeaGRF</i> ’lerin Kromozomal Dağılımının ve Gen Yapısının Belirlenmesi..... | 31 |

| | |
|--|-----------|
| 4.4 <i>HeaGRF</i>'lerin Fonksiyonel Analizi | 33 |
| 5. ARAŞTIRMA BULGULARI..... | 35 |
| 5.1 Ayçiçeği Genomunda Belirlenen GRF Genleri ve Özellikleri..... | 35 |
| 5.2 <i>HeaGRF</i> Gen Ailesindeki Korunmuş Motifler..... | 38 |
| 5.3 <i>HeaGRF</i> Gen Ailesinin Filogenetik Analizi | 39 |
| 5.4 <i>HeaGRF</i>'lerin Kromozomal Lokasyonları | 41 |
| 5.5 <i>HeaGRF</i>'lerin Fonksiyonel Analizi | 42 |
| 6. TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 45 |
| KAYNAKLAR | 49 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 58 |



SİMGELER DİZİNİ

| | |
|-----|-------------|
| aa | Aminoasit |
| kDA | Kilo Dalton |

Kısaltmalar

| | |
|------------------|---|
| ANT | Aintegumenta |
| AP2 | Apetala 2 |
| AtGRF | <i>Arabidopsis thaliana</i> L. GRF |
| bHLH | A Basic Helix-Loop-Helix- Basit Heliks-Sarmal-Heliks |
| BLAST | Basic Local Alignment Tool- Basit Bölgesel Hizalama Aracı |
| BnGRF | <i>Brassica napus</i> L. GRF |
| BrGRF | <i>Brassica rapa</i> L. GRF |
| C ₃ H | Çinko-parmak motifi |
| DNA | Deoksiribonükleik asit |
| DREB2A | Dehydration Responsive Element Binding Protein 2A- Dehidrasyon Cevap Elementi Bağlanma Proteini 2A |
| ExPASy | Expert Protein Analysis System- Uzman Protein Analiz Sistemi |
| FAO | Food and Agriculture Organization of the United Nations- Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü |
| FF | Fenilalanin-Fenilalanin |
| FFD | Fenilalanin-Fenilalanin-Aspartat |
| GA | Giberellik Asit (Giberellin) |
| GIF | GRF-Interacting Factor (GRF ile etkileşen faktör) |
| GRF | Growth-Regulating Factor (Büyüme Düzenleyici Faktör) |
| HeaGRF | <i>Helianthus annuus</i> L. GRF |

| | |
|---------------|---|
| L. | Linnaeus |
| MEGA | Molecular Evolutionary Genetic Analysis- Moleküler Evrimsel Genetik Analiz |
| MEME | Multiple Em for Motif Elicitation- Çoklu Motif Bulucu |
| MiRNA | MikroRNA |
| MÖ | Milattan Önce |
| ORF | Open Reading Frame-Açık Okuma Çerçevesi |
| OsGRF | <i>Oryza sativa</i> L. GRF |
| Pfam | Protein Families Data Base-Protein Aileleri Veri Tabanı |
| QLQ | Glutamin-Lösin-Glutamin |
| Real-Time PCR | Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| RNA | Ribonükleik asit |
| SAM | Shoot Apical Meristem- Sürgün Apikal Meristem |
| SEU | Transkripsiyonel adaptör protein SEUSS |
| SMART | Simple Modular Architecture Research Tool- Basit Modüler Yapısal Araştırma Aracı |
| stm | Sürgün meristemsiz |
| SYT | Sinoviyal sarkom translokasyon proteini |
| TF | Transkripsiyon Faktörü |
| TFDB | Transcription Factor Data Base- Transkripsiyon Faktör Veri Tabanı |
| TQL | Treonin-Glutamin-Lösin |
| TÜİK | Türkiye İstatistik Kurumu |
| WRC | Triptofan-Arjinin-Sistein |
| ZmGRF | <i>Zea mays</i> L. GRF |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1.1 Ayçiçeği Bitkisi | 3 |
| Şekil 1.2 Türkiye’de ayçiçeği ekim alanları | 4 |
| Şekil 1.3 Türkiye’de yağlı tohum üretimi | 6 |
| Şekil 1.4 Türkiye’de yıllara göre Ayçiçek yağı üretimi grafiği | 7 |
| Şekil 4.1 Bitki türlerinde tanımlanmış belirli transkripsiyon faktörlerinin bulunduğu veri tabanı | 27 |
| Şekil 4.2 Ayçiçeği (Sunflower) BLAST veri tabanı | 28 |
| Şekil 4.3 SMART veri tabanı..... | 28 |
| Şekil 4.5 MEME yazılımı | 30 |
| Şekil 4.6 MEGA programı | 31 |
| Şekil 4.7 Map-Chart programı kullanılarak hazırlanan örnek bir kromozom haritası | 32 |
| Şekil 4.8 ORF bulucu..... | 33 |
| Şekil 4.9 ExPASy ProtParam aracı | 33 |
| Şekil 4.10 Blast2Go programı..... | 34 |
| Şekil 5.1 Dizide korunan QLQ ve WRC bölgeleri | 35 |
| Şekil 5.2 MEME yazılımı kullanılarak elde edilen motifler ve lokasyonları | 38 |
| Şekil 5.3 MEGA programı kullanılarak elde edilen HeaGRF filogenetik analiz..... | 40 |
| Şekil 5.4 Karşılaştırmalı filogenetik analiz..... | 41 |
| Şekil 5.5 HeaGRF genlerinin <i>Helianthus annuus</i> L. kromozomları üzerindeki yerleşimi | 42 |
| Şekil 5.6 <i>HeaGRF</i> ’lerin biyolojik işlev dağılımı | 43 |
| Şekil 5.7 <i>HeaGRF</i> ’lerin moleküler fonksiyon dağılımı..... | 43 |
| Şekil 5.8 <i>HeaGRF</i> ’lerin hücresel yerleşimi | 44 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Çizelge 1.1 Ayçiçeğinin sınıflandırılması..... | 4 |
| Çizelge 1.2 Türkiye’de 2016/2017 Sezonunda Bölgelere Göre Yağlık Ayçiçeği Ekim Alanı (hektar) (Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Bitkisel Yağlar Konferansı 2015 İstanbul | 5 |
| Çizelge 1.3 2017-2018 sezonunda beklenen <i>Helianthus annuus</i> L. ekim alanı ve üretim miktarı (Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Bitkisel Yağlar Konferansı 2015 İstanbul..... | 7 |
| Çizelge 1.4 Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Ayçiçeği Verileri..... | 8 |
| Çizelge 2.1 GRF ve GIF ile WRC-QLQ Domainlerinin Türlerine Göre Dağılımı..... | 22 |
| Çizelge 5.1 HeaGRF Gen Ailesinin Özellikleri..... | 36 |
| Çizelge 5.2 <i>HeaGRF</i> ’lerin Gen Özellikleri..... | 37 |
| Çizelge 5.3 HeaGRF Motifleri..... | 39 |

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde önemi büyük olan yağlar, hayatsal işlevlerin sürdürebilmesi için ihtiyaç duyulan ana besin maddelerinden biridir. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı olarak elde edilebilen yağlar, enerji kaynağı olarak kullanılabilirliklerinin yanı sıra, A, D, E ve K gibi vitaminleri barındırmaları, insan vücudunda bulunması gereken fakat üretilmeyen temel yağ asitlerinin kaynağı olmaları, tokluk hissi vermeleri, dışarıdan gelen etkilere karşı organları korumaları, yemeklere tat ve lezzet vermeleri sebebiyle beslenmede ayrı bir öneme sahiptir (Nas vd. 1992). Yağ eldesinde kullanılan bitkiler içerisinde tohumundan verimli ve fazla miktarlarda (% 22-55) ürün elde edilen *Helianthus annuus* L. (ayçiçeği), yüksek sıcaklık ihtiyacı olmaması, köklerinin toprağın derinlerine kadar tutunabilmelerinden dolayı susuzluğa karşı dayanıklılığı ve geniş uyum yeteneği sayesinde ülkemizin birçok yerinde sulu ve kuru şartlarda yetiştirilebilmektedir (İlbaş vd. 1996). Türkiye’de üretilen yağlı tohumlara sahip bitkiler insan beslenmesi açısından büyük öneme sahip olan ana beslenme maddesi olarak belirtilmektedir (Yurdağül ve Ersoy 1997).

Ayçiçeği tohumlarının potasyum ve E vitamini oranınca zengin olmalarının yanı sıra, linoleik asit bakımından da önemli bir besin kaynağıdır. Kandaki kolesterol seviyesinin düşürülmesine linoleik asit bakımından zengin olan yiyeceklerin etkisi bulunmaktadır (İşler 2018). Yağ eldesinden sonra geriye kalan küspesi (% 40-45) % 40'lara varan oranlarda protein içerdiği için hayvan beslenmesinde de önemli bir kaynaktır. Ayçiçeği yağ olarak kullanılmasının yanı sıra selüloz sanayisinde, çiçeği tıpta, kabuğu ise boya sanayisinde kullanılmaktadır. Ayrıca üretilen ayçiçeğinin % 2,6'sı ülkemizde çerezlik olarak tüketilmektedir (Arioğlu 2007).

Transkripsiyon faktörleri (TF'ler) gen ifadesinin ana düzenleyicileri olmalarının yanı sıra, ökaryotik genlerin yaklaşık % 4-7'sinin transkripsiyon faktörlerini kodladığı tahmin edilmektedir. Büyüme Düzenleyici Faktör (GRF/Growth-Regulating Factor) gen ailesi, bitki büyüme ve gelişmesindeki birçok işlemde önemli rol oynayan bir bitki spesifik transkripsiyon faktörü gen ailesidir (Van der Knaap vd. 2000, Kim vd. 2012, Hwezi vd. 2012, Liu vd. 2014a, Pajoro vd. 2014, Mueller-Roeber vd. 2015).

Bu gen ailesinin ilk üyelerinin *Oryza sativa* L. (pirinç) bitkisinde tanımlandığı (Van der Knaap vd. 2000) yıldan beri birçok çalışmada farklı bitki türlerinde tanımlanmaya devam edilmektedir (Zhang vd. 2008, Yang vd. 2009, Osnato vd. 2010, Kim vd. 2012, Liu vd. 2014b, Baloğlu 2014, Filiz vd. 2014, Kuijt vd. 2014, Wang vd. 2014, Büyük ve Aras 2016).

Yapılan son çalışmalarda, GRF'lerin abiyotik ve biyotik stres tepki mekanizmalarında önemli bir rol oynadığı belirlenmiş olması nedeniyle (Kim vd. 2012, Hewezi vd. 2012) ekonomik değeri yüksek ve insan hayatında ciddi bir rolü olan *H. annuus* bitkisinin abiyotik ve biyotik stres koşullarından etkilenmelerinin yol açacağı olumsuzlukları önlemek adına yapılacak olan çalışmalar önem taşımaktadır.

Teknolojinin hızlıca geliştiği bu dönemde *in silico* metotlar dünya çapında geçerliliği olan, sonuçları her araştırmacı tarafından kullanılabilen, düşük maliyetli, insan kaynaklı hataların önüne geçen bilgisayar programları ve yazılımları kullanımı sebebiyle oldukça güvenilir çalışmalardır ve yapılan *in vitro* çalışmalara veri sağlamaktadır. Sağlanan bu verilerin deneysel çalışmalarda kullanılması sonucunda bitkilerin stres yanıtı gibi farklı birçok süreçte rol oynayan ve bitkide büyük öneme sahip olan GRF transkripsiyon faktörü ailesinin ayçiçeği bitkisinde tanımlanması, ileride yapılabilecek olan çalışmalara veri sağlayacaktır.

1.1 Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.)

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), papatyagiller (Asteraceae) familyasına ait çekirdeklerinden ve yağından faydalanılmak üzere yetiştirilen sarı renk çiçekleri olan bir tarım bitkisidir (<http://www.bitkiselyag.org>, 2012).



Şekil 1.1 Ayçiçeği Bitkisi (<http://www.wallpapers-web.com>, 2016)

Türkiye’de üretimi yapılan yağlı tohumlara sahip olan bitkiler, insan beslenmesi açısından büyük önem taşıyan temel gıda maddesi olarak tanımlanmaktadır (Yurdagül ve Ersoy 1997). Ülkemizde üretimi yapılan yağlı tohumlu bitkiler arasında ayçiçeğinin yanı sıra soya, susam, yer fıstığı, haşhaş, kanola ve pamuk çiğidi gibi diğer bitkiler de yer almaktadır. Ayçiçeği ise bu yağlı tohumlu bitkiler arasında ekim alanı ve üretim miktarı en çok olan bitki olup, içerdiği yüksek (% 22-50) yağ oranı sebebiyle bitkisel kaynaklı üretim bakımından değerli bir yağ bitkisidir (Kızıloğlu 1992, Kara 1996).

1.1.1 Tarihçe

Günümüzden yaklaşık 5000 yıl önce Amerika Birleşik Devletleri’nin güney doğusunda *Helianthus annuus* L.’nin ilk kez evcilleştirildiği yaygın olarak kabul edilmesine rağmen (Blackman vd. 2011) MÖ 2600 yılı civarında Meksika’da evcilleştirildiğine dair de kanıtlar bulunmaktadır (Lentz vd. 2008). Bu bitkiler, San Andres kazı alanındaki Meksika Tabasco’da bulunmuştur.

Tam evcilleştirilmiş bir ayçiçeğinin bilinen en eski örnekleri Tennessee’de bulunmuş ve M.Ö. 2300 yılına kadar varılmıştır (Harter vd. 2004).

1.1.2 Sınıflandırılması

Çizelge 1.1 Ayçiçeğinin sınıflandırılması

| |
|---|
| Domain: Eukarya |
| Alem: Plantae |
| Bölüm: Magnoliophyta (Kapalı Tohumlular) |
| Sınıf: Magnoliopsida (İki Çenekliler) |
| Takım: Asterales |
| Aile: Asteraceae (Papatyagiller) |
| Cins: Helianthus |
| Tür: <i>Helianthus annuus</i> L. |

1.2 Dünya ve Türkiye’de Önemi ve Üretimi

Nüfusun artmasıyla birlikte beslenme, küresel çapta ve ülkemizde bir problem olarak ortaya çıkmaktadır. Bitkisel yağların insan beslenmesindeki önemi büyüktür. Ülkemizdeki bitkisel yağ üretiminde % 50 ile en büyük payı alarak üretilen yağlı bitkilerin başında gelen ayçiçeği, Trakya, Ege Bölgesi ve Karadeniz Bölgesi başta olmak üzere birçok bölgemizde yetişebilmektedir (Tan 2007).



Şekil 1.2 Türkiye’de ayçiçeği ekim alanları (Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Bitkisel Yağlar Konferansı 2015 İstanbul (<http://slideplayer.biz.tr>, 2015))

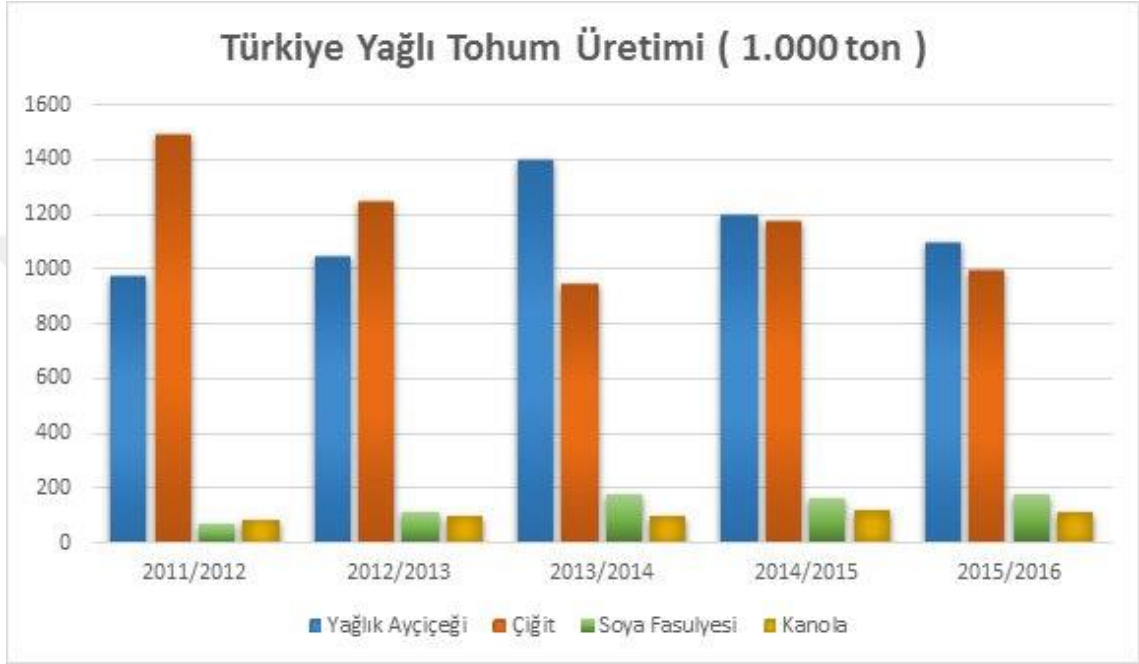
Ayçiçeği ülkemizde ve dünyada yağlık ile çerezlik olmak üzere iki tip olarak yetiştirilmektedir. Ancak bahçelerde süs bitkisi ve kesme çiçek olarak değerlendirilen tipleri de mevcuttur. Yağlık olarak kullanılmayan tipler çerezlik olarak adlandırılır. Çerezlik olanların tohumları çizgili ve büyük, yağlık tiplere göre daha kalın kabuklu olup, kabuğu çabuk ayrılmaya elverişlidir. Çerezlik ayrılan tohumları, yağlık tiplerden daha az yağ miktarına ve ağırlığa sahiptir. Çerezlik olanların iri olmayanları da, kuşyemi olarak değerlendirilmektedir. Yağlık olarak değerlendirilen ayçiçeği tipleri ise, çoğunlukla siyah renkli, kabuğu ince, linoleik ve oleik yağ asitleri bakımından zengin olan tiplerdir. Ayçiçeği yağı fazla miktarda doymamış yağ asitleri içermektedir. Doymamış yağ asitlerinden linoleik asit % 50-65 oranında bulunmakta iken, oleik asit % 25-35 arasında bulunmaktadır (Atakişi 1985).

Ayçiçeği tohumlarındaki protein oranı % 17-18'dir. Küspesindeki protein oranı ise % 30-40 arasında olması sebebiyle hayvan beslenmesinde değerli bir yem olarak yer almaktadır (Anonim 1994).

Çizelge 1.2 Türkiye’de 2016/2017 Sezonunda Bölgelere Göre Yağlık Ayçiçeği Ekim Alanı (hektar) (Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Bitkisel Yağlar Konferansı 2015 İstanbul (<http://slideplayer.biz.tr>, 2015))

| BÖLGE | EKİM ALANI (1.000 hektar) (2015/16) | EKİM ALANI (1.000 hektar) (2016/17) |
|---------------------|---|---|
| TRAKYA | 335 | 350 |
| İÇ ANADOLU | 45 | 65 |
| KARADENİZ | 35 | 25 |
| ÇUKUROVA | 60 | 65 |
| GÜNEY MARMARA | 25 | 25 |
| DİĞER (GAP,EGE vb) | 8 | 20 |

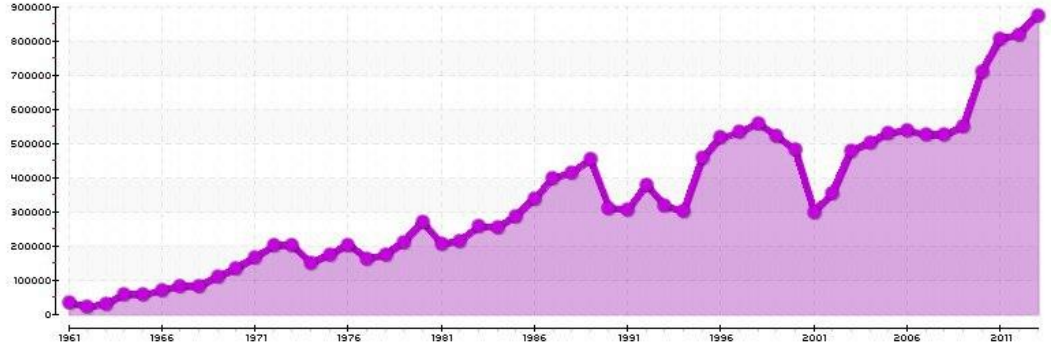
Tohumlarında % 40-50 civarında yağ içeren *Helianthus annuus* L. bitkisi ülkemizde yetiştirilen yağlı tohumlu bitkiler içerisinde birinci sırada yer almaktadır. Ayçiçeği, yağında bulunan yüksek miktardaki linoleik yağ asidin kurumayı hızlandırıcı özelliği sayesinde, boya sanayisinde önem taşımaktadır. Ayrıca hammadde olarak da kağıt, plastik, sabun ve kozmetik ürünler yapımında kullanılmaktadır (Arıoğlu 2007).



Şekil 1.3 Türkiye’de yağlı tohum üretimi (Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Bitkisel Yağlar Konferansı 2015 İstanbul (<http://slideplayer.biz.tr>, 2015))

Ayçiçeği yalnızca ülkemizde değil, dünyada da en önemli yağ bitkileri arasında yer almaktadır. Ülkemizde genellikle yağlık olarak yetiştirilmektedir. Dünya *H. annuus* üretimi son yıllarda 23 milyon ton civarında olup, Türkiye üretimde ve ekim alanlarında ilk on ülke arasında bulunmaktadır. Ülkemizde yağlık ayçiçeği üretimi, genelde Trakya-Marmara Bölgesi’nde yoğunlaşmış iken, çerezlik üretimi ise, çoğunlukla İç ve Doğu Anadolu Bölgesi’nde, diğer bölgelerimizde de az miktarda yapılmaktadır (Kaya 2013).

Türkiye - Ayçiçek yağı - Üretim (Ton)



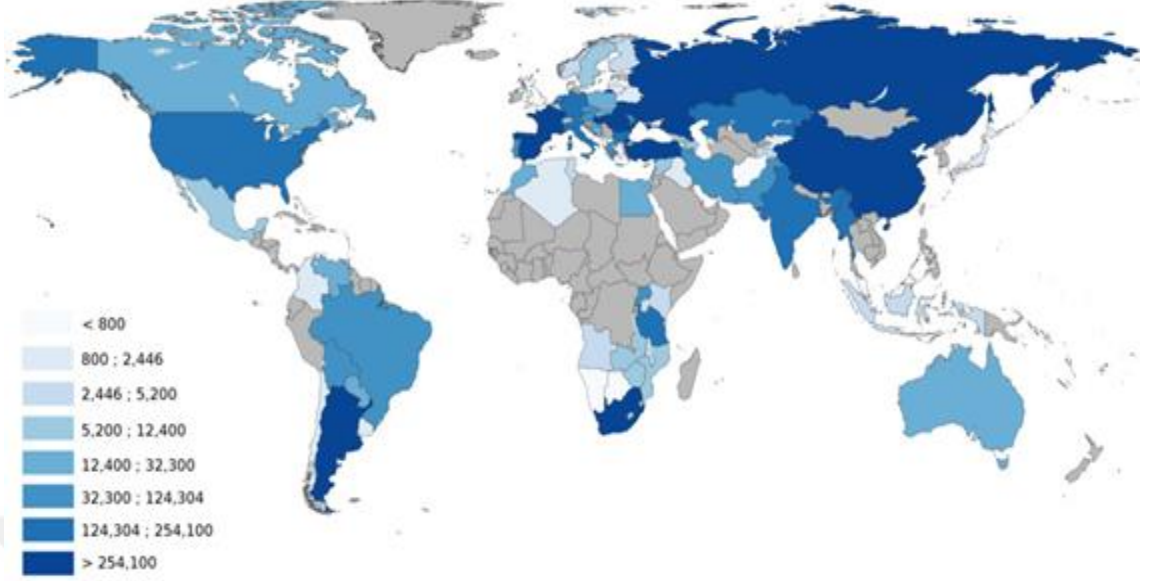
Kaynak : FAO
Yıl : 2016

Şekil 1.4 Türkiye’de yıllara göre Ayçiçek yağı üretimi grafiği (<https://en.actualitix.com>, 2016)

Çizelge 1.3 2017-2018 sezonunda beklenen *Helianthus annuus* L. ekim alanı ve üretim miktarı (Yağlı Tohumlu Bitkiler ve Bitkisel Yağlar Konferansı 2015 İstanbul (<http://slideplayer.biz.tr>, 2015))

| BÖLGE | EKİM ALANI (HEKTAR) | ÜRETİM MİKTARI (TON) |
|------------|-----------------------|------------------------|
| TRAKYA | 375.000 | 750.000 |
| İÇ ANADOLU | 110.000 | 325.000 |
| ÇUKUROVA | 75.000 | 175.000 |
| KARADENİZ | 60.000 | 120.000 |

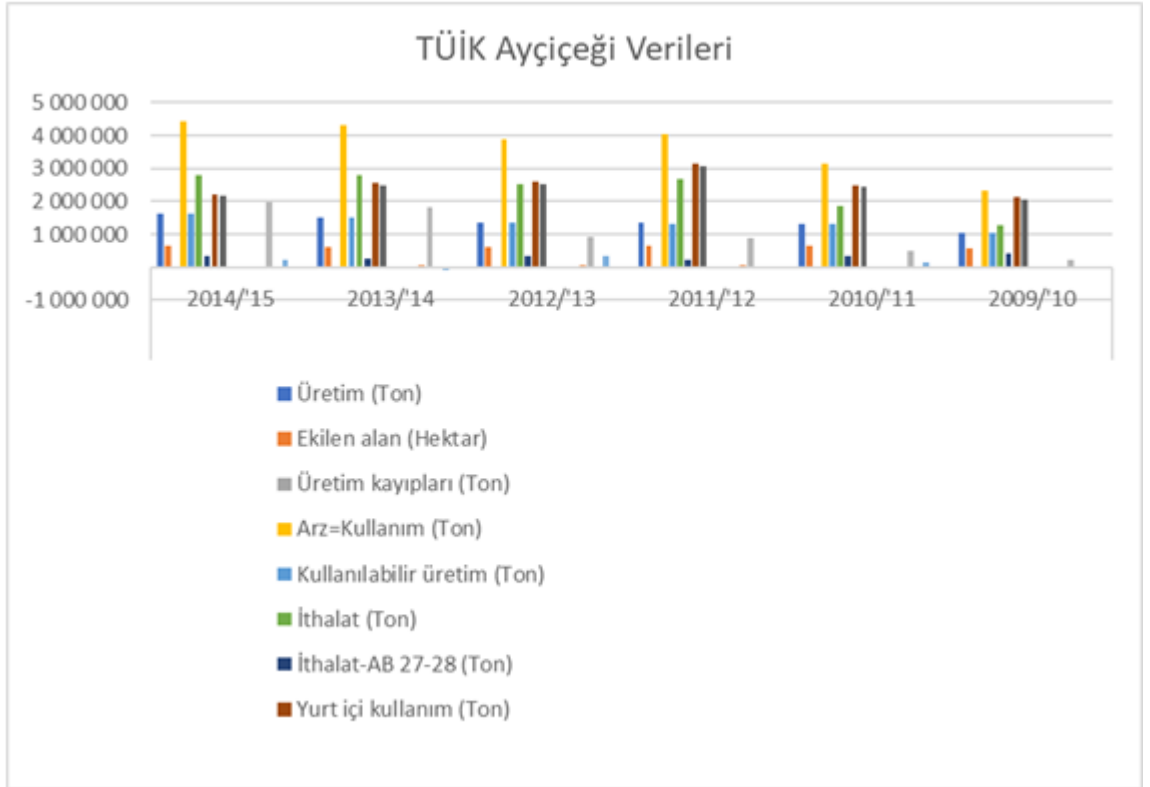
Ayçiçek yağı - Üretim (Ton)



Kaynak : FAO - 2013

Şekil 1.5 Dünya’da Ayçiçeği Yağı Üretimi (<https://en.actualitix.com>)

Çizelge 1.4 Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Ayçiçeği Verileri (<http://www.tuik.gov.tr>)



2. TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİ

DNA molekülünde kodlanan genetik bilginin ifadesine yani anlamlı hale getirilip yorumlanmasına veya bu bilginin kullanılmasına gen ifadesi denir. Transkripsiyon faktörleri DNA'nın belirli bölgelerine bağlanarak genin ifade düzeylerine etki eder ve genlerin etkileşimi için oldukça önemlidir. Evrim sürecinde etkili bir rol oynadığı düşünülen bu faktörlerin bağlanma bölgelerinde herhangi bir mutasyon ya da ifadeyi engelleyici bir varyasyon meydana geldiğinde, o genin ifadesi tamamen ortadan kalkabilmektedir. Bu durum gerekli olan proteinin sentezlenmesine engel oluşturmaktadır. Sonuç olarak canlıda hem moleküler hem de fenotipik düzeyde köklü değişikliklere sebep olabilmektedir (Tufan 2013).

Transkripsiyon faktörleri (TF'ler) gen ifadesinin ana düzenleyicileri olmalarının yanı sıra, ökaryotik genlerin yaklaşık % 4-7'sinin transkripsiyon faktörlerini kodladığı tahmin edilmektedir. Transkripsiyonel düzeyde, gen ifadesini koordine etmek için transkripsiyon faktörlerinin güçlendiriciler ile etkileşime girmesi son on yılda yapılan çalışmalarda net şekilde ortaya koyulmuştur (Yu ve Gerstein 2006, Osorio 2016). Bu durum, bitki sisteminde çok çeşitli rol oynayan transkripsiyon faktörü ailelerini saptamaya yönelik olarak yapılan çalışmalarda da açıkça gösterilmiştir (Duval vd. 2014).

Günümüze kadar 165 bitki türünde yapılan çalışmalarda, 320.370 üyesi bulunan 58 transkripsiyon faktörü ailesi belirlenmiştir (Jin vd. 2017).

2.1 Bitkilerde Gen Regülasyonu için Transkripsiyon Faktörleri

Transkripsiyon faktörleri, gen ifadesinin düzenlenmesi için gereklidir ve genellikle çoklu gen ailelerinin mensuplarına aittir (Salih vd. 2016). Genellikle transkripsiyon faktörleri, hedef genlerinin *cis* elementleri ile etkileşime giren DNA bağlama alanı bulunan modüler proteinler içermektedirler (Boeva 2016, Orenstein ve Shamir 2016). Birçok transkripsiyon faktörü, X-ışını Kristalografisi ve Nükleer Manyetik Rezonans

Spektroskopisi ile yapısal olarak tanınmıştır (Dantas vd. 2014, Pecanova ve Farkas 2016). Transkripsiyon faktörü aileleri, ekson tutma, duplikasyon, translokasyon ve mutasyon gibi etkilerle değişebilmektedirler (Edger ve Pires 2009, Sharma vd. 2013) ve transkripsiyon faktörleri, bitkilerde büyüme, gelişme, metabolizma, üreme ve farklılaşma gibi biyolojik işlemleri düzenlemektedirler (Kim ve Tsukaya 2015).

Bitkilerde, transkripsiyon faktörü genlerinin düzenlenmesi transkripsiyonel seviyede ve transkripsiyon sonrası seviyelerde gerçekleşmektedir (Liu vd. 1999, Lelli vd. 2012, Payne ve Wagner 2015). Genetik sisteme, gelişim kontrolü, savunmanın ortaya çıkarılması, genin doğru zamanda ve doğru yerde ifade edilmesiyle stres tepkileri gibi birçok yolla katılmaktadırlar (Levine ve Davidson 2005, Shiu vd. 2005, Wang vd. 2016, Wong vd. 2016, Zhang vd. 2016). Dolayısıyla, transkripsiyon faktörlerinin ifadesinin etkinliğini anlamak, düzenleyici ağlar oluşturmak için önem teşkil etmektedir.

Transkripsiyon faktörlerinin etki biçiminin, hedef genlerinin promotor bölgelerinde bulunan *cis*-düzenleyici elemente bağlanması ile gerçekleştiği düşünülmektedir (Bilas vd. 2016). Tek bir transkripsiyon faktörü, belirli metabolik yollardaki birçok geni düzenleme yeteneğine sahip olabilmektedir (Hao vd. 2011, Pireyre ve Burow 2015). Ayrıca, yapılan çalışmalarda gen transkripsiyonundaki değişikliklerin, transkripsiyon faktörü ifadesindeki değişikliklerle yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (Yan vd. 2013). Sonuç olarak, transkripsiyon faktörü genlerinin ifadesindeki değişikliklerin, normal bitki büyümesi ve gelişimi sırasında dikkate değer değişikliklere neden olduğu anlaşılmaktadır (Li vd. 2015). İleride yapılabilecek çalışmalarla transkripsiyon faktörleri, genetik mühendisliğinin bir sonucu olarak, bitkilerde istenen özelliklerin manipüle edilmesi için değerli bir araç sağlayabilecektir (Pandey vd. 2014, Wang vd. 2016).

2.2 GRF Gen Ailesi

Büyüme düzenleyici faktör (GRF) ailesi, küçük, bitki özgün bir transkripsiyon faktörü ailesidir. Milenyumun ilk yıllarında *Oryza sativa* L.'de ifade edilen bitki hormonu gibberellin (GA) genleri ile yapılan bir çalışma sırasında belirlenmiştir ve *Oryza sativa*

L. büyüme düzenleyici faktör 1 (OsGRF1) olarak isimlendirilmiştir (Van der Knaap vd. 2000).

GRF ailesindeki proteinler, N-Terminal bölgesinde evrimsel olarak korunmuş QLQ (Glutamin-Lösin-Glutamin) ve WRC (Triptofan-Arjinin-Sistein) motiflerini içermektedir (Van der Knaap 2000, Kim vd. 2003, Choi vd. 2004). QLQ motifi taşıyan proteinler tüm ökaryotlarda bulunurken, WRC, DNA'ya bağlanabilen, işlevsel bir nükleer lokalizasyon sinyaline ve bir çinko-parmak motifine (C₃H) sahip olan bitki spesifik bir motiftir (Kim vd. 2003).

QLQ motifi, protein-protein etkileşimi, *Arabidopsis*'te hücre çoğalması ve üreme organlarının gelişimi gibi rollere sahiptir (Kim ve Kende 2004, Choi vd. 2004).

TQL (Treonin-Glutamin-Lösin) ve FFD (Fenilalanin-Fenilalanin-Aspartat) C-terminal bölgede yer alan, GRF üyeleri arasında yarı korunum gösteren diğer motiflerdir ve bu motiflerin varlığı, bitki spesifik doku ve organlarında GRF protein fonksiyonunda çok etkilidir (Van der Knaap 2000, Kim vd. 2003, Choi vd. 2004, Ahmadi vd. 2014).

GRF üyelerinin C-terminal bölgeleri, aminoasit kalıntılarının bileşimi ve sayısı bakımından oldukça değişken olması nedeniyle birbirlerine sınırlı benzerlikler göstermektedirler. GRF proteinlerinin molekül boyutları, esas olarak C-terminali uzunluğuna bağlı olarak, 20 kDa ve 60 kDa arasında değişmektedir (Kim ve Tsukaya 2015).

Gerçekleştirilen ilk çalışmalarda GRF'lerin fonksiyonunun yaprak ve kök gelişimiyle sınırlı olduğu görülse de (Van der Knaap vd. 2000, Kim vd. 2003, Horiguchi vd. 2005, Kim ve Lee, 2006) son çalışmalar çiçeklenme, tohum ve kök gelişimi, stres koşullarında büyümenin kontrolü ve bitki ömrünün düzenlenmesi gibi bitki biyolojisinin diğer yönleri üzerindeki GRF'lerin işlevlerini ortaya çıkarmıştır (Hewezi vd. 2012, Kim vd. 2012, Bao vd. 2014, Debernardi vd. 2014, Liang vd. 2014, Liu vd. 2014b, Pajoro vd. 2014).

GRF transkripsiyon faktörü ailesi, *Arabidopsis thaliana* L., *Brassica napus* L. (kanola), *Glycine max* L. (soya fasulyesi), *Solanum tuberosum* L. (patates), *Oryza sativa* L. (pirinç), *Zea mays* L. (mısır), *Physcomitrella patens* L., *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) dahil birçok bitki türünde deneysel veya *in silico* olarak tanımlanmıştır (Zhang vd. 2008, Yang vd. 2009, Osnato vd. 2010, Kim vd. 2012, Liu vd. 2012a, Baloğlu 2014, Filiz vd. 2014, Kuijt vd. 2014, Wang vd. 2014, Büyük ve Aras 2016) ve tanımlanmaya devam etmektedir.

2.2.1 GRF transkripsiyon faktörü ailesinin yapısal özellikleri

GRF gen ailesinin tanımlanan ilk üyesi olan OsGRF1 (*O. sativa* L. GRF1, Van der Knaap vd. 2000) interkaler meristem internodlarında giberellin tarafından indüklenen gen olarak keşfedilmiştir. *Arabidopsis*'de OsGRF1'in ektojik olarak ifadesi, kök gelişiminde bozulmaya neden olmaktadır ve bu durum giberellin kaynaklı kök uzamasında düzenleyici bir rol oynadığını düşündürmektedir (Mueller-Roeber vd. 2015).

OsGRF1 proteini, hem pirinç hem de diğer bitkilerde, homolog proteinlerde (Çoğunlukla molekül ağırlıkları yaklaşık 40-60 kDa aralığında olan) korunan bölgeler içermektedir. Bunlardan biri olan QLQ (Glutamin, Lösin, Glutamin) bölgesi, çoğunlukla hacimli aromatik/hidrofobik amino asitlerin eşlik ettiği bir motiftir (Van der Knaap vd. 2000, Kim vd. 2003, Choi vd. 2004, Zhang vd. 2008). Bu aminoasit bölgeleri QLQ için bir protein-protein etkileşim alanı olarak işlev görmesi açısından önem teşkil etmektedir (Van der Knaap vd. 2000). QLQ motifi, *Saccharomyces cerevisiae* 'nin SWI2/SNF2 proteininde de mevcut olup, burada QLQ motifinin, kromatin yeniden şekillendirme ile ilgili bir kompleks oluşturmak üzere diğer proteinler ile etkileşimi kolaylaştırmaktadır (Treich vd. 1995).

Bir diğer korunan bölge olan WRC (Triptofan-Arjinin-Sistein) C₃H(çinko-parmak) motifi ile kombinasyon halinde bulunmaktadır. Proteinin bu bölümünün DNA'ya bağlanmada ve transkripsiyon faktörünün çekirdeğe hedeflenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (Raventos vd. 1998, Van der Knaap vd. 2000, Kim vd. 2003, Choi vd.

2004, Zhang vd. 2008). QLQ ve WRC motifleri GRF'lerin N-terminal bölümünde lokalizedir. QLQ motifli proteinler tüm ökaryotlarda bulunmalarına rağmen, WRC bitki spesifik bir motifi temsil etmektedir. Bir diğer daha az korunan motif olan TQL (Treonin-Glutamin-Lösin) ise OsGRF1'in C-terminal bölümünde lokalizedir (Van der Knaap vd. 2000).

OsGRF1'e benzer olarak, *Arabidopsis thaliana* L.'nin 9 üyesinin tamamı N-terminal bölgede korunmuş olan QLQ ve WRC motiflerini barındırmaktadır (Kim vd. 2003).

AtGRF9, *Brassica rapa* L.'de bulunan BrGRF12'dekine benzer olarak ikinci bir WRC bölgesi içermektedir (Wang vd. 2014). Diğer türlerdeki GRF homologlarının büyük çoğunluğunun da QLQ ve WRC motiflerinin her ikisini de içerdiği görülmüştür (Mueller-Roeber 2015). Ancak bazı türlerde QLQ ve WRC motiflerinin her ikisinin ya da bir tanesinin bulunmadığı görülmüştür. Bu tür motiften yoksun olan genlerin işlevsel olup olmadığı ve karakterize edilen GRF'lerle benzer rollere sahip olup olmadıkları henüz bilinmemektedir (Mueller-Roeber vd. 2015).

GRF'lerde korunan N-terminal bölgelerinin aksine, C-terminal kısımları değişkendir ve yalnızca düşük ile orta derece benzerlik göstermektedirler. *Arabidopsis*'te en az benzerlik AtGRF7 ile AtGRF8 arasında % 17 ve AtGRF5 ile AtGRF6 arasında ise % 16 oranıyla görülmektedir. Benzerliği en yüksek olanlar ise C-terminal bölgelerinde % 54 özdeş amino asitleri olan AtGRF3 ve AtGRF4 ile % 44 özdeş amino asit içeren AtGRF1 ve AtGRF2'dir. AtGRF9, bu bölgede ilave WRC motifine sahip yapısı nedeniyle, ayrı bir üyeyi temsil etmektedir. QLQ ve WRC motiflerine ilaveten, AtGRF'lerin C-terminal bölgesinde TQL motifi de bulunmaktadır. Bu motif *Arabidopsis*'te AtGRF1, AtGRF2, AtGRF3 ve AtGRF4'te, *Oryza sativa* L.'de OsGRF1, OsGRF2, OsGRF3, OsGRF4 ve OsGRF5'te mevcuttur (Van der Knaap vd. 2000, Kim vd. 2003, Choi vd. 2004). GRF'lerde görülen bu motiflerin hangi işlevlerle ilişkili olduğu tam olarak belirlenememiştir (Moeller-Roeber vd. 2015).

2.2.2 Yaprak büyümesinin GRF'lerle regülasyonu

Arabidopsis bitkisinde yapılan çalışmalar, GRF'lerin hücre çoğalmasının yoğun olduğu büyüyen bölgelerde başta olmak üzere, köklerin ve sürgünlerin farklı bölümlerinde, ifade edildiğini göstermektedir (Kim vd. 2003, Horiguchi vd. 2005, Kim vd. 2012, Bao vd. 2014, Liang vd. 2014, Pajoro vd. 2014). Yapılan RNA jel-blot ve kantitatif RT-PZR (Real-Time PCR/Gerçek-Zamanlı PZR) analizleri, bitki yaşının artmasıyla AtGRF ifade seviyelerinin düştüğünü göstermektedir (Kim vd. 2003, Rodriguez vd. 2010). Dolayısıyla, GRF'lerin büyüyen dokularda daha fazla ifade edildiği görülmektedir (Kim vd. 2003, Horiguchi vd. 2005, Rodriguez vd. 2010).

AtGRF1, AtGRF2 ve AtGRF3'te gözlemlenen ifade değişimi, yapraklarda ve kotiledonlarda fenotipik değişikliğe neden olmaktadır. Bu durum genlerin yaprak ve kotiledon gelişiminde rol aldığını düşündürmektedir (Kim vd. 2003). AtGRF1, AtGRF2 ve AtGRF3'ün tek gen fonksiyon kaybı mutantları ile yapılan çalışmada net bir fenotipik değişiklik oluşmadığı gözlemlendiği halde sadece, mutasyona uğratılmış tipin yabancı tiple karşılaştırılması sonucunda daha küçük ve dar yaprak ile kısa petiole sahip bitkilerin geliştiği gözlenmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada, Debernardi vd. (2014) ilk yaprak çiftinin % 15 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar, AtGRF1 ve AtGRF2 genlerinin bireysel olarak aşırı ifadesinin, kontrol gruplarından daha fazla sayıda yaprağa neden olduğunu göstermiştir. Yüksek GRF ifadesinden kaynaklanan değişmiş organ boyutları, hücre sayısından ziyade hücre boyutunda bir artışa bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Ortaya çıkan sonuç bu GRF'lerin yapraklardaki hücre genişlemesini düzenlediğini düşündürmektedir (Kim vd. 2003). Debernardi vd. (2014) ek olarak, Kim ve Kende (2004) tarafından da, yaprak gelişimi sırasında hücre proliferasyonunun düzenlenmesi için AtGRF1, AtGRF2 ve AtGRF3'ün rol oynadığı bildirilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada, AtGRF1, AtGRF2, AtGRF3 ve AtGRF4 mutantlarının daha küçük yaprak alanları geliştirdiği belirlenmiştir (Kim vd. 2003, Kim ve Lee 2006, Gonzalez vd. 2009, Debernardi vd. 2014). Ayrıca, bu dörtlü mutant bitkilerin büyük bir kısmı fincan şeklinde kotiledonlar göstermiştir ve önemli miktarda bitkinin de apikal meristemden yoksun olduğu görülmüştür (SAM (Shoot Apical Meristem), Sürgün meristemsiz/ stm mutantına benzer) (Kim ve Lee 2006).

Gerçekleştirilen çalışmalarda, AtGRF4'ün yalnızca yapraklardaki hücre çoğalması üzerinde değil, aynı zamanda kotiledonların ve SAM'ın embriyonik gelişimi üzerinde de etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Kim ve Lee 2006).

AtGRF'lerin rolleri kısmen örtüşmüş gibi görünse de, AtGRF5'in fonksiyonu ailenin diğer üyeleri tarafından üstlenilememektedir (Horiguchi vd. 2005, Debernardi vd. 2014). AtGRF5'in aşırı ifade edilen hatları, AtGRF1 ve AtGRF2'nin aksine, artmış hücre sayısına sahip olan, daha büyük yaprak alanları göstermektedir. Ayrıca AtGRF5 mutasyonu sonucunda, azalan hücre sayısının bir sonucu olarak yabancı tip ile karşılaştırıldığında daha dar yaprak geliştirmiş olduğu görülmektedir (Horiguchi vd. 2005).

Yapılan ilk çalışmalarda AtGRF9'un hücre çoğalmasında küçük bir rolü olduğu düşünülmeye karşın (Horiguchi vd. 2005), takip edilen çalışmalarda bu genin yaprak boyutunun belirlenmesine de katkıda bulunduğu anlaşılmıştır (Arvidsson vd. 2011, Mueller-Roeber vd. 2015).

GRF gen ailesinin işlevlerini anlamaya yönelik yapılan farklı bir çalışmada miR396a ve miR396b, post-transkripsiyonel olarak baskılanan gen ifadesi ile yaprak büyümesinde ve gelişiminde önemli bir role sahip olduğu anlaşılmıştır (Liu vd. 2009, Rodriguez vd. 2010). Wang vd. (2011), yaprak morfogenezi sırasında adaksiyal abaksiyal (Ad-Ab) polaritesi oluşumu için de miR396 hedefli AtGRF'ler tarafından kontrol edilen hücre proliferasyonunun gerekli olduğunu bildirmiştir. Ad-Ab polarite, SAM'a göre konum baz alınarak belirlenmektedir. SAM'a yakın hücreler adaksiyel bölgeye doğru ayrılırlar ve SAM'den uzak olan hücreler, abaksiyel alan haline gelir ve bu da yapraklarda iki yüzlü bir yapı meydana gelmesini sağlar (Mueller-Roeber vd. 2015).

Arabidopsis'e benzer şekilde, *Oryza sativa* L.'de GRF'lerin (OsGRF'ler) ifadesi, SAM dahil aktif olarak büyüyen yaprak primordiasında ve genç yapraklarda daha fazladır (Kim vd. 2003, Choi vd. 2004, Bao vd. 2014).

Yaklaşık olarak tüm C-terminal bölgesi eksik ve N-terminal bölgesinde korunmuş QLQ ve WRC motiflerini içeren bir GRF proteinini kodlayan *Zea mays* L.'de (mısır) farklı bir durum mevcuttur. Yaptıkları bir çalışmada Wu vd. (2014) yapraklarda hücre çoğalmasını pozitif regüle eden GRF'lerin aksine ZmGRF10'un *Zea mays* L.'de aşırı ifadesinin, hücre çoğalmasını sınırlayarak yaprak boyutunda azalmaya neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Yapılan çalışmalar göz önüne alındığında ZmGRF10'un büyüme kontrolünde çeşitli hücresel mekanizmalarla etkileşim gösterdiği sonucuna varılmaktadır (Wu vd. 2014).

Brassica rapa L. ssp. *pekinensis*'te (Çin lahanası) 17 adet GRF bildirilmiştir (Wang vd. 2014). BrGRF3 ve BrGRF14 hiçbir dokuda ifade edilememektedir. Bu genler dışındaki tüm BrGRF'ler çoğunlukla genç yapraklarda ifade edilmektedir ve yaşlı yapraklarda ifadesi daha düşük seviyelerdedir. Genç ve yaşlı yapraklar arasında en fazla ifade farklı BrGRF8'de tespit edilmiştir. Elde edilen bu veriler, *Brassica rapa* L.'deki GRF'lerin genç yapraklar ile çiçeklerin büyümesini ve gelişimini kontrol etmede önemli işlevleri olduğunu göstermektedir. BrGRF16'nın en güçlü ifadesinin köklerde gerçekleştiğinin belirlenmesiyle kök gelişimindeki işlevi de tespit edilmiştir. BrGRF8'in aşırı ifadesiyle tetiklenen moleküler mekanizmalar henüz belirlenmemiştir (Wang vd. 2014).

2.2.3 Floral organ gelişimi

GRF'ler ile floral organ gelişimi arasındaki ilişkiyi ortaya koymaya yönelik olarak yapılan araştırmalar incelendiğinde, çiçek gelişiminde GRF'lerin ve miR396'nın etkisinin olduğu görülmektedir. Pajoro vd. (2014) çalışmalarında *Arabidopsis*'te çiçek oluşumunda miR396a'nın rolü olduğunu ortaya koymuşlardır. Farklı bir çalışmada ise miR396/GRF düzenleyici ağının, pistilin normal gelişimi için gerekli olduğu belirlenmiştir (Liang vd. 2014).

Apetala 2 tipi (AP2-tipi) transkripsiyon faktörü AINTEGUMENTA (ANT) ve transkripsiyonel adaptör protein SEUSS (SEU), yumurta oluşumu için kritiktir. Öyle ki *seu/ant* çift mutant bitkiler yumurta primordiyasını başlatamamaktadırlar. Yapılan çalışmalar iki transkripsiyon düzenleyicisinin gelişim sürecinde sinerjistik bir şekilde

hareket ettiğini göstermektedir. Wynn vd.'nin transkriptomik çalışması (2011) yumurta primordiyasının oluşturulmasında GRF'lerin önemli işlevlerinin bulunduğunu saptamışlardır. Yapılan bu çalışmalar, yumurta oluşumu sırasında AtGRF'ler tarafından kontrol edilen gen düzenleyici ağın varlığının kaçınılmazlığını ortaya koymaktadır (Mueller-Roeber vd. 2015).

OsGRF6'nın yanı sıra OsGRF4 ve OsGRF10'un da genç çiçek ifadesinin fazla olduğu *Oryza sativa* L.'de, çiçek organ gelişimine GRF'lerin katılımı Liu vd. tarafından yapılan çalışmada (2014) gösterilmiştir. miR396d, miR396 ailesinin monokotil spesifik bir üyesini temsil etmektedir (Jones-Rhoades ve Bartel, 2004, Sunkar vd. 2005, Hewezi vd. 2008, Sunkar ve Jagadeeswaran, 2008, Liu vd. 2009). OsGRF11 hariç diğer OsGRF'ler OsmiR396d için hedef sekanslara sahiptir ve bu nedenle aşırı ifadeleri, çoğu OsGRF'nin (OsGRF9, OsGRF11 ve OsGRF12 hariç) regülasyonunda belirgin bir azalmayla sonuçlanmaktadır (Li vd. 2010, Liu vd. 2014a).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde, çiçek oluşumunun altında yatan mekanizmalardan en azından birinin OsGRF'leri (muhtemelen OsGRF6 olduğu düşünülmektedir), OsGIF'leri ve miR396d'yi içeren bir ağ aracılığıyla kontrol edildiği sonucuna varılmaktadır (Liu vd. 2014b).

Tüm bu kanıtlar göz önüne alındığında, GRF'lerin çiçek gelişimi ve çiçeklenme zamanının kontrolünde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Van der Knaap vd. 2000, Kim vd. 2003, Luo vd. 2005, Liu vd. 2014a, Pajoro vd. 2014).

2.2.4 GRF'nin tohum ağırlığı ve yağ içeriği üzerindeki etkileri

Liu vd. (2012) *Brassica napus* L. (kanola) bitkisinde yaptıkları çalışmada tohum yağ içeriği farklı olan iki çeşidi karşılaştırarak, yüksek yağlı tohumların ovüllerinde, düşük yağlı tohumlardan elde edilene kıyasla daha yüksek seviyelerde ifade edilen BnGRF2a adı verilen bir GRF geni keşfetmişlerdir ve BnGRF2a'nın, kloroplast/fotosentez ile ilgili genlerin ifadesini tetiklediği sonucuna varmışlardır.

BnGRF2'nin ifadesinin farklılık göstermesi sonucunda fenotipik değişikliklere yol açması, tohum oluşumu sırasında bitkinin gelişimsel ve metabolik ihtiyaçlarını düzenlediğini göstermektedir. Bu nedenle, BrGRF2 ifadesini kontrol eden düzenleyici mekanizmayı ortaya çıkarmak önem taşımaktadır (Mueller-Roeber vd. 2015).

2.2.5 GRF'ler ve kök gelişimi

GRF'lerin farklı bitki türlerinin köklerinde ifade edildiği, kök gelişimi veya fizyolojik süreçlerde rolü olduğu yapılan birçok çalışmada gözlemlenmiştir (Kim vd. 2003, Luo vd. 2005, Hewezi vd. 2012, Hewezi ve Baum 2012, Bazin vd. 2013, Bao vd. 2014).

Deneyisel kanıtlardaki bulgular, *Arabidopsis* köklerinde en yüksek ifadeyi AtGRF1 ile AtGRF3'ün gösterdiğini ve miR396'nın normal kök büyümesi için gerekli olduğunu göstermektedir (Hewezi vd. 2012). Yakın zamanda tanımlanmış olan miR396 hedefi, bHLH74 (basit heliks-sarmal-heliks 74) olarak saptanmıştır (Debernardi vd. 2012). bHLH74'in aşırı ifadesinin daha uzun köklere yol açtığı belirlenmiştir (Bao vd. 2014). Bu nedenle, GRF'ler ve bHLH74'ü de içeren ve miR396 tarafından yönetilen bir düzenleyici ağın, kök büyümesi ve gelişimde merkezi bir işleve sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Mueller-Roeber vd. 2015).

2.2.6 GRF'ler ve bitki ömrü

Yaprak ve çiçek gelişiminin farklı yönlerindeki işlevlerine ek olarak, GRF'ler ayrıca bitki ömründe de düzenleyici rol oynamaktadır. Debernardi ve vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada, miR396'yı aşırı ifade eden *atgrf3* ve *atgrf5* mutantlarının veya transgenik *Arabidopsis* bitkilerinin erken yaşlanma sergilerken, GRF3'ün miR396'ya dirençli bir versiyonu olup AtGRF5'i daha etkili bir şekilde ifade eden hattının (*rGRF3*) yaprak yaşlanmasında net bir gecikme gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca, yaprak boyunun belirlenmesinin ve yaşlanmanın iki ayrı süreç olduğunu, yaprakların uzun ömürlülüğünün hücre çoğalmasındaki değişikliğin bir sonucu olmadığını

göstermişlerdir. Ancak günümüzde, bu uzun ömürlülüğün altında yatan moleküler mekanizmalar henüz saptanamamıştır (Mueller-Roeber 2015).

2.2.7 GRF'lerin bitki büyümesiyle ve stres cevabıyla ilişkilendirilmesi

Stresli koşullardan kaçabilecek çoğu hayvanın aksine, bitkiler, yaklaşmakta olan stresle doğrudan tohumlarının çimlendiği yerde başa çıkan sesil organizmalardır. Bu durumun bir sonucu olarak, bitkilerin büyümesi stres altında sıklıkla bozulmaktadır. Bu amaçla bitkiler sıklıkla kombinasyon halinde gelen çeşitli stres türlerinden korunmalarına yardımcı olan gelişmiş sinyalizasyon ve savunma sistemleri geliştirmişlerdir. Savunma tepkileri önemli miktarda metabolik girdi ve enerji gerektirmektedir. Birçok çalışma, stresle ilişkili genlerin, örn. DREB2A (DEHIDRATATION-RESPONSIVE ELEMENT BINDING PROTEIN 2A / Dehidrasyon-Cevap Elementi Bağlanma Proteini 2A), aynı zamanda bitki büyümesini engelleyerek strese karşı bitki toleransını arttırdıklarını ortaya koymuştur (Heidel vd. 2004, Sakuma vd. 2006). Bu bağlamda GRF'lerin bitki büyümesini savunma sinyali ve stres tepkileriyle koordine etmede işlev sahibi olduğu gösterilmiştir (Liu vd. 2008, Hewezi vd. 2012, Kim vd. 2012, Casadevall vd. 2013, Casati 2013, Liu vd. 2014b).

Evrim süresince bitkiler, normal koşullar altında stresle ilişkili genlerin ifadesini baskılamak için farklı mekanizmalar geliştirmişlerdir. Örneğin *Arabidopsis*'te AtGRF7, stressiz koşullar altında gelişmekte olan yapraklarda, bazı çiçek dokularında ve yaprak damarlarında ifade edilirken, kotiledonlarda ifadesi daha az olmaktadır (Kim vd. 2012). AtGRF7, yabancı tipte bitki büyüme oranını korumak için DREB2A ifadesini baskılamaktadır. Bu bulgular, stres dışı koşullar altında strese duyarlı genlerin bir represörü olarak AtGRF7'nin rolünü vurgulamaktadır (Kim vd. 2012).

GRF'ler, sadece abiyotik stres ile ilişkili süreçlerde değil, biyotik stresle ilişkili süreçlerde de önemli bir rol oynamaktadır. Bir bitki-parazitik kist nematodu olan *Heterodera schachtii*, *Arabidopsis*'te sınısityumun (yüzlerce kök hücrenin füzyonuyla oluşturulan nematodların beslenme kaynağı) başlatılmasını ve devamlılığını kontrol etmek için bitkinin düzenleyici miR396/GRF modülünü kullanmaktadır. Transgenik

Arabidopsis bitkilerinde miR396a veya miR396b'nin aşırı ifadesi, beklendiği gibi, GRF hedeflerinin transkripsiyon seviyelerini düşürmektedir ve nematod enfeksiyonuna karşı hasar görmeyi azaltmaktadır (Hewezi vd. 2012).

Szakasits vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada 7225 genin sınırlı formundayken ifadesinde değişiklik olduğu belirlenmiştir. Hewezi vd. (2012) tarafından yapılan başka bir çalışmada da birçok genin ifadesinin değiştiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar AtGRF1 ve AtGRF3'ün bu süreçteki rolünü destekler niteliktedir (Mueller-Roeber 2015).

Yapılan son çalışmalar, AtGRF1 ile AtGRF3'ün savunma yanıtlarına ve hastalık direnci süreçlerine dahil olduklarını ortaya koymuştur (Liu vd. 2014b). Bu nedenle, GRF'lerin büyümeye bağlı fonksiyonları (Kim vd. 2003, Horiguchi vd. 2005, Kim ve Lee 2006, Kim vd. 2012) ve biyotik ile abiyotik stres tepkilerindeki rolleri göz önüne alındığında (Liu vd. 2008, Hewezi vd. 2012, Kim vd. 2012, Casadevall vd. 2013, Casati 2013), spesifik olarak AtGRF1 ve AtGRF3'ün, bitki büyümesinin savunma sinyali ile koordinasyonunda merkezi bir rol oynadığını göstermektedir (Liu vd. 2014a).

Buna ek olarak, miR396'nın ifade seviyesi, düşük sıcaklık, yüksek tuzluluk, kuraklık ve UV-B radyasyonu gibi stres faktörlerinden etkilenmektedir (Liu vd. 2008, Zhou vd. 2012, Casadevall vd. 2013, Casati 2013, Wang vd. 2013, Liu vd. 2014b). UV-B radyasyonu, artan seviyelerde miR396 ifadesi ile proliferasyona neden olmaktadır. Strese yanıt olarak miR396 ifade seviyesinin değişimi genellikle diğer miRNA genlerinden daha fazla olmaktadır (Liu vd. 2008). Bu durum miR396/GRF modülünün bitki büyümesiyle stres tepkilerinin ilişkisinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Mueller-Roeber 2015).

2.2.8 GIF (GRF interacting factors-GRF ile etkileşen faktörler)

GRF transkripsiyon faktörleri bir dizi transkripsiyonel koaktivatör olan GIF'ler ile kompleks oluşturmaktadırlar. *Arabidopsis*'te GIF1, GIF2 ve GIF3 yaprak gelişimi

sırasında, hücre çoğalmasında ve üreme organlarının gelişiminde rol oynamaktadır (Kim ve Kende 2004, Lee vd. 2009, 2014). GIF, insan transkripsiyon koaktivatörü sinovyal sarkom translokasyon proteininin (SYT) bir homologudur. *Arabidopsis*'te GIF1 geni (ANGUSTIFOLIA3 (AN3) olarak da bilinmektedir) yaprak şeklinde değişikliğe sebep olmaktadır (Horiguchi vd. 2005).

GIF1, AtGRF1, AtGRF2, AtGRF4, AtGRF5 ve AtGRF9'da korunmuş olan QLQ motifiyle etkileşime girmektedir (Kim ve Kende 2004, Horiguchi vd. 2005). GIF1/AN3'ün ifadesindeki artış, hücre sayısındaki artıştan ötürü yaprak alanında genişlemeye yol açarken (Horiguchi vd. 2005), GIF1 ifadesinin azalması, hücre sayısındaki azalmadan dolayı daha küçük yapraklara neden olmaktadır. GIF1 ifadesinin inhibisyonu, hücre sayıları daha azaltılmış küçük yapraklara neden olmaktadır, ancak hücre büyüklükleri tekrar artmıştır. "Telafi (Compensation) etkisi" olarak adlandırılan bu olgu, hücre sayılarının şiddetle azalışı sonucunda hücre boyutu büyümesinin başlatılması olarak tanımlanmaktadır (Tsukaya 2002, Kim ve Kende 2004, Horiguchi vd. 2005, Fujikara vd. 2009). GIF1'in AtGRF5 ile fiziksel olarak etkileşime girmesi sonucunda yaprak gelişimi sırasında hücre çoğalmasına neden olduğu bilinmemekte iken (Kim ve Kende 2004, Horiguchi vd. 2005), telafi etkisinin moleküler mekanizması halen bilinmemektedir (Mueller-Roeber vd. 2015).

2.2.9 Büyük ölçekli genom duplikasyonu ve gen ayrımı (retention) ile elde edilen GRF'ler

Kara bitkileri gibi birden çok GRF bulunduran organizmalarda, bu genlerin ne zaman ortaya çıktığı ve farklı organizmalarda nasıl yayılım gösterdikleri karşılaştırmalı genomik analizler ile aydınlatılabilmektedir. GRF'ler yeşil alglerde tanımlanmamış olmaları sebebiyle kara bitkilerine (Embriyophyta) özgü olarak kabul edilmektedir. Sekansı belirlenmiş çiçekli bitkilerde (Magnoliophyta) genellikle sekiz veya daha fazla sayıda GRF bulunurken, iki GRF geni Bryophyta'nın bir üyesi olan *Physcomitrella patens* L.'de saptanmıştır (Mueller-Roeber vd. 2015).

GRF'ler çeşitli bitkilerde GIF'ler ile etkileşime girdiğinden, türler arasında GIF dizilerinin karşılaştırmalı genomik analizleri yapılmıştır (Mueller-Roeber vd. 2015). GRF'ler yalnızca kara bitkilerinde mevcutken, GIF'lerin yeşil alglerde de bulunabilmesi sebebiyle, yeşil alglerin ve kara bitkilerinin ortak atalarında muhtemelen GIF'lerin mevcut olduğu sonucuna varılmaktadır (Mueller-Roeber vd. 2015). Bir sonraki sayfada yeralan çizelgede GRF ve GIF ile WRC-QLQ domainlerinin bazı türlerdeki dağılımı gösterilmektedir.

Çizelge 2.1 GRF ve GIF ile WRC-QLQ Domainlerinin Türlerle Göre Dağılımı (Mueller-Roeber vd 2015)

| | TÜR ADI | GRF | QLQ | WRC | GIF |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------|------------|------------|------------|
| DİKOTİL | <i>Arabidopsis thaliana</i> | 9 | 9 | 9 | 3 |
| | <i>Arabidopsis lyrata</i> | 9 | 9 | 9 | 3 |
| | <i>Capsella rubella</i> | 9 | 8 | 9 | 3 |
| | <i>Brassica rapa</i> | 17 | 14 | 17 | 5 |
| | <i>Thellungiella parvula</i> | 8 | 8 | 8 | 3 |
| | <i>Carica papaya</i> | 11 | 9 | 8 | 3 |
| | <i>Gossypium raimondii</i> | 18 | 18 | 18 | 6 |
| | <i>Theobroma cacao</i> | 10 | 10 | 10 | 3 |
| | <i>Citrus sinensis</i> | 11 | 8 | 9 | 2 |
| | <i>Populus trichocarpa</i> | 20 | 19 | 19 | 6 |
| | <i>Ricinus communis</i> | 14 | 10 | 11 | 2 |
| | <i>Manihot esculenta</i> | 17 | 17 | 17 | 5 |
| | <i>Lotus japonicus</i> | 2 | 2 | 2 | 1 |
| | <i>Medicago truncatula</i> | 10 | 8 | 10 | 6 |
| | <i>Glycine max</i> | 26 | 24 | 24 | 11 |
| | <i>Prunus persica</i> | 11 | 10 | 10 | 2 |
| | <i>Malus domestica</i> | 17 | 12 | 13 | 5 |
| | <i>Fragaria vesca</i> | 10 | 10 | 10 | 2 |
| | <i>Citrullus lanatus</i> | 8 | 8 | 8 | 2 |
| | MONOKOTİL | <i>Cucumis melo</i> | 8 | 7 | 8 |
| <i>Eucalyptus grandis</i> | | 7 | 6 | 7 | 3 |
| <i>Vitis vinifera</i> | | 10 | 8 | 10 | 4 |
| <i>Solanum lycopersicum</i> | | 12 | 12 | 12 | 4 |
| <i>Solanum tuberosum</i> | | 13 | 12 | 12 | 2 |
| <i>Beta vulgaris</i> | | 7 | 6 | 7 | 3 |
| <i>Oryza sativa ssp. japonica</i> | | 13 | 12 | 12 | 2 |
| <i>Oryza sativa ssp. indica</i> | | 13 | 11 | 12 | 3 |
| <i>Hordeum vulgare</i> | | 8 | 7 | 7 | 2 |
| <i>Brachypodium distachylon</i> | | 12 | 12 | 11 | 3 |
| DİĞER | <i>Sorghum bicolor</i> | 9 | 9 | 9 | 3 |
| | <i>Zea mays</i> | 17 | 14 | 14 | 3 |
| | <i>Seteris italica</i> | 10 | 10 | 10 | 3 |
| | <i>Musa acuminata</i> | 19 | 17 | 19 | 6 |
| DİĞER | <i>Physcomitrella patens</i> | 2 | 2 | 2 | 5 |
| | <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | <i>Ostreococcus lucimarinus</i> | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | <i>Amborella trichopoda</i> | 7 | 6 | 7 | 2 |

2.2.10 GRF'ler ve perspektif

Yapılan alışmalar, *Arabidopsis thaliana* L. ve diğer bazı bitki türleri de dahil olmak üzere GRF'lerin çeşitli işlevlerini ortaya çıkar mıştır. Araştırmalar sonucunda elde edilen bulgulara rağmen, gelecekte ele alınması gereken birçok önemli konu bulunmaktadır. Transkripsiyon regülatörleri tarafından GRF ifadesinin kontrolü hakkında açığa kavuşturulmamış noktalar bulunmaktadır. Daha ileri seviyelerde araştırmalar yapılarak, GRF'lerin ve özellikle de gen düzenleyici ağlarının, büyümeyle ilişkili süreçleri nasıl etkilediği daha iyi anlaşılabilecektir (Mueller-Roeber vd. 2015).

Gunumuzde, GRF'lerin stres yanıtı ile arasındaki ilişkinin altında yatan etkileşimleri daha ayrıntılı bir şekilde ortaya koymak ve bu koşulların bağlı olduğu mekanizmaları belirlemek önemlidir. Bu bilgiler gelecekte, stresli koşullar altında bile iyi bir büyüme ve biyokütle birikimi gösteren üstün ekin çeşitlerinin geliştirilmesi için kullanılabilir (Mueller-Roeber vd. 2015).

3. KAYNAK ÖZETLERİ

GRF gen ailesinin ilk üyelerinin *Oryza sativa* L. (pirinç) bitkisinde 13 adet olarak tanımlandığı (Van der Knaap vd. 2000) yıldan beri birçok çalışmada farklı bitki türlerinde tanımlanmaya devam etmektedir (Zhang vd. 2008, Yang vd. 2009, Osnato vd. 2010, Kim vd. 2012, Liu vd. 2014a, Baloğlu 2014, Filiz vd. 2014, Kuijt vd. 2014, Wang vd. 2014, Büyük ve Aras 2016).

Gerçekleştirilen ilk çalışmalarda GRF'lerin fonksiyonunun yaprak ve kök gelişimiyle sınırlı olduğu görülse de (Van der Knaap vd. 2000, Kim vd. 2003, Horiguchi vd. 2005, Kim ve Lee, 2006) yapılan son çalışmalar çiçeklenme, tohum ve kök gelişimi, stres koşullarında büyümenin kontrolü ve bitki ömrünün düzenlenmesi gibi bitki biyolojisinin diğer yönleri üzerinde GRF'lerin işlevlerini ortaya çıkarmıştır (Hewezi vd. 2012, Kim vd. 2012, Bao vd. 2014, Debernardi vd. 2014, Liang vd. 2014, Liu vd. 2014a, Pajoro vd. 2014).

GRF transkripsiyon faktörü ailesi, *Arabidopsis thaliana* L., *Brassica napus* L. (kanola), *Glycine max* L. (soya fasulyesi), *Solanum tuberosum* L. (patates), *Oryza sativa* L. (pirinç), *Zea mays* L. (mısır), *Physcomitrella patens*, *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) dahil birçok bitki türünde deneysel veya *in silico* olarak tanımlanmıştır (Zhang vd. 2008, Yang vd. 2009, Osnato vd. 2010, Kim vd. 2012, Liu vd. 2012, Baloğlu 2014, Filiz vd. 2014, Kuijt vd. 2014, Wang vd. 2014, Büyük ve Aras 2016) ve tanımlanmaya devam etmektedir.

Arabidopsis'te yapılan çalışmalar, GRF'lerin, köklerin ve sürgünlerin farklı bölümlerinde, genellikle hücre çoğalmasının yoğun olduğu büyüyen bölgelerde, ifade edildiğini göstermektedir (Kim vd. 2003, Horiguchi vd. 2005, Kim vd. 2012, Bao vd. 2014, Liang vd. 2014, Pajoro vd. 2014). Yapılan RNA jel-blot ve kantitatif RT-PZR (Real-Time PCR/Gerçek-Zamanlı PZR) analizleri, bitki yaşının artmasıyla AtGRF ifade seviyelerinin düştüğünü göstermektedir (Kim vd. 2003, Rodriguez vd. 2010). Dolayısıyla, GRF'lerin genellikle büyüyen dokularda daha fazla ifade edildiği görülmektedir (Kim vd. 2003, Horiguchi vd. 2005, Rodriguez vd. 2010). *Arabidopsis*'e

benzer şekilde, *Oryza sativa* L. (pirinç) bitkisinde de GRF'lerin (OsGRF'ler) ifadesinin, aktif olarak büyüyen yaprak primordiasında ve genç yapraklarda genellikle yüksek olduğu görülmüştür (Kim vd. 2003, Choi vd. 2004, Bao vd. 2014).

Brassica rapa L. bitkisinde yaptıkları çalışmada Wang vd. (2014) bu bitkideki GRF'lerin genç yapraklar ile çiçeklerin büyümesini ve gelişimini kontrol etmede önemli işlevleri olduğunu göstermektedir. *Oryza sativa* L. (pirinç) bitkisinde OsGRF6'nın yanı sıra OsGRF4 ve OsGRF10'un da genç çiçek salkımlarında daha fazla ifade edildiği, GRF'lerin çiçek organ gelişimine katıldığı Liu vd. tarafından yapılan çalışmada (2014) gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar GRF'lerin çiçek gelişimi ve çiçeklenme zamanının kontrolünde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Van der Knaap vd. 2000, Kim vd. 2003, Luo vd. 2005, Liu vd. 2014a, Pajoro vd. 2014).

Liu vd. (2012) *Brassica napus* L. (kanola) bitkisinde yaptıkları çalışmada tohum yağ içeriği farklı olan iki çeşidi karşılaştırarak, yüksek yağlı tohumların ovüllerinde, düşük yağlı tohumlardan elde edilene kıyasla daha yüksek seviyelerde ifade edilen BnGRF2a adı verilen bir GRF geni keşfetmişlerdir. Yapılan bu çalışma, GRF'lerin yağ içeriği üzerindeki etkisi olduğunu göstermektedir.

GRF'lerin farklı bitki türlerinin köklerinde ifade edildiği, kök gelişimi veya fizyolojik süreçlerde bir rolü olduğu yapılan birçok çalışmada saptanmıştır (Kim vd. 2003, Luo vd. 2005, Hewezi vd. 2012, Hewezi ve Baum 2012, Bazin vd. 2013, Bao vd. 2014). Hewezi ve vd. (2012) tarafından yapılan deneysel çalışmadaki bulgular, *Arabidopsis* köklerinde en yüksek ifade gösterenlerin AtGRF1 ile AtGRF3 olduğunu ve miR396'nın normal kök büyümesi için gerekli olduğunu göstermektedir.

Birçok çalışma, stresle ilişkili genlerin, aynı zamanda bitki büyümesini engelleyerek strese karşı bitki toleransını arttırdıklarını ortaya koymuştur (Heidel vd. 2004, Sakuma vd. 2006). Bu bağlamda GRF'lerin bitki büyümesini savunma sinyali ve stres tepkileriyle koordine etmede işlev sahibi olduğu gösterilmiştir (Liu vd. 2008, Hewezi vd. 2012, Kim vd. 2012, Casadevall vd. 2013, Casati 2013, Liu vd. 2014b). *Arabidopsis* bitkisinde yapılan son çalışmalar, AtGRF1 ile AtGRF3'ün savunma yanıtlarına ve

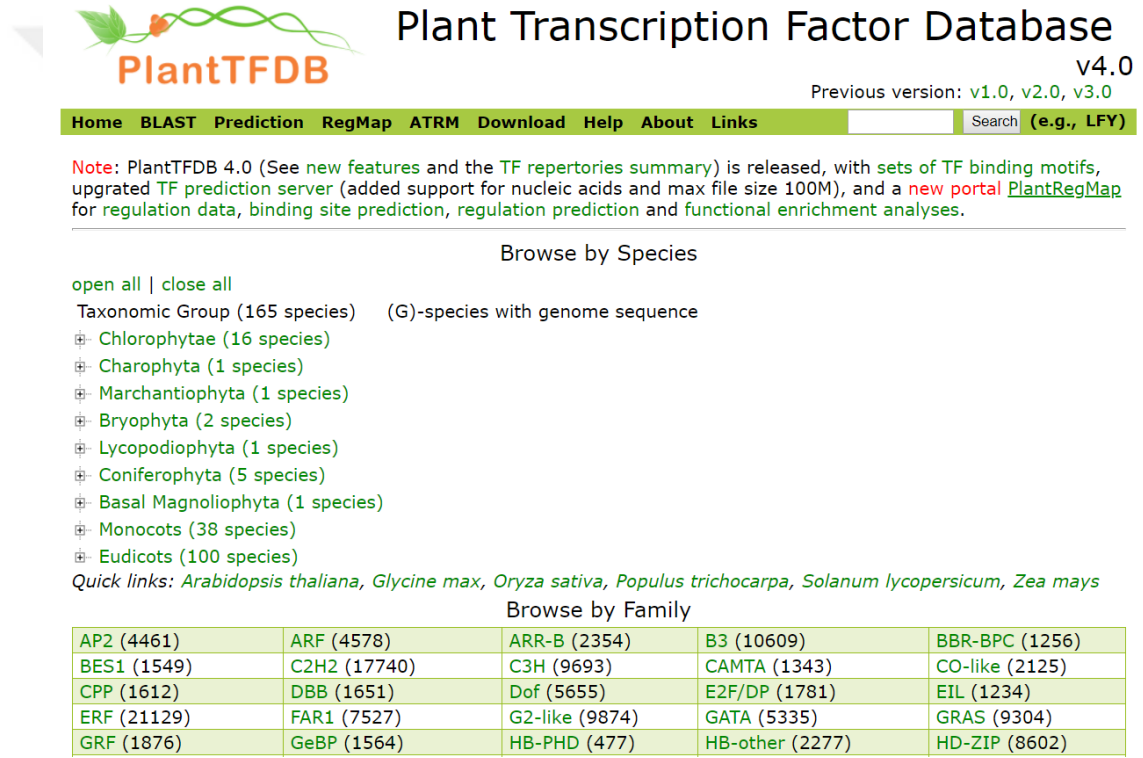
hastalık direnci süreçlerine dahil olduklarını ortaya koymuştur (Liu vd. 2014b). Bu nedenle, GRF'lerin büyümeye bağlı fonksiyonları (Kim vd. 2003, Horiguchi vd. 2005, Kim ve Lee 2006, Kim vd. 2012) ve biyotik ile abiyotik stres tepkilerindeki rolleri göz önüne alındığında (Liu vd. 2008, Hewezi vd. 2012, Kim vd. 2012, Casadevall vd. 2013, Casati 2013), spesifik olarak AtGRF1 ve AtGRF3'ün, bitki büyümesinin savunma sinyali ile koordinasyonunda merkezi bir rol oynadığını gösterilmiştir (Liu vd. 2014).

Bu tez çalışmasıyla *Helianthus annuus* L. genomunda bulunan *GRF* gen ailesinin üyeleri ilk defa belirlenmiş olup, belirlenen *HeaGRF* genlerinin biyoinformatik yöntemler kullanarak karakterizasyonu yapılmıştır. Çalışmada, *GRF* genlerinin kromozomal yerleşimleri, filogenetik analizleri, motif bölgelerinin belirlenmesi, gen ontoloji analizleri, GRF proteinlerinin farklı türler ile karşılaştırılması gibi analizler ile *HeaGRF* genlerinin özelliklerini belirlemeye yönelik araştırmalar yapılmıştır. Elde edilen bu veriler ile bitki gelişiminde büyük öneme sahip olan GRF transkripsiyon faktörü ailesi ayçiçeği bitkisinde tanımlanmıştır. Sonuçta bu çalışma ile GRF transkripsiyon faktörü ailesinin *H. annuus* bitkisinde mekanizmasının tanımlanmasını tam olarak sağlayabilecek daha ileri deneysel ve *in silico* çalışmalara temel oluşturabilecek veriler elde edilmiştir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1 *Helianthus annuus* L. GRF Proteinlerinin Tanımlanması

Artemisia annua L., *Lactuca sativa* L., *Cucumis sativus* L., *Cucumis melo* L., *Vitis vinifera* L. ve *Arabidopsis thaliana* L.'ya ait olan GRF protein dizileri plant transcription factor database 4.0 (Plant TFDB-bitki transkripsiyon faktör veri tabanı) (<http://planttfdb.cbi.pku.edu.cn/>) sitesi kullanılarak toplanmıştır (Gao vd. 2017).



PlantTFDB v4.0
Previous version: v1.0, v2.0, v3.0

Home BLAST Prediction RegMap ATRM Download Help About Links Search (e.g., LFY)

Note: PlantTFDB 4.0 (See [new features](#) and the [TF repertoires summary](#)) is released, with [sets of TF binding motifs](#), [upgraded TF prediction server](#) (added support for nucleic acids and max file size 100M), and a [new portal PlantRegMap](#) for regulation data, binding site prediction, regulation prediction and functional enrichment analyses.

Browse by Species

[open all](#) | [close all](#)

Taxonomic Group (165 species) (G)-species with genome sequence

- Chlorophytae (16 species)
- Charophyta (1 species)
- Marchantiophyta (1 species)
- Bryophyta (2 species)
- Lycopodiophyta (1 species)
- Coniferophyta (5 species)
- Basal Magnoliophyta (1 species)
- Monocots (38 species)
- Eudicots (100 species)

Quick links: [Arabidopsis thaliana](#), [Glycine max](#), [Oryza sativa](#), [Populus trichocarpa](#), [Solanum lycopersicum](#), [Zea mays](#)

Browse by Family

| | | | | |
|-------------|--------------|----------------|-----------------|----------------|
| AP2 (4461) | ARF (4578) | ARR-B (2354) | B3 (10609) | BBR-BPC (1256) |
| BES1 (1549) | C2H2 (17740) | C3H (9693) | CAMTA (1343) | CO-like (2125) |
| CPP (1612) | DBB (1651) | Dof (5655) | E2F/DP (1781) | EIL (1234) |
| ERF (21129) | FAR1 (7527) | G2-like (9874) | GATA (5335) | GRAS (9304) |
| GRF (1876) | GeBP (1564) | HB-PHD (477) | HB-other (2277) | HD-ZIP (8602) |

Şekil 4.1 Bitki türlerinde tanımlanmış belirli transkripsiyon faktörlerinin bulunduğu veri tabanı (<http://planttfdb.cbi.pku.edu.cn>, 2018)

Ardından, varsayılan GRF proteinlerini belirlemek için Ayçiçeği (Sunflower) veritabanında bu protein dizileri kullanılarak bir BLASTP araştırması gerçekleştirilmiştir (<https://sunflowergenome.org/blast/>). E-değeri $E < e^{-10}$ 'dan küçük olanlar dikkate alınmıştır (Priyam vd. 2015).

Paste query sequence(s) or drag file containing query sequence(s) in FASTA format here ...

Nucleotide databases

HA412HO bronze assembly

TAIR10 gene models

Advanced Parameters: ?

BLAST

Please cite: Priyam et al. (2015) Sequenceserver: a modern graphical user interface for custom BLAST databases & relevant data sources from sunflowergenome.org.

Şekil 4.2 Ayçiçeği (Sunflower) BLAST veri tabanı (<https://sunflowergenome.org>, 2018)

Korunan QLQ ve WRC bölgeleri, SMART (<http://smart.emblheidelberg.de/>) ve Pfam (<http://pfam.sanger.ac.uk/>) veritabanları tarafından doğrulanmıştır (Letunic vd. 2012, Finn vd. 2016). Sonrasında 9 tane GRF *H. annuus*'da tanımlanmıştır.

SMART GENOMES

SMART MODE: NORMAL GENOMIC

Simple Modular Architecture Research Tool

keywords: Search SMART

HOME SETUP FAQ ABOUT GLOSSARY WHAT'S NEW FEEDBACK

Sequence analysis

You may use either a [Uniprot/Ensembl](#) sequence identifier (ID) / accession number (ACC) or the protein sequence itself to perform the SMART analysis service.

Sequence ID or ACC

Examples: #1, #2

Protein sequence

Examples: #1, #2

Sequence SMART Reset

HMMER searches of the SMART database occur by default. You may also find:

Outlier homologues and homologues of known structure

PFAM domains

signal peptides

internal repeats

Architecture analysis

You can search for proteins with combinations of [specific domains](#) in different species or taxonomic ranges. You can input the domains directly into "Domain selection" box, or use "GO terms query" to get a list of domains.

Domain selection

Examples: #1, #2

GO terms query

Examples: #1, #2

Taxonomic selection

If you wish to restrict your domain architecture query to a particular species or taxonomic class, start typing its name in the box, and select a match from the popup list.

Architecture query Sifra

You can try an [Advanced Query](#) if you're familiar with SQL.

Domains detected by SMART

Search domain and protein annotation

Search Examples: #1, #2

metaSMART

metaSMART is a novel integral part of SMART, dedicated to the exploration of protein domains and domain architectures in various metagenomics datasets. At the moment, the following datasets are publicly available through metaSMART.

Şekil 4.3 SMART veri tabanı (<http://www.smart.emblheidelberg.de>, 2018)

Search Pfam

Sequence

Batch search

Keyword

Domain architecture

Taxonomy

Jump to... ↓

enter IDacc Go

Batch sequence search

The internal search feature on this website will soon be switched off, so we recommend you run your searches through the [Hmmer website](#). The [Hmmer website](#) is what we use behind the scenes to run your searches. Results will be identical.

Upload a FASTA-format file containing multiple protein sequences to be searched for matching Pfam families. Results of the search will be returned to you at the email address that you specify. Please check the [notes](#) below for the restrictions on uploaded sequence files. [More...](#)

Sequences file: Dosya seçilmedi

Cut-off: Gathering threshold
 Use E-value

E-value:

Email address:

Already submitted a batch search? Check its status here.


Job ID:

Comments or questions on the site? Send a mail to pfam-help@ebi.ac.uk.
European Molecular Biology Laboratory

Şekil 4.4 Pfam veri tabanı (<http://www.pfam.sanger.ac.uk>, 2018)

4.2 Korunmuş Motiflerin Belirlenmesi ve Filogenetik Analiz

MEME yazılımı (<http://meme-suite.org/>, Multiple Em for Motif Elicitation) kullanılarak *Helianthus annuus* L. bitkisinde tanımlanan tüm GRF proteinleri arasında korunmuş motifler belirlenmiştir (Bailey ve Elkan 1994).



MEME

Multiple Em for Motif Elicitation

Version 4.12.0

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

MEME Suite 4.12.0

- ▼ Motif Discovery
 - MEME
 - DREME
 - MEME-ChIP
 - GLAM2
 - MoMo
- ▶ Motif Enrichment
- ▶ Motif Scanning
- ▶ Motif Comparison
- ▶ Manual
- ▶ Guides & Tutorials
- ▶ Sample Outputs
- ▶ File Format Reference
- ▶ Databases
- ▶ Download & Install
- ▶ Help
- ▶ Alternate Servers
- ▶ Authors & Citing
- ▼ Recent Jobs
 - Clear All
- ↔ Previous version 4.11.4

Data Submission Form

Perform motif discovery on DNA, RNA or protein datasets.

Select the motif discovery mode

Normal mode Discriminative mode [?](#)

Select the sequence alphabet

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

DNA, RNA or Protein Custom Dosya Seç Dosya seçilmedi

Input the primary sequences

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

Upload sequences Dosya Seç Dosya seçilmedi [?](#)

Select the site distribution

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

Zero or one occurrence per sequence ▼

Select the number of motifs

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

Input job details

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

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

▶ Advanced options

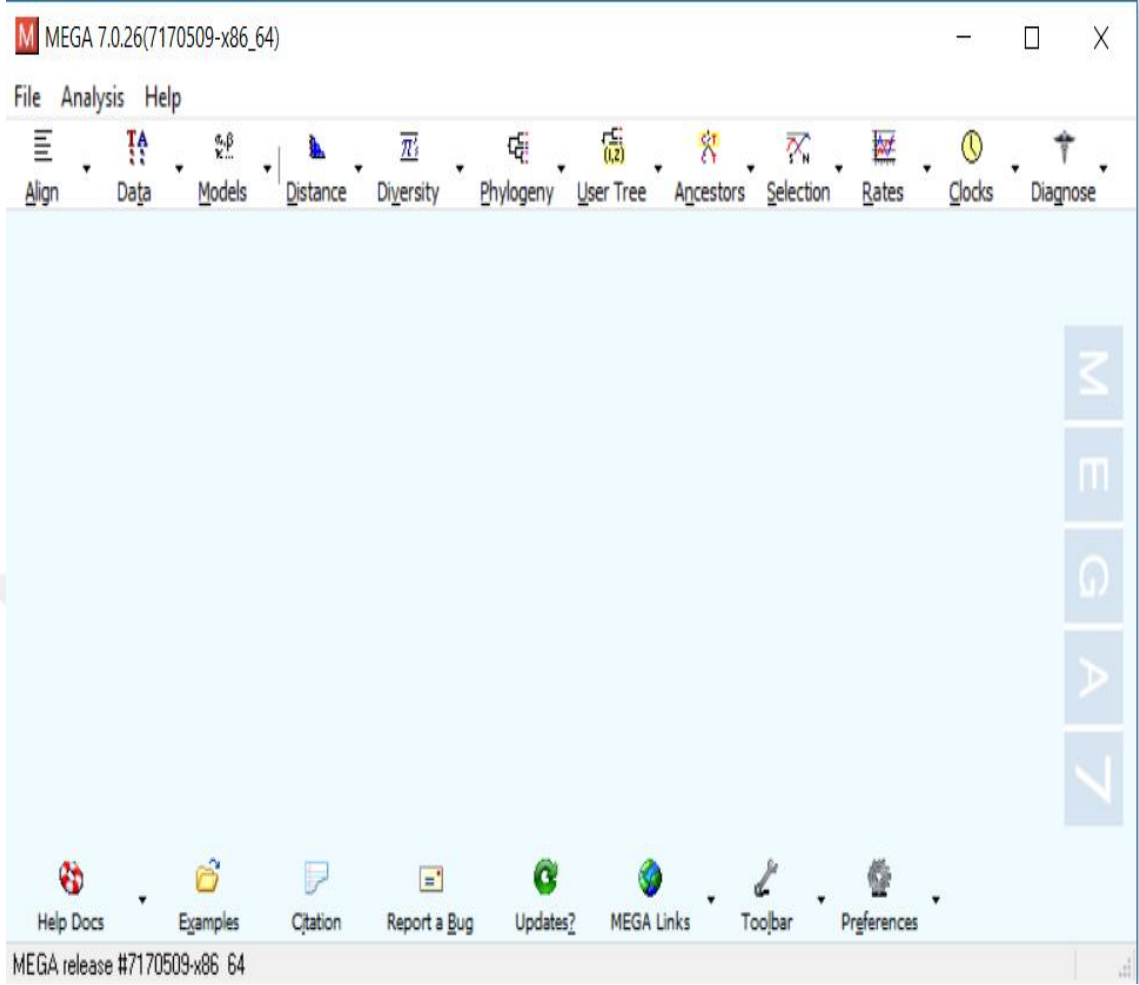
Note: if the combined form inputs exceed 80MB the job will be rejected.

Start Search
Clear Input

Version 4.12.0
Please send comments and questions to: meme-suite@uw.edu
Powered by Opal

Şekil 4.5 MEME yazılımı (<http://meme-suite.org> 2018)

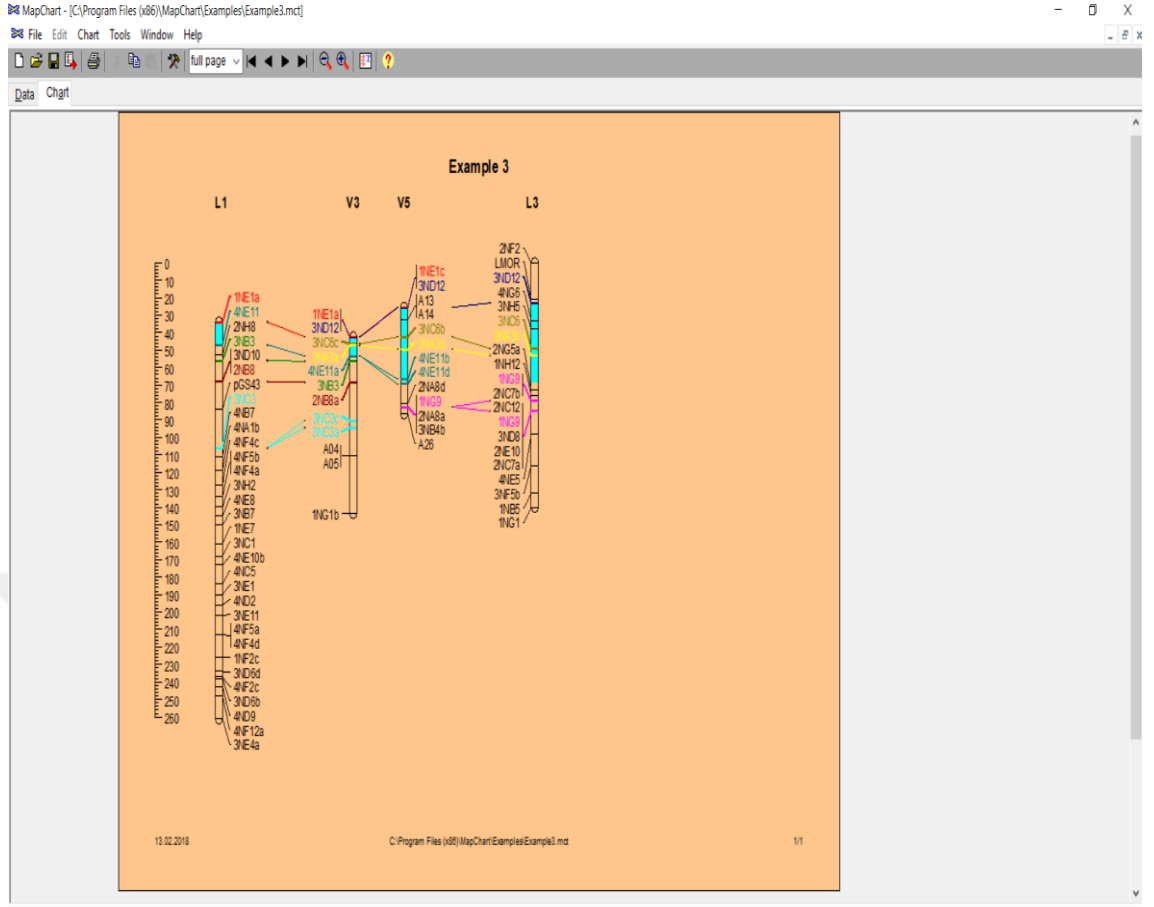
Daha sonra, tüm protein sekansları MEGA programı kullanılarak ClustalW ile hizalanmıştır (Thompson vd. 1994), filogenetik analiz komşu birleştirme ağacı metodu (Neighbor-Joining Tree) ile gerçekleştirilmiştir (Kumar vd. 2011).



Şekil 4.6 MEGA programı (Kumar vd. 2016)

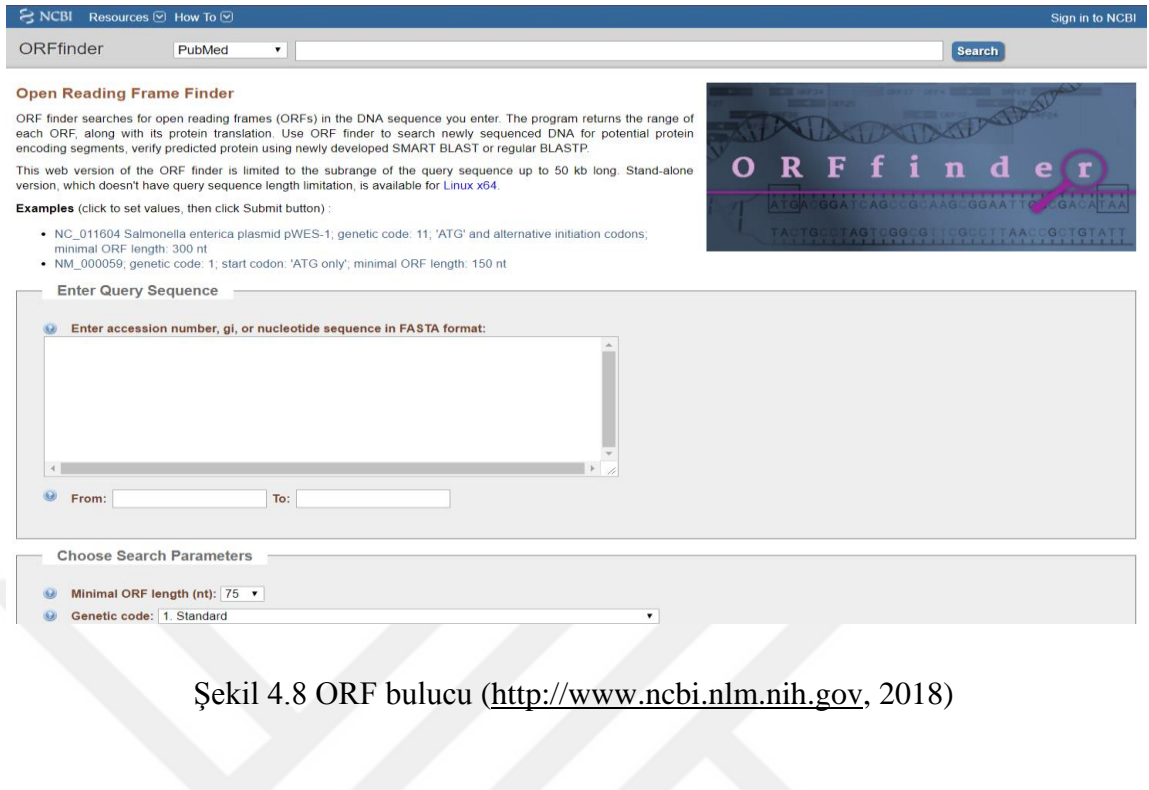
4.3 *HeaGRF*'lerin Kromozomal Dağılımının ve Gen Yapısının Belirlenmesi

Ayçiçeği (Sunflower) veritabanından elde edilen fiziksel konumlarına dayalı *HeaGRF* genlerinin kromozomal dağılımları Map-Chart 2.32 programı kullanılarak belirlenmiştir (Voorrips 2002).

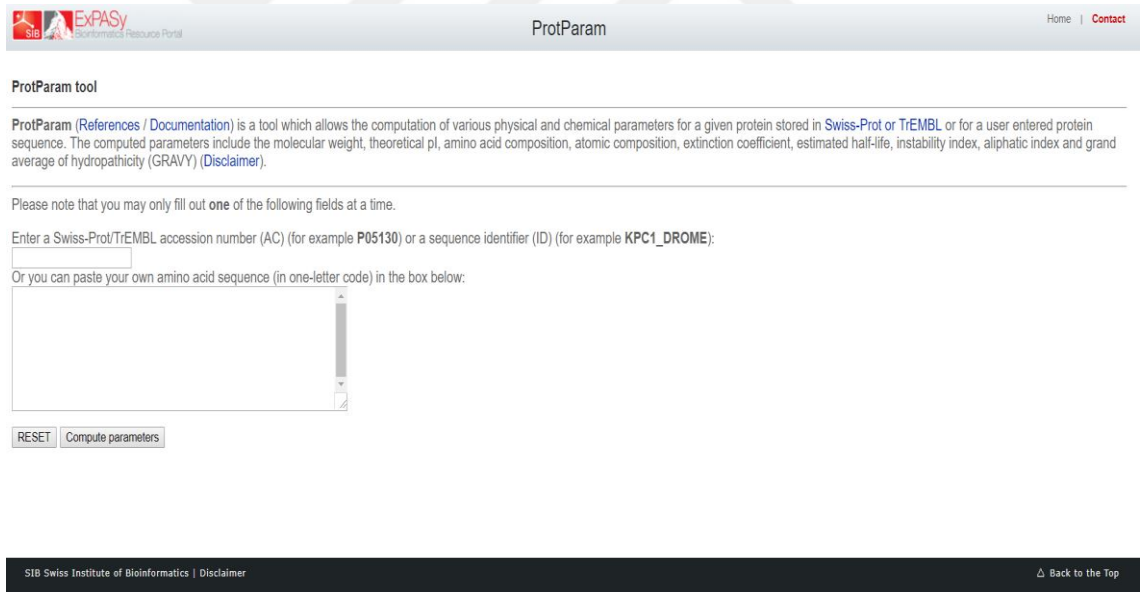


Şekil 4.7 Map-Chart programı kullanılarak hazırlanan örnek bir kromozom haritası (Voorrips 2002)

HeaGRF genlerinin açık okuma çerçevelerini (ORF'ler) belirlemek için NCBI Açık Okuma Çerçeveleri (Open Reading Frame-ORF) bulucu aracı (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) kullanılmıştır. Fizyokimyasal özellikleri (amino asit sayısı, molekül ağırlığı ve teorik izoelektrik nokta-pI) hesaplamak için ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>) kullanılmıştır (Gasteiger vd. 2005).



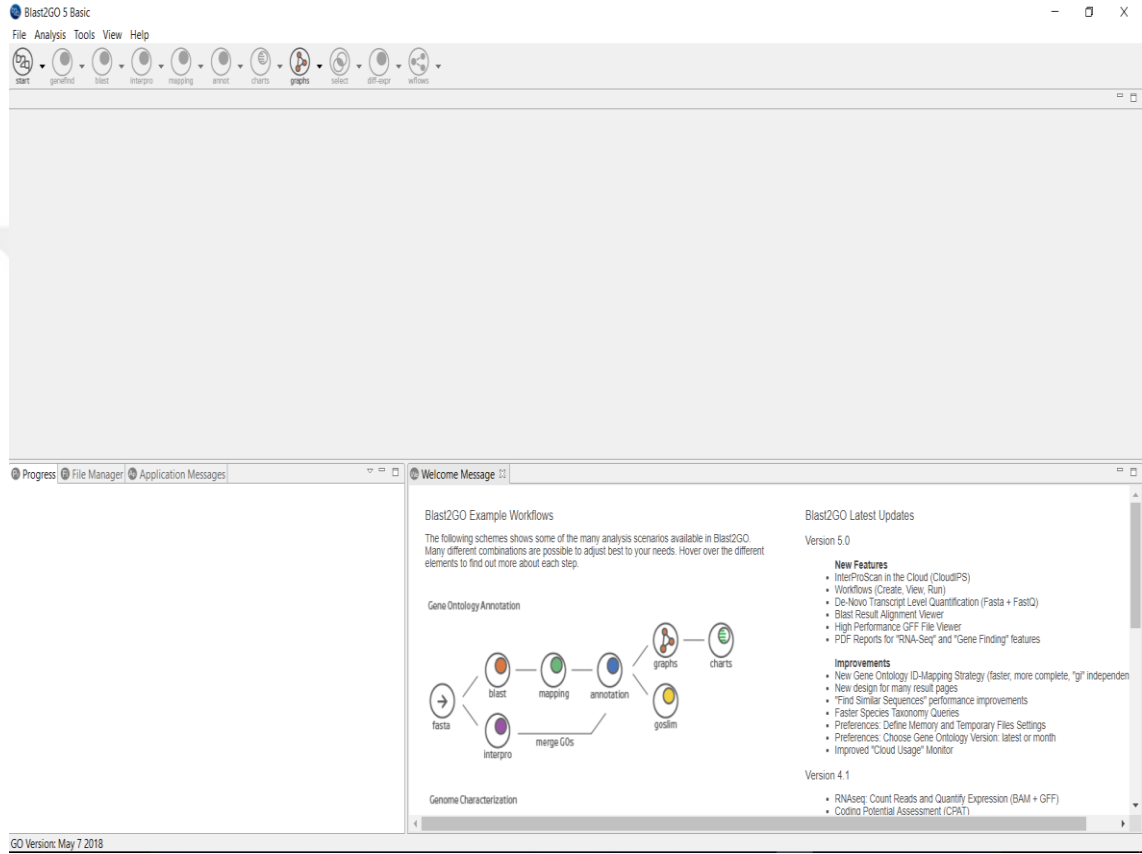
Şekil 4.8 ORF bulucu (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, 2018)



Şekil 4.9 ExPASy ProtParam aracı (<http://web.expasy.org>, 2018)

4.4 *HeaGRF*'lerin Fonksiyonel Analizi

Belirlenen *GRF* genlerinin moleküler işlevleri, biyolojik işlevleri ve hücrel lokalizasyonları Blast2Go programı (<https://www.blast2go.com>) kullanılarak belirlenmiştir (Conesa vd. 2005).



Şekil 4.10 Blast2Go programı (<https://www.blast2go.com>, 2018)

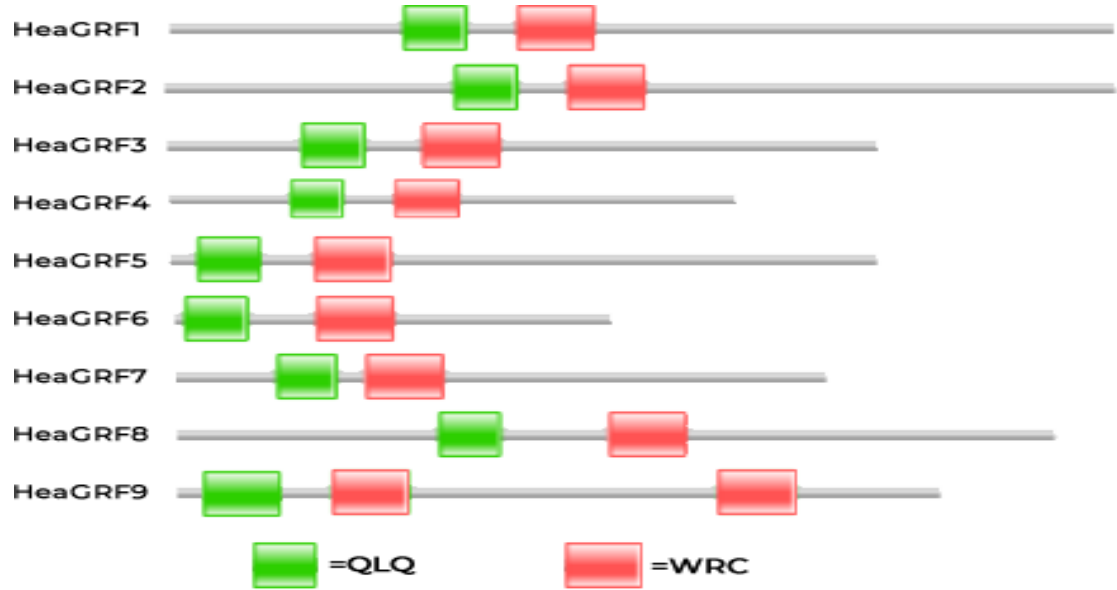
5. ARAŞTIRMA BULGULARI

5.1 Ayçiçeği Genomunda Belirlenen GRF Genleri ve Özellikleri

Plant TFDB veri tabanından elde edilen 6 bitki türüne (*Artemisia annua* L., *Lactuca sativa* L., *Cucumis sativus* L., *Cucumis melo* L., *Vitis vinifera* L. ve *Arabidopsis thaliana* L.) ait GRF sekansları indirilmiştir.

H. annuus genomu ile Plant TFDB veri tabanından elde edilen diziler Ayçiçeği (Sunflower) (<https://sunflowergenome.org/blast/>) veri tabanında (Priyam vd. 2015) BLASTP analizi yapılarak incelenmiştir. Analiz yapılırken gelişmiş parametre olarak E-değeri 1.0e-10 olarak belirlenmiştir.

BLASTP işlemi sonucunda elde edilen dizilerde korunan bölge taraması için SMART (<http://smart.emblheidelberg.de/>) ve Pfam (<http://pfam.sanger.ac.uk/>) veritabanları kullanılmıştır. Toplamda ayçiçeği bitkisine ait 9 tane GRF protein sekansı belirlenmiştir. SMART (Letunic vd. 2012) ve Pfam (Finn vd. 2016) veri tabanları kullanılarak bulunmuş korunan bölgeler şekil 5.1’ de gösterilmiştir.



Şekil 5.1 Dizide korunan QLQ ve WRC bölgeleri

Proteinlerin moleküler ağırlıkları, amino asit sayıları ve izoelektrik noktaları ExPasy/ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>) programı ile belirlenmiştir.

Tanımlanan *HeaGRF*'lerinin özellikleri çizelgelerde belirtilmiştir.

Çizelge 5.1 HeaGRF Gen Ailesinin Özellikleri

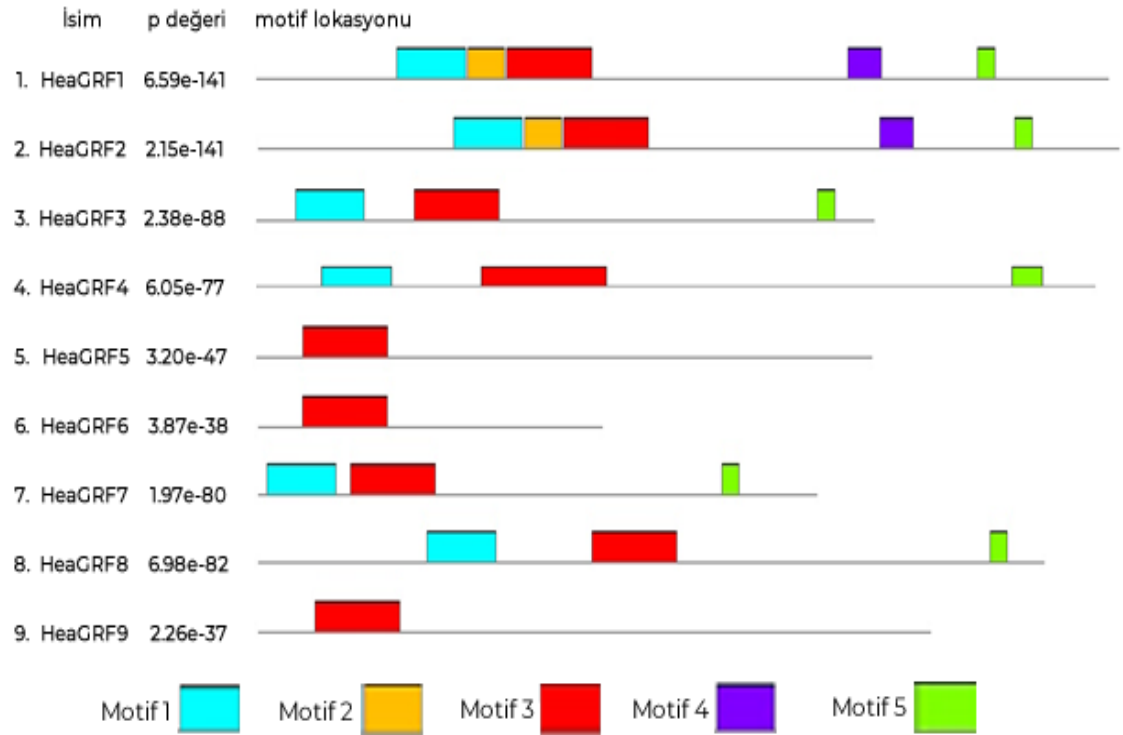
| İSİM | Kromozom Lokasyonu | Aminoasit Sayısı | Moleküler Ağırlığı (kD) | İzoelektrik Noktası (pI) | Korunan Bölgeler |
|----------------|----------------------------|------------------|-------------------------|--------------------------|------------------|
| <i>HeaGRF1</i> | Chr2:972875 6-973301 | 530 | 56400.9 | 9.68 | QLQ ve WRC |
| <i>HeaGRF2</i> | Chr4:177253 37-17727730 | 535 | 58584.4 | 8.89 | QLQ ve WRC |
| <i>HeaGRF3</i> | Chr2:152700 88-15272823 | 398 | 43707.0 | 8.5 | QLQ ve WRC |
| <i>HeaGRF4</i> | Chr3:196160 21-19618449 | 380 | 42533.4 | 7.38 | QLQ ve WRC |
| <i>HeaGRF5</i> | Chr3:460838 3-4610399 | 397 | 44695.3 | 8.2 | QLQ ve WRC |
| <i>HeaGRF6</i> | Chr2:242627 1-2427323 | 244 | 28210.3 | 8.8 | QLQ ve WRC |
| <i>HeaGRF7</i> | Chr5:217945 36-21796046 | 365 | 40410.0 | 8.18 | QLQ ve WRC |
| <i>HeaGRF8</i> | Chr4:125359 72-12539387 | 493 | 50608.3 | 6.93 | QLQ ve WRC |
| <i>HeaGRF9</i> | Chr2:187453 40-18747533 | 429 | 48607.2 | 8.18 | QLQ ve WRC |

Çizelge 5.2 *HeaGRF*'lerin Gen Özellikleri

| İsim | İntron Sayısı | Ekson Sayısı | 3'UTR Bölgesi | 5'UTR Bölgesi | ORF Bölgesi | Kodlanan Bölge |
|----------------|---------------|--------------|---------------|---------------|-------------|--|
| <i>HeaGRF1</i> | 3 | 4 | 2663-2822 | 1-361 | 362-2662 | 362-689;853-1065;1311-1683;1984-2662 |
| <i>HeaGRF2</i> | 3 | 4 | 2378-2573 | 1-30 | 301-2377 | 301-721;814-1026;1331-1682;1756-2377 |
| <i>HeaGRF3</i> | 3 | 4 | 2817-3028 | 1-498 | 499-2816 | 499-712;811-1002;1217-1571;2381-2816 |
| <i>HeaGRF4</i> | 3 | 4 | 2332-2531 | 1-239 | 240-2331 | 240-471;569-763;1061-1358;1914-2331 |
| <i>HeaGRF5</i> | 3 | 4 | 2086-2422 | 1-450 | 451-2085 | 451-649;929-1460;1539-1993;2078-2085 |
| <i>HeaGRF6</i> | 2 | 3 | 1018-1117 | 1-101 | 102-1017 | 102-297;391-610;699-1017 |
| <i>HeaGRF7</i> | 2 | 3 | 1754-1916 | 1-459 | 460-1753 | 460-595;677-1142;1258-1753 |
| <i>HeaGRF8</i> | 5 | 6 | 3417-3584 | - | 1-3416 | 1-65;147-211;1716-1991;2092-2265;2422-2857;2951-3416 |
| <i>HeaGRF9</i> | 3 | 4 | 2663-2822 | 1-361 | 362-2662 | 335-554;896-1366;1465-1650;1743-2155 |

5.2 *HeaGRF* Gen Ailesindeki Korunmuş Motifler

HeaGRF proteinlerinin korunmuş motiflerinin gösterilmesi amacıyla Multiple EM for Motif Elicitation v4.12.0 (MEME) (<http://meme-suite.org/>) biyoinformatik aracı kullanılmıştır (Bailey ve Elkan 1994). Bulunan motiflerin *HeaGRF* dizileri üzerindeki yerleri belirlenmiştir.



Şekil 5.2 MEME yazılımı kullanılarak elde edilen motifler ve lokasyonları (<http://meme-suite.org/>)

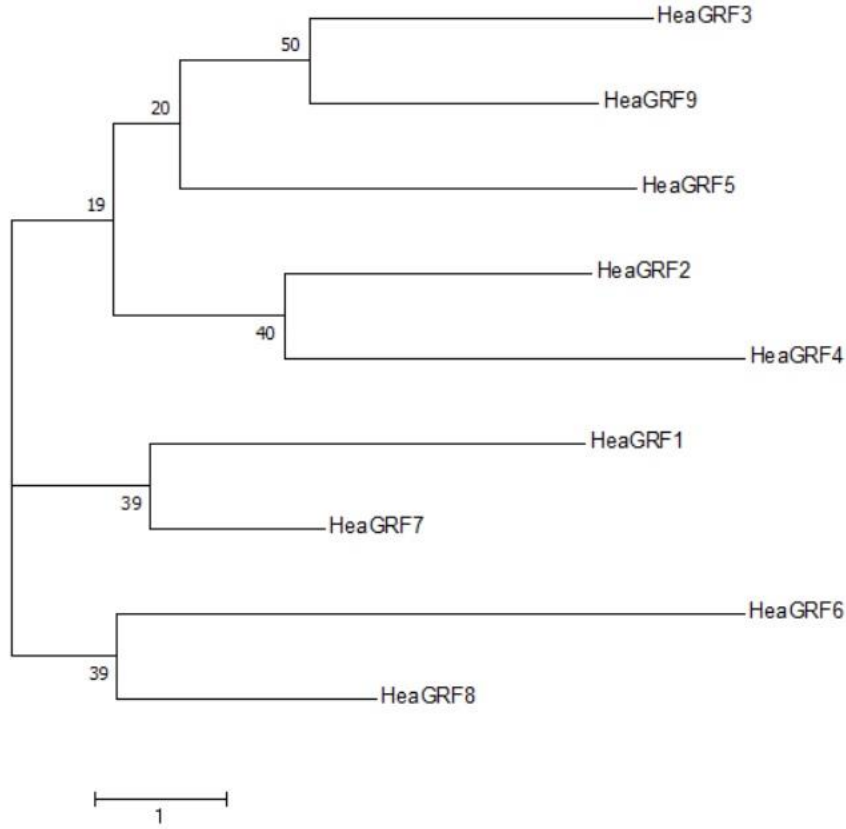
H. annuus'daki GRF protein sekanslarındaki en çok rastlanan korunan bölgelere dair bilgiler çizelge 5.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 5.3 HeaGRF Motifleri

| Motifler | UZUNLUK (aa) | PROTEİN SEKANSI |
|----------|-----------------|--|
| 1 | 32 | AQWAELEQQALIYKYMTANVPVPESELLSIKK |
| 2 | 10 | FGWGTYHLGF |
| 3 | 46 | KMDPEPGRCRRTDGKKWRCSRDVVPDQKYCERHMMRGRNRS RKPVE |
| 4 | 19 | WPEPLKSDWTQLSMSPIA |
| 5 | 10 | PGGPLAEVLR |

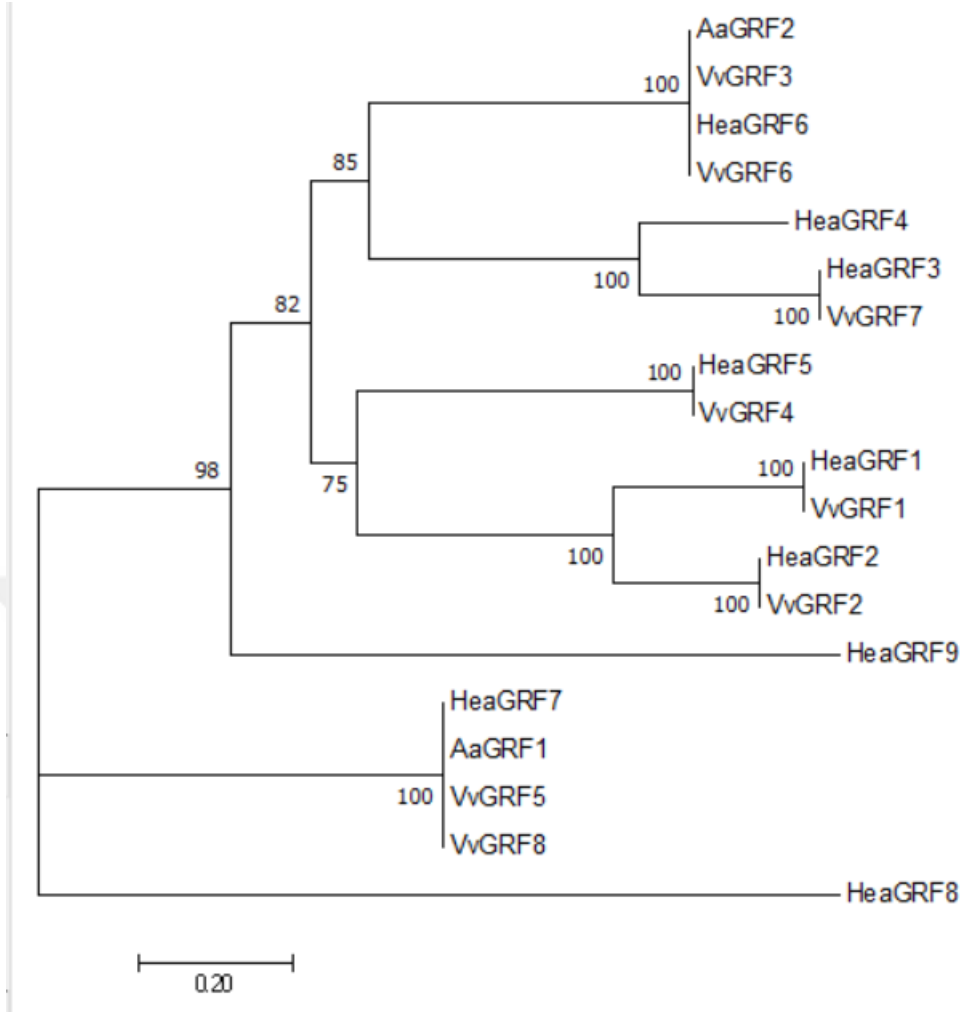
5.3 HeaGRF Gen Ailesinin Filogenetik Analizi

MEGA v.7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Tamura vd. 2016) programı ile komşu birleştirme ağacı metodu (Neighbor-Joining Tree) kullanılarak filogenetik analiz gerçekleştirilmiştir (Saitou ve Nei 1987). Ağaçların oluşturulmasında “Poisson correction, bootstrap analizi 1000 tekrarlı ve pairwise deletion” parametreleri kullanılmıştır.



Şekil 5.3 MEGA programı kullanılarak elde edilen HeaGRF filogenetik analiz

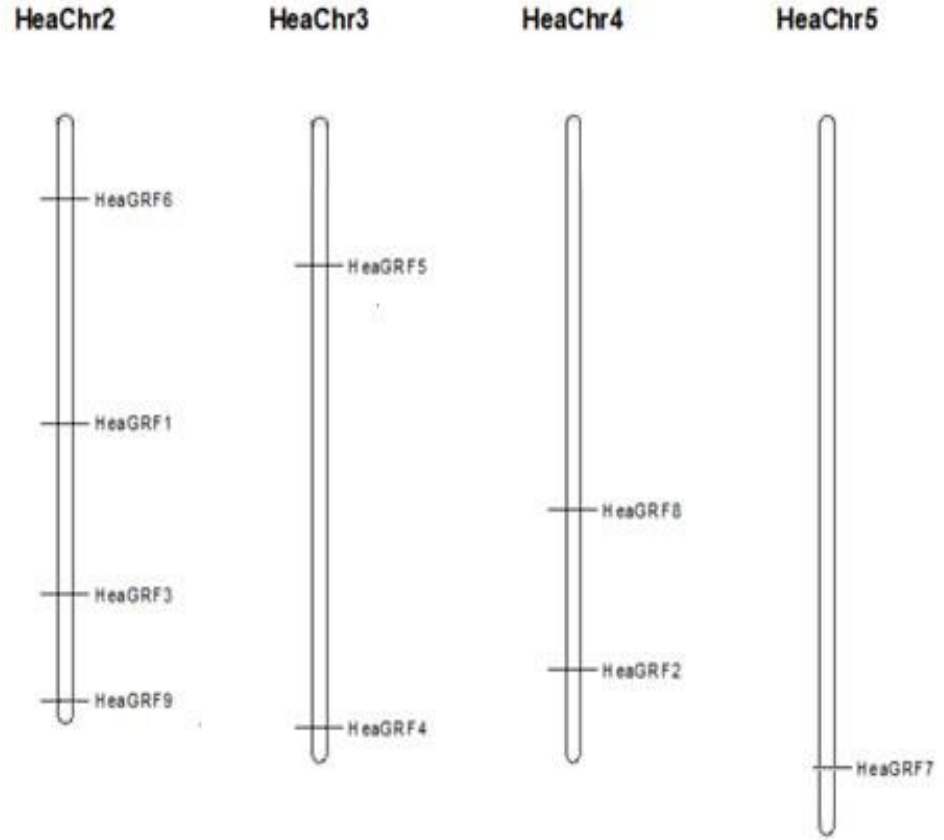
MEGA programında aynı parametreler kullanılarak *Helianthus annuus* L. bitkisinde tanımlanan GRF sekansı ile *Artemisia annua* L. (Tatlı pelin) ve *Vitis vinifera* L. (asma) bitkisine ait sekanslar arasında yapılan filogenetik analiz aşağıda belirtilmiştir.



Şekil 5.4 Karşılaştırmalı filogenetik analiz

5.4 *HeaGRF*'lerin Kromozomal Lokasyonları

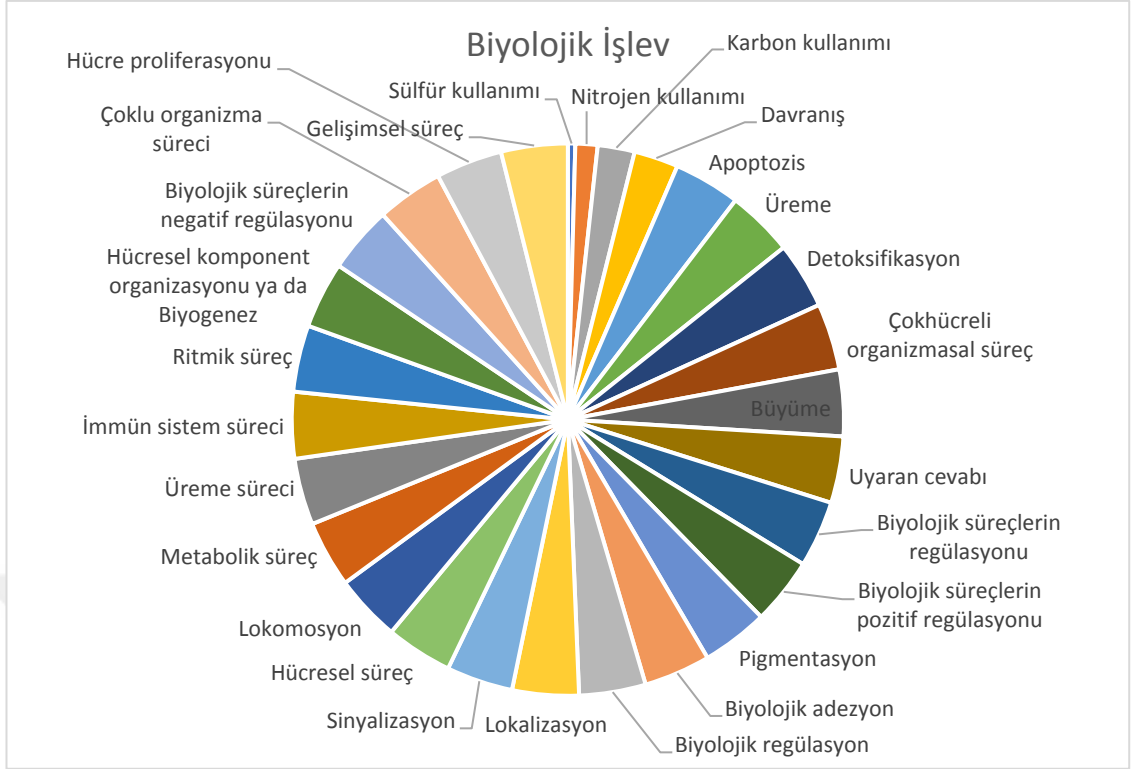
Helianthus annuus L. kromozomları üzerinde *HeaGRF*'lerin yerlerini belirlemek amacıyla elde edilen veriler Map-Chart programına (Voorrips 2002) yüklenmiştir. Program girilen verileri kullanarak *HeaGRF* genlerinin ayçiçeğine ait 4 kromozom üzerindeki yerlerini haritalamıştır.



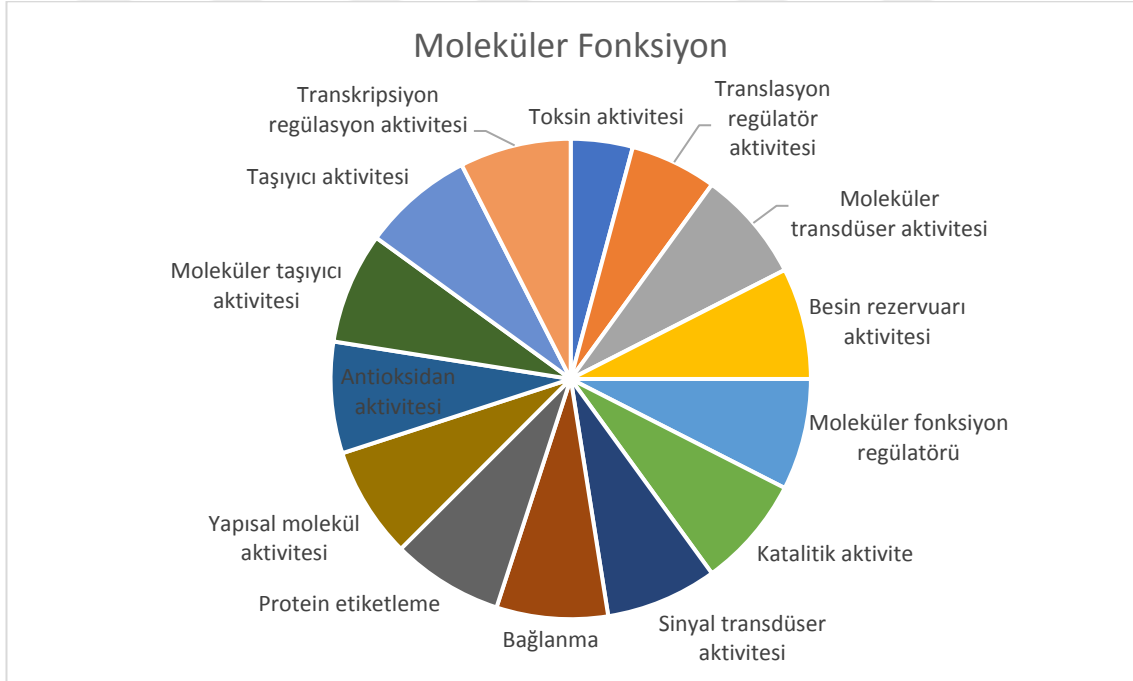
Şekil 5.5 HeaGRF genlerinin *Helianthus annuus* L. kromozomları üzerindeki yerleşimi

5.5 HeaGRF'lerin Fonksiyonel Analizi

Blast2Go (Conesa ve Götzt 2008) programı kullanılarak yapılan gen ontoloji analizleri sonucunda 9 adet HeaGRF'nin biyolojik işlev, moleküler fonksiyon ve hücresel yerleşimleri belirlenmiştir.



Şekil 5.6 HeaGRF'lerin biyolojik işlev dağılımı



Şekil 5.7 HeaGRF'lerin moleküler fonksiyon dağılımı



Şekil 5.8 *HeaGRF*'lerin hücresel yerleşimi

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitkilerde genom seviyesinde GRF proteinlerine ait genlerin *in silico* tanımlanması bazı türlerde gerçekleştirilmiştir. *GRF* geni ilk olarak 2000 yılında Van der Knaap tarafından pirinç bitkisinde 13 adet olarak tanımlanmıştır. GRF ailesindeki proteinler, N-Terminal bölgesindeki evrimsel olarak korunmuş QLQ (Glutamin-Lösin-Glutamin) ve WRC (Tryptofan-Arjinin-Sistein) bölgelerini içermektedir (Van der Knaap 2000, Kim vd. 2003, Choi vd. 2004).

Yürütülen bu tez çalışmasında Ayçiçeği (Sunflower) veri tabanından 7 farklı bitki türünün GRF protein dizileri kullanılarak, *H. annuus* genomunda 9 adet *GRF* geni belirlenmiştir. Belirlenen *HeaGRF* genleri *HeaGRF1*'den *HeaGRF9*'a kadar isimlendirilmiştir. *GRF* gen ailesi belirlenmesi üzerine yapılan önceki çalışmalarda, tüm GRF üyelerinin QLQ ve WRC bölgelerini koruduğu gözlemlenmiştir (Van der Knaap 2000, Kim vd. 2003, Choi vd. 2004). TQL ise yarı korunan bir bölgedir (Van der Knaap 2000). Yaptığımız çalışmada da tanımlanan tüm sekanslarda QLQ ve WRC bölgelerine rastlanmıştır. Ayrıca TQL ve FF motifi de *HeaGRF*'ler içerisinde yer almıştır.

Elde edilen verilere göre bulunan *HeaGRF* genleri 4 adet ayçiçeği kromozomu üzerinde dağılım göstermiştir. En fazla *HeaGRF* geni 2. kromozomda yer almaktadır. Daha az sayıda olmak üzere 3. kromozomda ve 4. kromozomda bulunmaktadır. Bununla beraber, en düşük gen sayısını içeren 5. kromozomda ise sadece tek bir *HeaGRF* geni tespit edilmiştir. *Phaseolus vulgaris* L. bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmada Büyük ve Aras (2016) *PhvGRF*'lerin 7 kromozom üzerine lokalize olduklarını göstermiştir. *Brassica napus* L. bitkisi üzerinde yapılan çalışmada *BnGRF*'lerin 18 kromozomda lokalize olduklarını belirtilmiştir (Li vd. 2017). *Nicotiana tabacum* L. bitkisinde Yang vd. (2017) yaptıkları çalışmada 15 kromozom üzerine lokalize oldukları saptamıştır.

HeaGRF genleri arasındaki evrimsel ilişkiyi değerlendirmek için, MEGA v.7 programı kullanılarak filogenetik analiz yapılmıştır (Tamura vd. 2016). *Helianthus annuus* L.'de bulunan *HeaGRF* genleri 3 ana grup oluşturacak şekilde dallanma göstermiştir. *Helianthus annuus* L. bitkisiyle ortak olarak Asteraceae familyasının üyesi olması

sebebiyle *Artemisia annua* L. ve Eudicotyledon olması sebebiyle benzerlik göstermesinden dolayı *Vitis vinifera* L. bitkilerinin GRF protein sekansları kullanılarak yapılan filogenetik sınıflandırma sonucunda 3 ana grup oluşmuştur.

Brachypodium distachyon L. bitkisinde 2 ana grup (Filiz vd. 2014), *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) bitkisinde 2 ana gruba (Buyuk ve Aras 2016), *Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*'te (Çin lahanası) 6 alt gruba (Gao vd. 2014), *Brassica napus* L.'de (kanola) 2 ana gruba (Li vd. 2017), *Zea mays* L. bitkisinde 3 alt gruba (Wang vd. 2008) ve *Nicotiana tabacum* L. bitkisinde 2 ana gruba (Yang vd. 2017) ayrılmaktadır. *Arabidopsis thaliana* L., *Zea mays* L. ve *Oryza sativa* L. bitkilerindeki *GRF* genlerinin filogenetik sınıflandırması sonucunda, birbirinden farklı 3 alt grup gözlenmiştir (Wang vd. 2008). *Arabidopsis thaliana* L., *Brassica oleracea* L., *Brassica rapa* L. ve *Brassica napus* L. bitkilerindeki GRF proteinlerinde yapılan filogenetik analiz sonucunda ise 6 farklı tipte gruplanma görülmüştür (Li vd. 2017).

MEME veri tabanı kullanılarak HeaGRF proteinlerinin taşıdıkları motifler belirlenmiştir. MEME veri tabanı kullanılarak yapılan analizlerde 9 adet HeaGRF proteinin 5 farklı motif içerdiği belirlenmiştir. *Phaseolus vulgaris* L. bitkisinde de GRF protein sekanslarında 5 motif gözlenmiştir. Diğer organizmalardaki GRF proteinlerinin farklı sayılarda motif içerebildiği bilinmektedir. Örneğin, Li vd. (2017) yaptıkları çalışmada, *Brassica napus* L. bitkisinde ve Yang vd. (2017) yaptığı çalışmada *Nicotiana tabacum* L. bitkisinde 20'şer motif gözlenmiştir.

HeaGRF genlerinin ekson ve intron bölgeleri yürütülen çalışmada incelenmiş olup, 3 intron 4 ekson içerenler *HeaGRF1/ HeaGRF2/ HeaGRF3/ HeaGRF4/ HeaGRF5* ve *HeaGRF9*, 2 intron 3 ekson içerenler *HeaGRF6/ HeaGRF7*, en çok intron ve ekson bölgesi içeren ise *HeaGRF8* olarak tespit edilmiştir. Büyük ve Aras'ın 2016 yılında *Phaseolus vulgaris* L. üzerinde yaptığı çalışmada ise tanımlanan *GRF* sekanslarında 2 ile 3 arasında değişkenlik gösteren intron bölgesi, 3 ile 4 arasında değişen kodlanan bölge içerdiği gösterilmiştir. *Brassica napus* L. bitkisi üzerinde yapılan çalışmada (Li vd. 2017) 3 ile 6 arasında değişkenlik gösteren kodlanan bölge ve 3 ile 8 arasında değişen intron bölgeleri belirlenmiştir. *Nicotiana tabacum* L. bitkisi üzerinde Yang vd.

2017 yılında yaptıkları çalışmada ise 3 ile 4 arasında değişen kodlanan bölge ile 2 ile 3 arasında değişen intron bölgesi belirlenmiştir.

Blast2Go gen ontoloji programı kullanılarak (Conesa ve Götzt 2008) *HeaGRF* genlerinin ontolojik analizleri yapılmış ve ayçiçeği bitkisindeki *GRF* genlerinin moleküler işlevleri, hücresel yerleşimleri ve biyolojik fonksiyonları belirlenmiştir. *HeaGRF* proteinlerinin organel, membran, virion, simplast gibi hücrenin birçok bölümüne dağılmış halde olduğu belirlenmiştir. *HeaGRF* proteinleri birçok biyolojik işlevde görev almaktadır.

Bu süreçler içerisinde en önemlisi ve *GRF* transkripsiyon faktörü ailesinin spesifik özelliği olan gelişimsel ve metabolik proseslerde oynadığı roldür. Diğer katılım gösterdiği süreçler ise, kükürt, azot ve karbon gibi farklı moleküllerin kullanımı, davranış, pigmentasyon, hücre proliferasyonu, immün sistem süreçleri, biyolojik regülasyon, lokalizasyon, sinyalizasyon ve detoksifikasyon olarak belirlenmiştir (Şekil 5.6).

Bu görevlerinin yanı sıra ayrıca, bağlanma, taşıyıcı aktivitesi, transkripsiyon regüle edici aktivitesi, antioksidan aktivitesi, katalitik aktivitesi ve sinyal transdüksiyonu aktivitesi de gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde *GRF*'lerin büyümeye bağlı fonksiyonları (Kim vd. 2003, Horiguchi vd. 2005, Kim ve Lee 2006, Kim vd. 2012) ve biyotik ile abiyotik stres tepkilerindeki rolleri göz önüne alındığında (Liu vd. 2008, Hewezi vd. 2012, Kim vd. 2012, Casadevall vd. 2013, Casati 2013), *GRF* transkripsiyon faktörlerinin, bitki büyümesinin savunma sinyali ile koordinasyonunda merkezi bir rol oynadıkları anlaşılmaktadır (Liu vd. 2014b). Bu bulgular elde edilen çalışma sonuçlarını destekler niteliktedir (Şekil 5.7).

Bu tez çalışmasıyla *H. annuus* genomunda bulunan *GRF* gen ailesinin üyeleri ilk defa belirlenmiş olup, 9 adet *HeaGRF* geninin biyoinformatik yöntemler kullanarak karakterizasyonu yapılmıştır. Bu çalışmada, *GRF* genlerinin kromozomal yerleşimleri, filogenetik analizleri, motif bölgelerinin belirlenmesi, gen ontoloji analizleri, *GRF* proteinlerinin farklı türler ile karşılaştırılmalı analizler ile *HeaGRF* genlerinin

özelliklerini belirlemeye yönelik araştırmalar yapılmıştır. Elde edilen bu veriler ile bitki gelişiminde büyük öneme sahip olan GRF transkripsiyon faktörü ailesi ayçiçeği bitkisinde tanımlanmıştır. Sonuçta bu çalışma ile GRF transkripsiyon faktörü ailesinin *Helianthus annuus* L. bitkisinde mekanizmasının tanımlanmasını tam olarak sağlayabilecek daha ileri deneysel ve *in silico* çalışmalara temel oluşturabilecek veriler elde edilmiştir.



KAYNAKLAR

- Ahmadi, J., Noormohammadi, N. and Ourang, S.F. 2014. Identification of Conserved Domains and Motifs for GRF Gene Family. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 8(12), 1335-1338.
- Anonim, 1994. Yağ nedir? *Milliyet Gazetesi* (15 Kasım 1994).
- Anonim, 2004. Web sitesi: <http://www.tzob.org.tr>, Erişim Tarihi: 19.11.2017.
- Anonim, 2012. Web sitesi: <http://www.bitkiselyag.org/ay-cicegi-helianthus-annuus/> Erişim Tarihi: 19.11.2017.
- Anonim, 2017. <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist> Erişim Tarihi: 15.10.2017.
- Arıoğlu, H. 2007. Yağ bitkileri yetiştirme ve ıslahı. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları, Yayın No: A-70, Adana.
- Arvidsson, S., Perez-Rodriguez, P. and Mueller-Roeber, B. 2011. A growth phenotyping pipeline for *Arabidopsis thaliana* integrating image analysis and rosette area modeling for robust quantification of genotype effects. *New Phytol.*, 191(3), 895-907.
- Atakışi, İ.K. 1985. Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı, Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Tekirdağ.
- Bailey, T. L. and Elkan, C. 1994. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers, *Proceedings of the Second International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology*, 14–17 August, Book of Abstracts, Vol 2, 28–36, Stanford, California.
- Baloğlu, M., 2014. Genome-wide *in silico* identification and comparison of Growth Regulating Factor (GRF) genes in Cucurbitaceae family. *Plant Omi. J.*, 7(4), 260-270.
- Bao, M., Bian, H., Zha, Y., Li, F., Sun, Y., Bai, B., Chen, Z., Wang, J., Zhu, M. and Han, N. 2014. MiR396a-mediated basic helix-loop-helix transcription factor bHLH74 repression acts as a regulator for root growth in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Cell Physiol.*, 55(7), 1343-1353.
- Bazin, J., Khan, G.A., Combiere, J.P., Bustos-Sanmamed, P., Debernardi, J.M., Rodriguez, R., Sorin, C., Palatnik, J., Hartmann, C., Crespi, M. and Lelandais-Briere, C. 2013. miR396 affects mycorrhization and root meristem activity in the legume *Medicago truncatula*. *Plant J.* 74(6), 920-34.
- Bılas, R., Szafran, K., Hnatuszko-Konka, K. and Kononowicz, A.K. 2016. *Cis*-regulatory elements used to control gene expression in plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 127(2), 269–287. doi: 10.1007/s11240-016-1057-7.
- Blackman, B.K., Scascitell, M., Kanec, N.C., Lutona, H.H., Rasmussen, D.A., Byed, R.A., Lentze, D.L. and Rieseberg, L.H., 2011. Sunflower domestication alleles

- support single domestication center in eastern North America. PNAS, 34(108), 14360-14365.
- Boeva, V. 2016. Analysis of genomic sequence motifs for deciphering transcription factor binding and transcriptional regulation in eukaryotic cells. *Front. Genet.* 7(24), 1-15. doi: 10.3389/fgene.2016.00024.
- Büyük, İ. and Aras, S. 2016. Genome-wide *in silico* identification, characterization and transcriptional analysis of the family of growth-regulating factors in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) subjected to peg-induced drought stress. *Arch. Biol. Sci.*, 69(1), 5-14.
- Casadevall, R., Rodriguez, R., Debernardi, J., Palatnik, J. and Casati, P. 2013. Repression of growth regulating factors by the microRNA396 inhibits cell proliferation by UV-B radiation in *Arabidopsis* leaves. *Plant Cell*, 25(9), 3570–3583.
- Casati, P. 2013. Analysis of UV-B regulated miRNAs and their targets in maize leaves. *Plant Signal. Behav.* 8(10), e26758-1-e267586.
- Choi, D., Kim, J.H. and Kende, H. 2004. Whole genome analysis of the OsGRF gene family encoding plant-specific putative transcription activators in rice (*Oryza sativa* L). *Plant and Cell Physiology* 45(7), 897–904.
- Conesa, A., Götz, S., García-Gómez, J.M., Terol, J., Talón, M. and Robles, M. 2005. Blast2GO: A Universal Tool for Annotation, Visualization and Analysis in Functional Genomics Research. *Bioinformatics*, 21(18), 3674-3676.
- Conesa, A. and Götz, S. 2008. Blast2GO: a comprehensive suite for functional analysis in plant genomics. *Int J Plant Genomics*, 2008, 173-209. Article ID:619832. doi: 10.1155/2008/619832.
- Dantas Machado A.C., Zhou, T., Rao, S., Goel, P., Rastogi, C., Lazarovici, A., Bussemaker, H.J. and Rohs, R. 2014. Evolving insights on how cytosine methylation affects protein-DNA binding. *Brief Funct Genomics*. 14(1), 61-73.
- Debernardi, J.M., Mecchia, M.A., Vercruyssen, L., Smaczniak, C., Kaufmann, K., Inze, D., Rodriguez, R.E. and Palatnik, J.F., 2014. Post-transcriptional control of GRF transcription factors by microRNA miR396 and GIF co-activator affects leaf size and longevity. *Plant J.* 79(3), 413–426.
- Duval, I., Lachance, D., Giguère, I., Bomal, C., Morency, M.-J. and Pelletier, G. 2014. Large-scale screening of transcription factor–promoter interactions in spruce reveals a transcriptional network involved in vascular development. *J. Exp. Bot.*, 65(9), 2319–2333. doi: 10.1093/jxb/eru116.
- Edger, P.P. ve Pires, J.C. 2009. Gene and genome duplications: the impact of dosage-sensitivity on the fate of nuclear genes. *Chromosome Res.*, 17(5), 699–717. doi: 10.1007/s10577-009-9055-9.
- Filiz, E., Koç, İ. and Tombuloğlu, H. 2014. Genome-wide identification and analysis of growth regulating factor genes in *Brachypodium distachyon*: *in silico* approaches. *Turk J Biol*, 38(38), 296-306. doi:10.309/biy-1308-57.
- Finn, R. D., Coggill, P., Eberhardt, R. Y., Eddy, S. R., Mistry, J., Mitchell, A. L., Potter, S. C., Punta, M., Qureshi, M., Salazar, A.S-V. G., Tate, J. and Bateman, A.

2016. The Pfam protein families database: towards a more sustainable future. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D279-D285. doi: 10.1093/nar/gkv1344.
- Fujikura, U., Horiguchi, G., Ponce, M.R., Micol, J.L. and Tsukaya, H. 2009. Coordination of cell proliferation and cell expansion mediated by ribosome-related processes in the leaves of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 59(3), 499–508.
- Gao, G., Jin, J., Tian, F., Yang, D.C., Meng, Y.Q., Kong, L. and Luo, J. 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.
- Gao, J., Wang, F., Qiu, N., Ding, Q., Li, J., Zhang, Y. and Li, H. 2014. Genome-wide identification and analysis of the growth-regulating factor family in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *BMC Genomics*, 15(1), 807-843. doi: 10.1186/1471-2164-15-807.
- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Duvaud, S., Wilkins, M.R., Appel, R.D. and Bairoch A. 2005. Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy server, in: *The Proteomics Protocols Handbook* Edited by John M. Walker, Humana Press, 571-607, Totowa, New Jersey.
- Gonzalez, N., Beemster, G.T.S. and Inze, D. 2009. David and Goliath: what can the tiny weed *Arabidopsis* teach us to improve biomass production in crops? *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12(2), 157–164.
- Harter, A.V., Gardner, K.A., Falush, D., Lentz, D.L., Bye, R.A. and Rieseberg, L.H., 2004. Origin of extant domesticated sunflowers in eastern North America. *Nature*, 430(6996), 201-205. doi:10.1038/nature02710.
- Hao, Q. N., Zhou, X.A., Sha, A.H., Wang, C., Zhou, R. and Chen, S.L. 2011. Identification of genes associated with nitrogen-use efficiency by genome-wide transcriptional analysis of two soybean genotypes. *BMC Genomics*, 12, 525-579. doi: 10.1186/1471-2164-12-525.
- Heidel, A.J., Clvd.e, J.D., Antonovics, J. and Dong, X. 2004. Fitness costs of mutations affecting the systemic acquired resistance pathway in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics*, 168(4), 2197–2206.
- Hewezi, T. and Baum, T.J. 2012. Complex feedback regulations govern the expression of miRNA396 and its GRF target genes. *Plant Signal. Behav.*, 7(7), 749–751.
- Horiguchi, G., Kim, G.-T. and Tsukaya, H. 2005. The transcription factor AtGRF5 and the transcription coactivator AN3 regulate cell proliferation in leaf primordia of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 43(1), 68–78.
- İşler, N. 2018. Ayçiçeği. Web Sitesi: <http://www.mku.edu.tr/files/898-d1f0723c-d1b7-45a5-890a-4ea53c58f234.pdf>.
- İlbaş, A.İ., Yıldırım, B., Arslan, B. ve Günel, E. 1996. Sulama sayısının bazı ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) çeşitlerinde verim ve önemli bazı tarımsal özellikler üzerine etkisi. *Yüzüncüyıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6 (4), 9-22.

- Jin, J., Tian, F., Yang, D.-C., Meng, Y.-Q., Kong, L. and Luo, J. 2017. PlantTFDB 4.0: toward a central hub for transcription factors and regulatory interactions in plants. *Nucleic Acids Res.*, 45(D1), D1040–D1045. doi: 10.1093/nar/gkw982.
- Jones-Rhoades, M.W. and Bartel, D.P. 2004. Computational identification of plant microRNAs and their targets, including a stress-induced miRNA. *Mol. Cell*, 14(6), 787–799.
- Kara, K. 1996. Tarla Bitkileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları, Yayın No:191, Erzurum.
- Kaya, Y. 2013. Ayçiçeği Tarımı. Web sitesi: <http://www.aycicekyag.com/aycicegi-tarimi.html>, Erişim tarihi: 05.12.2017.
- Kızıloğlu, S. 1992. Türkiye Bitkisel Yağ Sanayi. *Hasad Dergisi*, 82(7), 28-30, İstanbul.
- Kim, J.H. and Kende, H. 2004. A transcriptional coactivator, AtGIF1, is involved in regulating leaf growth and morphology in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101(36), 13374–13379.
- Kim, J.H., Choi, D. and Kende, H. 2003. The AtGRF family of putative transcription factors is involved in leaf and cotyledon growth in *Arabidopsis*. *Plant J.*, 36(1), 94–104.
- Kim, J.H. and Lee, B.H. 2006. GROWTH-REGULATING FACTOR4 of *Arabidopsis thaliana* Is required for development of leaves, cotyledons, and shoot apical meristem. *J. Plant Biol.* 49(6), 463–468.
- Kim, J.H. and Tsukaya, H. 2015. Regulation of plant growth and development by the GROWTH-REGULATING FACTOR and GRF-INTERACTING FACTOR duo. *J. Exp. Bot.*, 66(20), 6093–6107.
- Kim, J.-S., Mizoi, J., Kidokoro, S., Maruyama, K., Nakajima, J., Nakashima, K., Mitsuda, N., Takiguchi, Y., Ohme-Takagi, M. and Kondou, Y. 2012. *Arabidopsis* growth-regulating factor7 functions as a transcriptional repressor of abscisic acid-and osmotic stress-responsive genes, including DREB2A. *Plant Cell*, 24(8), 3393–3405.
- Kuijt, S.J.H., Greco, R., Agalou, A., Shao, J., 't Hoen, C.C., Overnas, E., Osnato, M., Curiale, S., Meynard, D., van Gulik, R., de Faria Maraschin, S., Atallah, M., de Kam, R.J., Lamers, G.E., Guiderdoni, E., Rossini, L. and Meijer, A.H. 2014. Interaction between the GROWTH-REGULATING FACTOR and KNOTTED1-LIKE HOMEODOMAIN families of transcription factors. *Plant Physiol.*, 164(4), 1952–1966.
- Kumar, S., Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G. and Nei, M. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol Biol Evol.*, 28(10), 2731–2739. doi: 10.1093/molbev/msr121.
- Lee, B.H., Ko, J.-H., Lee, S., Lee, Y., Pak, J.-H. and Kim, J.H. 2009. The *Arabidopsis* GRF-INTERACTING FACTOR gene family performs an overlapping function in determining organ size as well as multiple developmental properties. *Plant Physiol.*, 151(2), 655–668.

- Lee, B.H., Wynn, A.N., Franks, R.G., Hwang, Y., Lim, J. and Kim, J.H. 2014. The *Arabidopsis thaliana* GRF-INTERACTING FACTOR gene family plays an essential role in control of male and female reproductive development. *Dev. Biol.*, 386(1),12–24.
- Lentz, D.L., Pohl, M.D., Alvarado, J.L., Tarighat, S. and Bye, R. 2008. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) as a pre-Columbian domesticate in Mexico. *PNAS*, 105(17), 6232-6237.
- Lelli, K.M., Slattery, M. and Mann, R.S. 2012. Disentangling the many layers of eukaryotic transcriptional regulation. *Annu. Rev. Genet.*, 46(1), 43–68. doi: 10.1146/annurev-genet-110711-155437.
- Letunic, I., Doerks, T. and Bork, P. 2012. SMART 7: recent updates to the protein domain annotation resource. *Nucleic Acids Res.*, 40(Database issue), 302-305.
- Levine, M. and Davidson, E.H. 2005. Gene regulatory networks for development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102(14), 4936–4942. doi: 10.1073/pnas.0408031102.
- Li, Y.F., Zheng, Y., Addo-Quaye, C., Zhang, L., Saini, A., Jagadeeswaran, G., Axtell, M.J., Zhang, W. and Sunkar, R. 2010. Transcriptome-wide identification of microRNA targets in rice. *Plant J.*, 62(5),742–759.
- Li, J.N., Liu P., Zhang A., Lu K., Yang B., Jian H. and Ma J. 2017. Genome-wide analysis and expression profiling of the GRF gene family in oilseed rape (*Brassica napus* L.) *Gene.*, 620, 36-45.
- Li, J., Han, S., Ding, X., He, T., Dai, J. and Yang, S. 2015. Comparative transcriptome analysis between the cytoplasmic male sterile line NJCMS1A and its maintainer NJCMS1B in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *PLoS ONE*, 10(5), 1-18. doi: 10.1371/journal.pone.0126771.
- Liang, G., He, H., Li, Y., Wang, F. and Yu, D. 2014. Molecular mechanism of microRNA396 mediating pistil development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 164(1), 249–258.
- Liu, D., Song, Y., Chen, Z. and Yu, D. 2009. Ectopic expression of miR396 suppresses GRF target gene expression and alters leaf growth in *Arabidopsis*. *Physiol. Plant*, 136(2), 223–236.
- Liu, H., Guo, S., Xu, Y., Li, C., Zhang, Z., Zhang, D., Xu, S., Zhang, C. and Chong, K. 2014a. OsmiR396d-regulated OsGRFs function in floral organogenesis in rice through binding to their targets OsJMJ706 and OsCR4. *Plant Physiol.*, 165(1),160–174.
- Liu, H., Tian, X., Li, Y., Wu, C. and Zheng, C. 2008. Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *RNA* 14(5), 836–843.
- Liu, J., Rice, J.H., Chen, N., Baum, T.J. and Hewezi, T. 2014b. Synchronization of developmental processes and defense signaling by growth regulating transcription factors. *PLoS One*, 9(5), e98477-e98491.
- Liu, L., White, M.J. and MacRae, T.H. 1999. Transcription factors and their genes in higher plants functional domains, evolution and regulation. *Eur. J. Biochem.*, 262(2), 247–257.

- Liu, J., Hua, W., Yang, H.-L., Zhan, G.-M., Li, R.-J., Deng, L.-B., Wang, X.-F., Liu, G.-H. and Wang, H.-Z. 2012. The BnGRF2 gene (GRF2-like gene from *Brassica napus*) enhances seed oil production through regulating cell number and plant photosynthesis. *J. Exp. Bot.*, 63(10), 3727–3740.
- Luo, A.-D., Liu, L., Tang, Z., Bai, X., Cao, S.-Y. and Chu, C. 2005. Down-regulation of OsGRF1 gene in rice *rhd1* mutant results in reduced heading date. *J. Integr. Plant Biol.*, 47(6), 745–752.
- Mueller-Roeber, B., Omidbakhshfard, M.A., Proost, S. and Fujikura, U. 2015. Growth-Regulating Factors (GRFs): A Small Transcription Factor Family with Important Functions in Plant Biology. *Molecular Plant.*, 8(7), 998–1010.
- Nas, S., Gökalp, H.Y. ve Ünsal, M. 1992. Bitkisel Yağ Teknolojisi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:723, Erzurum.
- Orenstein, Y. and Shamir, R. 2016. Modeling protein–DNA binding via highthroughput *in vitro* technologies. *Brief Funct. Genomics*, 16(3), 171-180.
- Osnato, M., Stile, M.R., Wang, Y., Meynard, D., Curiale, S., Guiderdoni, E., Liu, Y., Horner, D.S., Ouwerkerk, P.B.F. and Pozzi, C. 2010. Cross talk between the KNOX and ethylene pathways is mediated by intron-binding transcription factors in barley. *Plant Physiol.*, 154(4), 1616–1632.
- Osorio, J. 2016. Gene regulation: landscape and mechanisms of transcription factor cooperativity. *Nat. Rev. Genet.*, 17(1),5. doi: 10.1038/nrg.2015.11.
- Pajoro, A., Madrigal, P., Muino, J.M., Matus, J.T., Jin, J., Mecchia, M.A., Debernardi, J.M., Palatnik, J.F., Balazadeh, S., Arif, M., O'Maoileidigh, D.S., Wellmer, F., Krajewski, P., Reichmann, J., Angenent, G.C. and Kaufmann K. 2014. Dynamics of chromatin accessibility and gene regulation by MADSdomain transcription factors in flower development. *Genome Biology*, 15(3), R41-R109.
- Pandey, A., Misra, P., Bhambhani, S., Bhatia, C. and Trivedi, P.K. 2014. Expression of *Arabidopsis* MYB transcription factor, AtMYB111, in tobacco requires light to modulate flavonol content. *Sci. Rep.*, 4(5018), 1-10. doi: 10.1038/srep05018.
- Payne, J.L. and Wagne, A. 2015. Mechanisms of mutational robustness in transcriptional regulation. *Front. Genet.*, 6(2015), 322-375. doi: 10.3389/fgene.2015.00322.
- Pecenova, L. and Farkas, R. 2016. Multiple functions and essential roles of nuclear receptor coactivators of bHLH-PAS family. *Endocr. Regul.*, 50(3), 165–181. doi: 10.1515/enr-2016-0019.
- Pireyre, M. and Burow, M. 2015. Regulation of MYB and bHLH transcription factors: a glance at the protein level. *Mol. Plant.*, 8(3), 378–388. doi: 10.1016/j.molp.2014.11.022.
- Priyam, A., Woodcroft, B. J., Rai, V., Munagala, A., Moghul, I., Ter, F., Gibbins, M. A., Moon, H., Leonard, G., Rumpf, W. and Wurm, Y. 2015. Sequenceserver: a modern graphical user interface for custom BLAST databases. (This article is a preprint and has not been peer-reviewed) doi: 10.1101/033142.

- Raventos, D., Skriver, K., Schlein, M., Karnahl, K., Rogers, S.W., Rogers, J.C. and Mundy, J. 1998. HRT, a novel zinc finger, transcriptional repressor from barley. *J. Biol. Chem.*, 273(36), 23313–23320.
- Rodriguez, R.E., Mecchia, M.A., Debernardi, J.M., Schommer, C., Weigel, D. and Palatnik, J.F. 2010. Control of cell proliferation in *Arabidopsis thaliana* by microRNA miR396. *Development.*, 137(1) 103–112.
- Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol.*, 4(4), 406–425.
- Salih, H., Gong, W., He, S., Sun, G., Sun, J. and Du, X. 2016. Genome-wide characterization and expression analysis of MYB transcription factors in *Gossypium hirsutum*. *BMC Genet.*, 17(1), 129-141. doi: 10.1186/s12863-016-0436-8.
- Sakuma, Y., Maruyama, K., Osakabe, Y., Qin, F., Seki, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2006). Functional analysis of an *Arabidopsis* transcription factor, DREB2A, involved in drought responsive gene expression. *Plant Cell*, 18(5), 1292–1309.
- Sharma, N., Bhalla, P.L. and Singh, M.B. 2013. Transcriptome-wide profiling and expression analysis of transcription factor families in a liverwort, *Marchantia polymorpha*. *BMC Genomics*, 14(1), 915-932. doi: 10.1186/1471-2164-14-915.
- Shiu, S.H., Shih, M.C. and Li W.H. 2005. Transcription factor families have much higher expansion rates in plants than in animals. *Plant Physiol.*, 139(1), 18–26. doi: 10.1104/pp.105.065110.
- Sunkar, R. and Jagadeeswaran, G. 2008. *In silico* identification of conserved microRNAs in large number of diverse plant species. *BMC Plant Biol.*, 8(37), 1-13.
- Sunkar, R., Girke, T., Jain, P. and Zhu, J. 2005. Cloning and characterization of microRNAs from rice. *Plant Cell*, 17(5), 1397–1411.
- Szakasits, D., Heinen, P., Wiczorek, K., Hofmann, J., Wagner, F., Kreil, D.P., Sykacek, P., Grundler, F.M.W. and Bohlmann, H. 2009. The transcriptome of syncytia induced by the cyst nematode *Heterodera schachtii* in *Arabidopsis* roots. *Plant J.*, 57(5), 771–784.
- Tan, Ş. 2007. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Çiftçi Broşürü No: 136 Ayçiçeği Tarımı. Web sitesi: <http://www.tavasziraaodasi.org.tr/urunler/69/aycicegi/>, Erişim Tarihi: 16.10.2017.
- Tamura, K., Kumar S. and Stecher G. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*, 22(22), 4673-4680.

- Treich, I., Cairns, B.R., de los Santos, T., Brewster, E. and Carlson, M. 1995. SNF11, a new component of the yeast SNF-SWI complex that interacts with a conserved region of SNF2. *Mol. Cell Biol.*, 15(8), 4240–4248.
- Tsukaya, H. 2002. Interpretation of mutants in leaf morphology: genetic evidence for a compensatory system in leaf morphogenesis that provides a new link between cell and organismal theories. *Int. Rev. Cytol.*, 217(2002), 1–39.
- Tufan, T. 2013. Transkripsiyon faktörleri ve evrim. Web sitesi: <https://evrimagaci.org/photo/tr/transkripsiyon-faktorleri-ve-evrim> Erişim Tarihi: 17.01.2018.
- Van der Knaap, E., Kim, J.H. and Kende, H. 2000. A novel gibberellin-induced gene from rice and its potential regulatory role in stem growth. *Plant Physiol.*, 122(3), 695–704.
- Voorrips, R.E. 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity*, 93(1), 77-78.
- Wang, S., Li, J., Dai, J., Zhang, T., Jia, G., Li, B. and Zhang, D. 2008. Isolation and characterization of genes encoding GRF transcription factors and GIF transcriptional coactivators in maize (*Zea mays* L.) *Plant Science*, 175(6), 809-817.
- Wang, F., Qiu, N., Ding, Q., Li, J., Zhang, Y., Li, H. and Gao, J. 2014. Genome-wide identification and analysis of the growth-regulating factor family in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*). *BMC Genomics*, 15(807), 1-12.
- Wang, H., Wang, H., Shao, H. and Tang, X. 2016. Recent advances in utilizing transcription factors to improve plant abiotic stress tolerance by transgenic technology. *Front. Plant Sci.*, 7(67), 1-13. doi: 10.3389/fpls.2016.00067.
- Wang, L., Gu, X., Xu, D., Wang, W., Wang, H. Zeng, M., Chang, Z., Huang, H. and Cui, X. 2011. miR396-targeted AtGRF transcription factors are required for coordination of cell division and differentiation during leaf development in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.*, 62(2), 761–773.
- Wang, M., Wang, Q. and Zhang, B. 2013. Response of miRNAs and their targets to salt and drought stresses in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Gene.*, 530(1), 26–32.
- Wong, D.C.J., Schlechter, R., Vannozzi, A., Höll, J., Hmam, I. and Bogs, J. 2016. A systems-oriented analysis of the grapevine R2R3-MYB transcription factor family uncovers new insights into the regulation of f stilbene accumulation. *DNA Res.*, 23(5), 451-466. doi: 10.1093/dnares/dsw028
- Wu, L., Zhang, D., Xue, M., Qian, J., He, Y. and Wang, S. 2014. Overexpression of the maize GRF10, an endogenous truncated growth-regulating factor protein, leads to reduction in leaf size and plant height. *J. Integr. Plant Biol.*, 56(11), 1053–1063.

- Wynn, A.N., Rueschhoff, E.E. and Franks, R.G. 2011. Transcriptomic characterization of a synergistic genetic interaction during carpel margin meristem development in *Arabidopsis thaliana*. PLoS One 6(10), e26231-e26247.
- Yan, X., Dong, C., Yu, J., Liu, W., Jiang, C. and Liu, J. 2013. Transcriptome profile analysis of young floral buds of fertile and sterile plants from the self-pollinated offspring of the hybrid between novel restorer line NR1 and Nsa CMS line in *Brassica napus*. BMC Genomics, 14(26), 1-16. doi: 10.1186/1471-2164-14-26.
- Yang, J., Zhang, J., Li, Z., Jin, J., Xie, X., Zhang, H., Chen, Q. and Luo, Z. 2017. Genome-wide identification and analysis of the growth-regulating factor family in tobacco (*Nicotiana tabacum*). Gene, 639(2018), 117-127. doi: 10.1016/j.gene.2017.09.070.
- Yang, F., Liang, G., Liu, D. and Yu, D. 2009. *Arabidopsis* miR396 mediates the development of leaves and flowers in transgenic tobacco. J. Plant Biol., 52(5), 475–481.
- Yu, H. and Gerstein, M., 2006. Genomic analysis of the hierarchical structure of regulatory networks. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 103(40), 14724–14731. doi: 10.1073/pnas.0508637103.
- Yurdagül, M. and Ersoy, Ü. 1997. The fats and oils market in Turkey with special emphasis to its export. AOCS, The World Oil Conference, İstanbul.
- Zhang, D.F., Li, B., Jia, G.Q., Zhang, T.F., Dai, J.-R., Li, J.S. and Wang, S.C. 2008. Isolation and characterization of genes encoding GRF transcription factors and GIF transcriptional coactivators in maize (*Zea mays* L.). Plant Sci., 175(6), 809–817.
- Zhang, X., Dong, J., Liu, H., Wang, J., Qi, Y. and Liang, Z. 2016. Transcriptome sequencing in response to salicylic acid in *Salvia miltiorrhiza*. PLoS ONE, 11(1), e0147849-e0147876. doi: 10.1371/journal.pone.0147849.
- Zhou, J., Liu, M., Jiang, J., Qiao, G., Lin, S., Li, H., Xie, L. and Zhuo, R. 2012. Expression profile of miRNAs in *Populus cathayana* L. and *Salix matsudana* Koidz under salt stress. Mol. Biol. Rep., 39(9), 8645–8654.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Türkan Bengü TAŞDAN

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 15.10.1993

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Ayrancı Aysel Yüçetürk Anadolu Lisesi (2011)

Lisans : Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (Haziran 2015)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Eylül 2015-Haziran 2018)

Ulusal Kongre Sunumu

1. **Taşdan T.B.**, Tipoğlu H.P., Şahin S. ve Özsoy N. 2015. Tip-2 Diyabetin Sıçan Karaciğeri Üzerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. 22. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 10-14 Ağustos 2015, Ankara, Türkiye.
2. **Taşdan T.B.**, Çifci S.K., Büyükkartal H. N. 2015. *Medicago sativa* cv Elçi (Fabaceae)'da Tohum Kabuğu Yapısı. 22. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 10-14 Ağustos 2015, Ankara, Türkiye.