

**T.C.**  
**KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI**



**KENEVİR BİTKİSİNDE AGRONOMİK AÇIDAN ÖNEMLİ  
GENLERİN BİYOİNFORMATİK YÖNTEMLER İLE  
BELİRLENMESİ**

**NECDET MEHMET ÜNEL**

**DOKTORA TEZİ**

**PROF. DR. MEHMET CENGİZ BALOĞLU**

**ARALIK - 2024**

**KASTAMONU**

## TEZ ONAYI

NECDET MEHMET ÜNEL tarafından hazırlanan “KENEVİR BİTKİSİNDE AGRONOMİK AÇIDAN ÖNEMLİ GENLERİN BİYOİNFORMATİK YÖNTEMLER İLE BELİRLENMESİ” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **10.12.2024** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

<b>Danışman</b>	Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU Kastamonu Üniversitesi	.....
<b>Jüri Üyesi</b>	Prof. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU Kastamonu Üniversitesi	.....
<b>Jüri Üyesi</b>	Prof. Dr. Hakan ŞEVİK Kastamonu Üniversitesi	.....
<b>Jüri Üyesi</b>	Prof. Dr. Selim AYTAÇ Ondokuz Mayıs Üniversitesi	.....
<b>Jüri Üyesi</b>	Prof. Dr. Ekrem GÜREL Abant İzzet Baysal Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Doç. Dr. Selçuk MEMİŞ .....

## TAAHHÜTNAME

*Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.*

**Necdet Mehmet ÜNEL**

## ÖZET

### DOKTORA TEZİ

## KENEVİR BİTKİSİNDE AGRONOMİK AÇIDAN ÖNEMLİ GENLERİN BİYOİNFORMATİK YÖNTEMLER İLE BELİRLENMESİ

NECDET MEHMET ÜNEL

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI  
DANIŞMAN: PROF. DR. MEHMET CENGİZ BALOĞLU

Bu çalışma, yerli kenevir (*Cannabis sativa* L.) çeşitleri olan "Narlı" ve "Vezir"de brassinosteroidlerin (BR) ve BR inhibitörü brassinazole'un (BRZ) etkilerini morfolojik açıdan incelemiştir. Diğer yandan, *Cannabis sativa* türüne özgü TF proteinlerini içeren bir veri tabanı oluşturulmuş, Cannbio-2 genom birleştirmesinde korunmuş peptid domainleri ile belirlenmiş 57 TF ailesine ait toplam 1.323 TF geni tanımlanmış ve biyoinformatik yöntemler kullanılarak karakterize edilmiştir. Kromozomal lokasyonları, gen yapıları, peptidlerinin fizikokimyasal özellikleri, korunmuş peptid motifleri, filogenetik ilişkileri, tahmini 3 boyutlu peptid yapıları, dizi bilgileri biyoinformatik analizler ile belirlenmiş ve veritabanına yüklenmiştir. *Cannabis sativa* genomunda kodlanan tüm TFlerin tahminlemesini yapabilmek amacıyla bir hibrit derin öğrenme modeli geliştirilmiştir. Bu model, Word2Vec tabanlı dizi temsili Convolutional Neural Networks (CNN), çift yönlü Geçitli Tekrarlayan Birim (BiGRU) ve Dikkat mekanizmasıyla birleştirmiştir. Model, 13.499 peptitlik veri seti ile eğitilmiş; %97,80 doğruluk ve %97,74 F1-skora ulaşarak, bu proteinlerin sınıflandırılmasında mevcut yöntemlere göre üstün bir performans sergilemiştir. Narlı ve Vezir çeşitleri kontrollü koşullarda yetiştirilmiştir. Farklı gelişimsel dönemlerde uygulanan BR ile BRZ, bitki boyu ve teknik sap uzunluğu parametrelerini anlamlı şekilde etkilemiştir. Erkek bitkiler, dişilere kıyasla BR uygulamasına özellikle daha güçlü yanıt vermiştir. Erkek bitkiler, dişilere oranla BR uygulamalarına daha güçlü bir yanıt vermiş, bu da potansiyel lif veriminde artışa işaret etmiştir. BR uygulamaları, bitki boyu ve teknik sap uzunluğu gibi büyüme parametrelerini artırırken, BRZ uygulaması bu etkileri baskılamıştır. Bu bulgular, kenevir tarımı ve brassinosteroidlerin tarımsal uygulamalardaki potansiyel kullanımları için yeni ufuklar sunmaktadır. Ayrıca, bu çalışma kapsamında geliştirilmiş biyoinformatik araçlar ve derin öğrenme tabanlı sınıflandırma modeli, kenevir genomunda yer alan TF genlerinin kapsamlı ve yüksek doğrulukla tanımlanmasına imkân tanımıştır. Bu yaklaşım, gelecekte lif gelişimi, stres toleransı ve metabolik düzenleme gibi konularda kenevirin genetik temellerini aydınlatacak ileri çalışmalar için stratejik bir başlangıç noktası oluşturmaktadır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Kenevir, transkripsiyon faktörü, genomiks, stres yanıtı, *Cannabis sativa*, brassinosteroid, lif, Narlı, Vezir

Aralık 2024, 92 Sayfa

## ABSTRACT

### PH.D THESIS

#### DETERMINATION OF AGRONOMICALLY IMPORTANT GENES IN CANNABIS PLANT BY BIOINFORMATICS METHODS

NECDET MEHMET ÜNEL

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE  
DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERING  
SUPERVISOR: PROF. DR. MEHMET CENGİZ BALOĞLU

This study morphologically investigated the effects of brassinosteroids (BR) and BR inhibitor brassinazole (BRZ) in the local cannabis (*Cannabis sativa* L.) cultivars “Narlı” and “Vezir”. On the other hand, a database of *Cannabis sativa*-specific TF proteins was created, and a total of 1,323 TF genes belonging to 57 TF families identified with peptide domains conserved in the Cannbio-2 genome assembly were identified and characterized using bioinformatics methods. Chromosomal locations, gene structures, physicochemical properties of their peptides, conserved peptide motifs, phylogenetic relationships, predicted 3D peptide structures, sequence information were determined by bioinformatics analysis and uploaded to the database. A hybrid deep learning model was developed to predict all TFs encoded in the *Cannabis sativa* genome. This model combines Word2Vec based sequence representation with Convolutional Neural Networks (CNN), Bidirectional Gated Recurrent Unit (BiGRU) and Attention mechanism. The model was trained on a dataset of 13,499 peptides and achieved 97.80% accuracy and 97.74% F1-score, outperforming existing methods in classifying these proteins. Narlı and Vezir varieties were grown under controlled conditions. BR and BRZ applied at different developmental stages significantly affected plant height and technical stem length parameters. Male plants responded particularly stronger to BR treatment compared to females. Male plants responded more strongly to BR treatments than females, indicating an increase in potential fiber yield. BR treatments increased growth parameters such as plant height and technical stem length, while BRZ treatment suppressed these effects. These findings offer new horizons for hemp agriculture and potential uses of brassinosteroids in agricultural applications. Furthermore, the bioinformatics tools and deep learning-based classification model developed in this study enabled the comprehensive and highly accurate identification of TF genes in the cannabis genome. This approach provides a strategic starting point for future studies that will elucidate the genetic basis of cannabis in fiber development, stress tolerance and metabolic regulation.

**KEYWORDS:** Hemp, transcription factor, genomics, stress response, *Cannabis sativa*, brassinosteroid, fiber, Narlı, Vezir

December 2024, 92 Page

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasını hazırlarken bana destek olan, bilgi ve tecrübeleriyle yol gösteren tüm değerli isimlere ve bana güç veren yakınlarıma en içten teşekkürlerimi sunmak isterim. Öncelikle, çalışmalarım boyunca rehberlik eden, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli danışmanım Prof. Dr. Mehmet Cengiz BALOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim. Onun yol gösterici tavsiyeleri ve sürekli desteği, bu çalışmanın tamamlanmasında büyük bir rol oynamıştır. Ayrıca, tez savunma jürimde yer alarak değerli geri bildirimleriyle çalışmamı geliştirmeme olanak sağlayan saygıdeğer jüri üyelerine içten teşekkürlerimi sunarım. Bu süreçte bilimsel katkılarıyla beni destekleyen ve çalışmalarımın yol gösterici olan Prof. Dr. Yasemin ÇELİK ALTUNOĞLU, araştırmada verdiği destekle önemli katkılarda bulunan Dr. Öğretim Üyesi Ferhat ULU ve analiz süreçlerinde sağladığı yardımlarla çalışmamın ilerlemesine katkı sağlayan Araştırma Görevlisi Mustafa ÖÇAL'a şükranlarımı iletmek isterim. Bilgisayar bilimleri alanındaki önemli desteklerinden dolayı Dr. Öğretim Üyesi Ali Burak ÖNCÜL'e çok teşekkür ederim. Araştırmam süresince yardımları ve iş birliği için Plantomics Araştırma Laboratuvarı ekibine teşekkürü bir borç bilirim. Ekip arkadaşlarımdan sağladığı destek, çalışmamın başarıyla ilerlemesine büyük katkı sağlamıştır. Bu çalışmayı mümkün kılmamda en büyük motivasyon kaynağım olan sevgili eşim Sena MENCÜTEKİN ÜNEL'e ayrıca teşekkür ederim. Onun anlayışı, sabrı ve sevgisi, bu sürecin en zorlu anlarında bile bana güç vermiştir. Son iki ayda hayatımıza katılarak doktora yolculuğuma bambaşka bir anlam kazandıran sevgili kızım Ada'ya da özel bir teşekkür etmek isterim. Onun varlığı, bu zorlu sürecin son aylarını daha anlamlı, daha huzurlu ve daha güzel kıldı. Doktora sürecimin özellikle son aylarında büyük destek sağlayan İrem YEZER'e minnettarım. Ve tabii ki Kağan KABA'ya teşekkür ederim. Son olarak, her zaman yanımda olan ve sevgileriyle beni destekleyen sevgili annem, babam ve kardeşime en derin teşekkürlerimi sunarım. Onların varlığı, bu süreçte bana moral ve motivasyon sağlamıştır. Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından, 124Z054 numaralı "Brassinosteroidlerle Kenevir Lif Gelişiminin Aydınlatılması: Yerli Kenevir Çeşitlerinde Transkriptomik ve Morfolojik Yaklaşım" isimli proje kapsamında desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim. Kenevirlerin yetiştirilmesi için gerekli izinleri sağlayan T.C. Kastamonu Valiliği İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'ne teşekkür ederim. Bu tez çalışmasının her aşamasında bana katkı sağlayan herkese tekrar teşekkür ederim.

NECDET MEHMET ÜNEL

Kastamonu, 2024

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

<b>TEZ ONAYI</b> .....	<b>ii</b>
<b>TAAHHÜTNAME</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>vi</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1 Çok Amaçlı Bir Ürün Olarak <i>Cannabis sativa</i> 'ya Genel Bakış .....	1
1.2 Kenevir ve Endüstriyel Önemi.....	2
1.3 Kenevir Liflerinin Kalitesini Etkileyen Faktörler .....	4
1.4 Bitki Gelişiminde Brassinosteroidler .....	6
1.5 Brassinosteroidlerin Lif Gelişimindeki Rollerini.....	8
1.6 Kenevir Üzerine BR Araştırmalarında Bilgi Açığı.....	12
1.7 Bitki Büyüme ve Gelişiminde Transkripsiyon Faktörleri (TF) .....	13
1.8 <i>Cannabis sativa</i> 'da Bulunan Transkripsiyon Faktörleri .....	15
1.9 Bitki Biliminde Biyoinformatik ve Yapay Zeka Alanındaki Gelişmeler .....	18
1.10 Protein Sınıflandırması ve Biyoinformatikte Yapay Zeka Uygulaması .....	19
1.11 <i>Cannabis sativa</i> 'da Özel Bir TF Veritabanı İhtiyacı.....	21
1.12 Yerel Kenevir Çeşitlerinin İncelenmesinin Önemi: Narlı ve Vezir .....	22
1.13 Çalışmanın Amacı ve Hedefleri .....	24
<b>2. YÖNTEM</b> .....	<b>26</b>
2.1 Veri Tabanı Oluşturulması ve Yapay Zeka Aracının Geliştirilmesi.....	26
2.1.1 Veri Toplama ve Veri Seti Hazırlama .....	26
2.1.2 <i>Cannabis sativa</i> Transkripsiyon Faktör Ailesi Üyelerinin Biyoinformatik Analiz ile Karakterizasyonu .....	27
2.1.3 Veri Ön İşleme ve Hazırlık .....	29
2.1.4 Veri Seti ve Model Eğitimi .....	30
2.1.5 Derin Öğrenme Modeli .....	30
2.1.6 Websitesi Hazırlanması ile Veri Tabanının Çevrimiçi Hale Getirilmesi .....	32
2.2 Bitki Yetiştirilmesi ve Morfolojik Analizler.....	33
2.2.1 Bitki Materyalinin Büyütülmesi ve Hormonal Uygulamalar .....	33
2.2.2 Örneklerin Toplanması ve Saklanması .....	34
2.2.3 Morfolojik ve Fizyolojik Analizler .....	34
2.2.4 İstatistiksel Analizler .....	36
<b>3. BULGULAR</b> .....	<b>37</b>
3.1 Veri Tabanı ve Yapay Zeka Aracı .....	37
3.2 Bitkilerin Yetiştirilmesi, Uygulamalar.....	53
<b>4. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>66</b>

<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>69</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>87</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>90</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 İş akış şeması ve örnek dağılımları.....	35
Şekil 3.1 Kenevir genomunda kodlanan bZIP ailesi üyelerinin filogenetik ilişkileri.....	41
Şekil 3.2 Kenevir genomunda kodlanan bazı transkripsiyon faktörü ailesi üyelerine ait proteinlerin 3 boyutlu yapıları .....	43
Şekil 3.3 Kenevir genomunda kodlanan AP2 genlerinin ekzon intron organizasyonları.....	46
Şekil 3.4 bHLH transkripsiyon faktörü ailesi ait proteinlerin protein-protein etkileşim ağları .....	48
Şekil 3.5 CannaTFDB websitesi ana sayfa görüntüsü.....	49
Şekil 3.6 CannaTFDB All Table S1 sayfa görüntüsü .....	49
Şekil 3.7 CannaTFDB'de yer alan TF ailesi üyelerine ait sayfa görüntüsü .....	50
Şekil 3.8 Sürecin farklı noktalarında kenevir bitkileri.....	54
Şekil 3.9 Uygulamaların teknik sap uzunluğu üzerindeki etkileri.....	55
Şekil 3.10 Bitki boyunun kenevir çeşitleri ve uygulamalara göre değişimleri.....	57
Şekil 3.11 Bitki boyunun kenevir çeşitleri ve gelişimsel süreçlere göre değişimi ....	58
Şekil 3.12 Bitki boyunun kenevir çeşitleri ve cinsiyetlere göre değişimi.....	59
Şekil 3.13 Teknik sap uzunluğunun kenevir çeşitleri ve uygulamalara göre değişimleri .....	60
Şekil 3.14 Farklı gelişimsel dönemde Narlı ve Vezir çeşitlerinin ortalama boyları..	61
Şekil 3.15 Cinsiyet ve uygulama etkileşimlerinin ortalama boy üzerine etkileri .....	62
Şekil 3.16 Uygulamaların bitki boyu, teknik sap uzunluğu ve sap kalınlığı üzerine etkileri. ....	65

## TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 2.1</b> Derin öğrenme modelinin eğitiminde kullanılan genom birleştirmeleri... 26	
<b>Tablo 2.2</b> Önerilen derin öğrenme modelinin tasarımı .....	32
<b>Tablo 3.1</b> Cannabis sativa genomunda belirlenen transkripsiyon faktörü aileleri ve üye sayıları.....	37
<b>Tablo 3.2</b> Önerilen modelin diğer benzer çalışmalarla karşılaştırılması.....	52



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

°C	:Santigrad
~	:Yaklaşık olarak
μ	:Mikro
μmol	:Mikromol
μM	:Mikromolar
μl	:Mikrolitre

### Kısaltmalar

A	:Adenin
aa	:Aminoasit
ABA	:Absisik Asit
AFPs	:Anti-Freezeing Proteins
ATP	:Adenozin Tri Fosfat
bç	:Baz Çifti
bZIP	:Basic Leucine Zipper
C	:Sitozin
CBD	:Kannabidiol
cDNA	:Komplementer DNA
cm	:Santimetre
CO <sub>2</sub>	:Karbondioksit
Ct	:Cycle Threshold (Döngü Eşiği)
Da	:Dalton- Atomik kütle birimi
DEPC	:Dietyl pyrokarbonat
dk	:Dakika
DNA	:Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	:Deoksiribonükleotid Trifosfat
dTMP	:Deoksitimidin Monofosfat
dTTP	:Deoksitimidin Trifosfat
EDTA	:Etilendiamin Tetraasetik Asit
FAO	:Food and Agriculture Organization
G	:Guanin
Ka	:Homolog Olmayan Değişim Oranı
kDa	:Kilodalton
Ks	:Homolog Değişim Oranı
Ks/Ka	:Homolog Değişimlerin Homolog Olmayan Değişimlere
L	:Litre
m	:Metre
M	:Molar
Mbç	:Bir Milyon Baz Çifti
mg	:Miligram
MgCl <sub>2</sub>	:Magnezyum Klorür
ml	:Mililitre
M.Ö	:Milattan Önce
MYÖ	:Milyon Yıl Önce

<b>ng</b>	:Nanogram
<b>PDB</b>	:Protein Data Bank
<b>PEG</b>	:Polietilen Glikol 6000
<b>PZR</b>	:Polimer Zincir Reaksiyonu
<b>pl</b>	:İzoelektronik Etki Değeri
<b>Ppi</b>	:Pirofosfat
<b>RNA</b>	:Ribonükleik Asit
<b>SMP</b>	:Seed Maturation Protein (Tohum Olgunlaşma Proteini)
<b>sn</b>	:Saniye
<b>SRA</b>	:Sequence Read Archive
<b>T</b>	:Timin
<b>TAE</b>	:Tris-Asetat Tamponu
<b>THC</b>	:Tetrahidrokannabinol
<b>Tm</b>	:Erime Sıcaklığı- Hidrojen Bağlarının Oluştuğu Sıcaklık
<b>Tris</b>	:Tris (hidroksimetil)aminomethane
<b>UTR</b>	:Untranslated Region (Çevrilmeyen Bölgeler) Kısaltma



# 1. GİRİŞ

## 1.1 Çok Amaçlı Bir Ürün Olarak *Cannabis sativa* 'ya Genel Bakış

*Cannabis sativa* (kenevir), tıbbi, endüstriyel ve ekolojik bir güç merkezi olarak ortaya çıkan, çoklu kullanım alanlarına sahip en eski ekili ürünlerden biridir. Selülozik ve odunsu lifleri nedeniyle halat ve tekstil üretiminde uzun bir geçmişe sahip olan kenevir, bir lif mahsulü olarak kategorize edilebilir. Ayrıca, tıbbi kenevir olarak adlandırılan ve tedavi amaçlı kullanılan bir ilaç hammaddesi olarak da kategorize edilebilir (Andre vd., 2016b). Endüstriyel kenevir (hemp, kendir) çeşitleri %0,3'ten az tetrahidrokannabinol (THC) içerirken, tıbbi kenevir tipik olarak bu metabolitin daha yüksek seviyelerine sahiptir ve genellikle bitkinin kuru ağırlığının %10'u ya da fazlasını oluşturmaktadır (Avico vd., 1985). *Cannabis sativa*, kannabinoidler, terpenler ve flavonoidler dahil olmak üzere 500'den fazla biyoaktif metabolit üretir.  $\Delta^9$ -tetrahidrokannabinol (THC) ve kannabidiol (CBD) gibi kannabinoidler vücuttaki kannabinoid reseptörleri ile etkileşime girerek ağrı kesici, anti-enflamatuar aktivite ve nöroproteksiyon gibi terapötik etkiler sağlar (Appendino vd., 2011). Mirsen ve limonen de dahil olmak üzere terpenler, genellikle kannabinoidlerle sinerjik olarak hareket ederek anti-enflamatuar ve antioksidan özelliklere katkıda bulunur (Downer, 2020). Kannabinoidler anksiyete, epilepsi ve TSSB (travma sonrası stres bozukluğu) gibi nöropsikiyatrik durumların yönetiminde ve kemoterapinin neden olduğu bulantı ve kronik ağrının azaltılmasında etkilidir (Murillo-Rodriguez vd., 2021). Kenevir türevleri, özellikle tümör büyümesini azaltma, ağrı yönetimini iyileştirme ve bulantı gibi yan etkileri hafifletmedeki rolleri nedeniyle kanser tedavisi için yoğun şekilde araştırılmaktadır (Abrams ve Guzman, 2015). Metabolomik (kannabinomik) alanındaki gelişmeler, enflamatuar ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisi de dahil olmak üzere çeşitli uygulamalar için kenevir türevi yeni farmasötiklerin keşfedilmesini sağlamaktadır (Aliferis ve Bernard-Perron, 2020). Kenevir, tekstil, halat ve biyoplastiklerde kullanılan güçlü ve dayanıklı lifler üretir. Hafif özellikleri onu inşaat (örneğin kenevir betonu) gibi sektörlerde çevre dostu bir alternatif haline getirmektedir (Hartsel vd., 2016). Kenevir liflerindeki selüloz içeriği, biyolojik olarak parçalanabilen plastiklere ve etanol bazlı biyoyakıtlara dönüştürülebilir ve küresel atık ve enerji

sorunlarına sürdürülebilir çözümler sağlar (Andre vd., 2016b). Kannabinoidler ve terpenler açısından zengin olan kenevir türevi uçucu yağlar, anti-enflamatuar ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle ilaç ve kozmetik endüstrilerinde değerlidir (Žugić vd., 2024). Kenevirin hızlı büyümesi ve yüksek biyokütle potansiyeli onu güçlü bir karbon tutucu haline getirmektedir. Ayrıca kirlenmiş toprakların fitoremediasyonunda rol alarak, ağır metalleri emer ve toprak sağlığını iyileştirir (Husain vd., 2019). Kenevirin minimum su ve pestisit gereksinimi, onu sürdürülebilir bir ürün olarak konumlandırmaktadır. Biyoçeşitliliği destekler ve toprak yapısını iyileştirmek ve erozyonu azaltmak için ürün rotasyonuna entegre edilebilmektedir (Junior vd., 2023). Kenevirin tıbbi ve endüstriyel kullanım için yasallaştırılması, 2028 yılına kadar 272 milyar doları aşacağı tahmin edilen pazar tahminleri ile küresel olarak ekonomik fırsatlar yaratmaktadır. Afrika gibi bölgelerde kenevir ekimi işsizliği giderebilir ve gayri safi yurtiçi hasılayı artırabilir (Junior vd., 2023). *Cannabis sativa* tıbbi, endüstriyel ve ekolojik bir güç merkezi olarak ortaya çıkmaktadır. Kannabinoidler ve terpenler aracılığıyla tedavi edici potansiyeli, endüstriyel çok yönlülüğü ve çevresel faydaları, kritik küresel zorlukların ele alınmasındaki rolünü vurgulamaktadır. Potansiyelinden tam anlamıyla faydalanmak için araştırmaların devam etmesi ve sürdürülebilir uygulamalara entegre edilmesi gerekmektedir.

## 1.2 Kenevir ve Endüstriyel Önemi

Kenevir en eski tekstil ürünlerinden biridir ve muhtemelen en az 6000 yıldır yetiştirilmektedir (Small, 2015). Günümüz dünyasında kenevir lifleri, benzersiz özelliklere sahip ekolojik, biyolojik olarak parçalanabilir ve yenilenebilir bir kaynak olarak çeşitli yenilikçi uygulamalarda kullanımları için büyük potansiyele sahiptir (Chernova vd., 2018). Kenevir, yapı sektöründe yalıtım ve akustik amaçlı, kağıt endüstrisinde (Karche, 2019; Zampori vd., 2013), tıbbi amaçlı, tekstil endüstrisinde (Poniatowska vd., 2019), biyoyakıt, kozmetik endüstrisinde (Rachel Jacob vd., 2022), yiyecek ve içecek endüstrisinde (Tedeschi vd., 2020) ve lif polimer matrisli kompozitlerde (Bernava vd., 2015) veya biyo-kompozitlerde cam ve karbon lifin yerine takviye olarak kullanılabilir (Brzyski ve Fic, 2017).

Kenevir lifi en güçlü doğal liflerden biridir ve yüksek gerilme mukavemeti ve çeşitli özellikleri nedeniyle önemli bir hammaddedir. Bu nedenle, kenevir sak lifleri

geleneksel olarak çeşitli kenevir ürünlerinde kullanılmaktadır (Andre vd., 2016a; Nechwatal vd., 2003). Kenevir liflerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri, çeşit türü, yetiştirme koşulu ve yöntemi, bitki büyüme aşaması, bitki yaşı ve lif işleme (Keller vd., 2001; Kostic vd., 2008), tek veya iki evcikli bir çeşitten elde edilip edilmediği ve enlem gibi birçok faktörden etkilenir (Sankari, 2000). Liflerin kalitesi temel olarak yumuşaklık, incelik, parlaklık ve lif demetlerinin uzunluk homojenliğine bağlıdır. Öncelikle genetik faktörlerin (Cromack, 1998; Petit vd., 2020) yanı sıra sulama (Fernandez-Tendero vd., 2017), azaltılmış dallanma (Clarke, 1981), tohum ekim yoğunluğu (Amaducci vd., 2000; Westerhuis vd., 2009), cinsiyet belirleme ve çiçeklenme zamanı (Salentijn vd., 2019) hasat zamanı ve ağartma yöntemi (Amaducci vd., 2005; Liu vd., 2015; Musio vd., 2018) gibi çeşitli diğer faktörler tarafından belirlenir. Ayrıca, hasat sırasındaki gelişim aşamasından da etkilenir (Salentijn vd., 2019).

*C. sativa*'nın gövdesinde ksilem ve floem lifleri olmak üzere iki tür lif bulunur. İkincisi sak lifleri olarak bilinir. Ksilem liflerinin hücre duvarları, negatif özsu basıncına karşı dayanıklılık ve direnç sağlamak için lignin ile doyurulurken (Wang vd., 2013), sak lifleri esas olarak kristalin selülozdan yapılıdır (ve kuru kütleinin %75-80'ini oluşturabilir (Gea vd., 2013). Sak lif hücre duvarlarının diğer bileşenleri hemiselülozlar (birincil hücre duvarında ksiloglukan ve ikincil hücre duvarında ksilan dahil olmak üzere %4), pektinler (%4), proteinler (%3), lignin (%2) ve eser miktarda fenolik asittir (<%0,01) (Crônier vd., 2005).

Bitki biyolojisi açısından lif, birkaç on mikrometreden fazla olmayan bir çapa sahip, birkaç on milimetre uzunluğa ulaşan, kalınlaşmış bir hücre duvarına sahip tek bir hücre olan sklerenkimanın bir unsurudur (Gorshkova vd., 2012). Kenevir gövdesinde, prokambiyumdan oluşan birincil floem lifleri ve kambiyum faaliyetinin sonucu olan ikincil floem lifleri vardır. Birincil lifler birincil meristemden oluştuğu için, bitki biyogenezi sırasında daha erken ortaya çıkarlar ve gövdenin altından üstüne kadar bulunurlar (Hernandez vd., 2007; Snegireva vd., 2015). İkincil floem lifleri gövdenin üst kısmında oluşmaz, gövdenin ortasına daha yakın bir yerde ortaya çıkar ve en fazla sayıda ikincil lif gövdenin alt kısmında bulunur. Gövde uzunluğu boyunca ikincil liflerin sayısı ve oluşumu, gövde çapına ve bitkilerin büyüme koşullarına bağlıdır (Fernandez-Tendero vd., 2017). İkincil floem liflerinin birincil olanlardan daha düşük

kalite parametrelerine sahip olduğu bilinmektedir (Pickering vd., 2007; Placet vd., 2014).

### **1.3 Kenevir Liflerinin Kalitesini Etkileyen Faktörler**

Kenevir liflerinin kalitesini etkileyen faktörler çok yönlüdür ve kenevirin çeşitli endüstriyel uygulamalar için uygunluğunu toplu olarak belirleyen genetik, çevresel ve gelişimsel unsurları kapsar. Farklı kenevir çeşitlerinin doğal genetik yapısı uzunluk, mukavemet, incelik ve selüloz içeriği gibi lif özelliklerini belirlediğinden, genetik faktörler çok önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin, Salentijn vd. (2015) kenevir çeşitlerindeki belirli genetik özelliklerin lif morfolojisi ve kimyasında önemli farklılıklara yol açarak tekstil ve kompozit malzemelerdeki performanslarını etkileyebileceğini vurgulamıştır (Salentijn vd., 2015). Arzu edilen genetik özellikleri seçmeyi ve geliştirmeyi amaçlayan ıslah programları, üstün lif özellikleriyle ilişkili belirli genetik belirteçleri seçerek hedeflenen ıslah stratejilerinin lif verimini ve kalitesini artırabileceğini bildiren Amaducci vd. (2015) tarafından gösterildiği gibi, lif kalitesini iyileştirme konusunda umut vaat etmektedir (Amaducci vd., 2015).

Yetiştirme sırasındaki çevresel koşullar da kenevir lif kalitesi üzerinde eşit derecede etkilidir. Toprak bileşimi, sıcaklık, yağış ve besin mevcudiyeti gibi faktörler bitki büyümesini ve lif gelişimini doğrudan etkiler. Struik vd. (2020), optimum nem seviyelerine sahip besin açısından zengin topraklarda yetiştirilen kenevirin daha yüksek selüloz içeriğine ve daha iyi mekanik özelliklere sahip lifler ürettiğini gözlemlemiştir (Struik vd., 2000). Ayrıca, aşırı nem liflerin aşırı çürümesine veya mikrobiyal bozulmasına yol açabileceğinden, yağış zamanlaması ve miktarı lif olgunluğunu ve çürüme süreçlerini etkileyebilir (Werf vd., 1996). İklim değişiklikleri ve iklim değişikliğine bağlı olarak hava koşullarının artan öngörülemezliği, tutarlı lif kalitesinin korunmasında zorluklar yaratmakta ve uyarlanabilir yetiştirme uygulamaları gerektirmektedir.

Dikim yoğunluğu, hasat zamanı ve hasattaki büyüme aşaması gibi gelişimsel faktörler lif özelliklerini daha da etkiler. Tsaliki vd. (2021), ekim yoğunluğunun gövde çapını ve lif demeti boyutunu etkilediğini, daha yüksek yoğunlukların tekstil uygulamaları için arzu edilen daha ince gövdelere ve daha ince liflere yol açtığını göstermiştir

(Tsaliki vd., 2021). Hasat zamanlaması kritiktir; çok erken hasat, daha düşük selüloz içeriğine sahip olgunlaşmamış liflerle sonuçlanabilirken, gecikmiş hasat lignifikasyona yol açarak lifleri daha kaba ve daha az esnek hale getirebilir (Musio vd., 2018). Mediavilla vd. (2016), optimum hasat zamanının lif verimini en üst düzeye çıkarmak ve kaliteyi korumak arasında bir denge olduğunu vurgulayarak, bitki gelişim aşamalarının hassas bir şekilde izlenmesinin gerekli olduğunu öne sürmüştür (Mediavilla vd., 2001).

Kenevir yetiştiriciliğindeki zorlukların üstesinden gelmek ve lif gelişimini artırmak için bu genetik, çevresel ve gelişimsel faktörlerin optimize edilmesi zorunludur. Bu faktörler arasındaki karmaşık etkileşim, bir alandaki iyileştirmelerin başka bir alanda ayarlamalar gerektirebileceği anlamına gelir. Örneğin, bazı elit kenevir çeşitlerinin yalnızca optimum tarımsal uygulamalar altında üstün lif nitelikleri sergilediğini tespit eden Tsaliki vd.'nin (2018) belirttiği gibi, yüksek lif kalitesine sahip bir çeşit seçmek, tam potansiyelini gerçekleştirmek için belirli çevresel koşullar gerektirebilir (Tsaliki vd., 2021). Ayrıca, kenevir çeşitlerinin yerel çevre koşullarına adaptasyonu çok önemlidir, çünkü toprak tuzluluğu veya benzersiz haşere baskıları gibi bölgeye özgü zorluklar, uygun şekilde yönetilmezse lif kalitesini olumsuz yönde etkileyebilir (Petit vd., 2020; Tsaliki vd., 2021).

Agronomik teknikler ve biyoteknolojideki gelişmeler, bu faktörleri optimize etmek için yollar sunmaktadır. Hassas tarım (Precision agriculture) teknolojileri, çiftçilerin toprak koşullarını, bitki sağlığını ve çevresel parametreleri gerçek zamanlı olarak izlemelerini sağlayarak lif kalitesini artırmak için bilinçli karar vermelerine olanak tanır (Campbell vd., 2018; Soussi vd., 2024). Genetik mühendisliği ve moleküler ıslah teknikleri, çevresel streslere karşı daha dayanıklı ve gelişmiş lif özelliklerine sahip kenevir çeşitleri geliştirme potansiyeline sahiptir (Schlattenhofer ve Yuan, 2017). Bu yenilikçi yaklaşımların entegre edilmesi, sürekli olarak yüksek kaliteli kenevir lifleri üreten ve çeşitli endüstrilerde artan talebi karşılayan sürdürülebilir yetiştirme uygulamalarına yol açabilir.

Sürdürülebilir bir hammadde olarak kenevire yönelik artan ilgi, bu alanda sürekli araştırma ve geliştirme ihtiyacının altını çizmektedir. Kenevir lifi kalitesiyle ilgili zorlukların ele alınması, agronomi, genetik, çevre bilimi ve teknolojiyi birleştiren

multidisipliner bir yaklaşım gerektirmektedir. Lif gelişimini etkileyen faktörleri optimize ederek kenevirin tüm potansiyelini ortaya çıkarmak, ekonomik büyümeye katkıda bulunmak ve çevre dostu endüstriyel uygulamaları teşvik etmek mümkündür.

#### 1.4 Bitki Gelişiminde Brassinosteroidler

Brassinosteroidler (BR'ler), bitki büyümesi ve gelişiminde önemli düzenleyiciler olarak ortaya çıkan bir polihidroksillenmiş steroidal fitohormon sınıfıdır. 1970'lerde *Brassica napus*'un polen özütlerinde keşfedilmelerinden bu yana, BR'ler çok çeşitli fizyolojik süreçler üzerindeki derin etkileriyle tanınmıştır (Grove vd., 1979). Bitki krallığında her yerde bulunurlar ve bitki biyolojisinde temel rollerde görev alırlar. BR'ler hücre uzamasını ve bölünmesini, vasküler farklılaşmayı, fotomorfogenezini, üreme gelişimini ve hem biyotik hem de abiyotik çeşitli çevresel uyaranlara verilen tepkileri modüle etmektedirler (Clouse ve Sasse, 1998; Nolan vd., 2020). Hücresel düzeyde BR'ler, hücre duvarı modifikasyonu ve sentezinde yer alan genlerin aktivasyonunun aracılık ettiği bir süreç olan hücre duvarını gevşeterek hücre genişlemesini teşvik etmektedirler (Fridman ve Savaldi-Goldstein, 2013). Bu etki, BR'lerin bitkilerin ışık ve besin maddelerine erişmesi için gerekli büyümeyi kolaylaştırdığı gövde ve köklerin uzaması sırasında özellikle önemlidir. BR'lerin selüloz sentaz genlerinin ekspresyonunu düzenlediğini ve böylece bitki hücre duvarının birincil bileşeni olan selülozun biyosentezini etkilediği gösterilmiştir (Percio vd., 2024; Xie vd., 2011). Bu düzenleme, hücre duvarı bütünlüğünü ve esnekliğini korumak, uygun büyüme ve yapısal gelişime izin vermek için çok önemlidir.

BR'ler ayrıca, bitkilerin iletken dokularını -ksilem ve floem- geliştirdiği süreç olan vasküler farklılaşmada da önemli bir rol oynar. Bu dokular su, besin maddeleri ve organik bileşiklerin bitki boyunca taşınması için hayati öneme sahiptirler. Furuya (2024), BR sinyal yollarının vasküler hücre farklılaşmasını düzenleyen anahtar transkripsiyon faktörleriyle etkileşime girdiğini bildirerek, hormonun bitkinin vasküler sistemini oluşturmadaki ayrılmaz rolünü vurgulamıştır (Furuya vd., 2024). Bu etkileşim, bitkilerin sürekli büyümeyi ve çevrelerine adaptasyonunu desteklemek için gerekli altyapıyı geliştirmelerini sağlar.

Büyüme düzenlemesine ek olarak, BR'ler üreme gelişimi ve doğurganlıkla da ilgilidir. Çiçek organı kimliği ve olgunlaşması ile ilgili gen ekspresyonunu modüle ederek çiçek ve meyve gelişimini etkilerler. Yu vd. (2020), Arabidopsis'te BR eksikliği olan mutantların çiçeklenmede gecikme ve doğurganlıkta azalma sergilediğini tespit ederek, yeterli BR seviyelerinin normal üreme süreçleri için gerekli olduğunu göstermiştir (Yu vd., 2008). Hormonun üreme başarısı üzerindeki etkisi, mahsul verimi ve kalitesi üzerinde önemli etkilere sahiptir ve bu da onu tarımsal üretkenlikte kritik bir faktör haline getirir. BR'ler ayrıca bitkilerin çevresel streslere verdiği tepkilere de aracılık eder. Strese duyarlı genleri ve proteinleri düzenleyerek bitkinin kuraklık, tuzluluk ve aşırı sıcaklık gibi çeşitli abiyotik streslere karşı direncini artırır (Vardhini ve Anjum, 2015). BR'lerin dışsal olarak uygulanmasının, antioksidan enzim aktivitelerini ve ozmoprotektan birikimini modüle ederek mısırdaki kuraklığa toleransını artırdığı gösterilmiştir (Gillani vd., 2022; Lei Liu vd., 2021; Zhang vd., 2011). Benzer şekilde, BR'ler, bitki içindeki savunma mekanizmalarını harekete geçirerek patojen saldırıları da dahil olmak üzere biyotik streslere karşı direnci artırmada rol oynamıştır (Nolan vd., 2020).

BR'lerin sinyal yolları karmaşıktır ve reseptörler, kinazlar, transkripsiyon faktörleri ve düzenleyici proteinlerden oluşan bir ağ içerir. BR sinyal kaskadı, hormonun hücre yüzeyi reseptörü BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 1 (BRI1) ve yardımcı reseptörü BRI1-ASSOCIATED RECEPTOR KINASE 1 (BAK1) tarafından algılanmasıyla başlar (Sun vd., 2020). Hormon bağlandıktan sonra, bir dizi fosforilasyon olayı sinyali hücre içinde iletir, sonuçta inhibitör proteinlerin deaktivasyonuna ve BRI1-EMS-SUPPRESSOR 1 (BES1) ve BRASSINAZOLE-RESISTANT 1 (BZR1) gibi BR'ye duyarlı transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna yol açar (Kim ve Wang, 2010). Bu transkripsiyon faktörleri, büyüme ve gelişim süreçleriyle ilişkili çok sayıda genin ifadesini düzenler.

BR'lerin lif gelişimi ile ilgisi, lif üreten bitkilerde özellikle önemlidir. BR'ler, selüloz ve lignin bakımından zengin kalınlaşmış ikincil hücre duvarlarına sahip özelleşmiş hücreler olan lif hücrelerinin farklılaşmasını ve uzamasını etkiler. Lif gelişimi çalışmaları için birincil model olan pamukta (*Gossypium hirsutum*), BR'lerin lif uzamasını ve kalitesini artırdığı gösterilmiştir. Sun vd. (2019), BR uygulamasının hücre duvarı biyosentezi ve modifikasyonunda yer alan genleri yukarı doğru

düzenleyerek lif uzunluğunu ve mukavemetini artırdığını göstermiştir. Çalışma, BR'lerin, lif hücresi uzaması için gerekli olan enerji ve hücre duvarı gevşemesini sağlamak için çok önemli olan sükroz sentaz ve ekspansin genlerinin ekspresyonunu uyardığını vurgulamıştır.

Pamuk lifleri ile kenevirdeki (*Cannabis sativa*) sak lifleri arasındaki yapısal benzerlikler göz önüne alındığında, BR'lerin kenevir lifi gelişiminde benzer bir rol oynaması olasıdır. Kenevir lifleri floem dokusunda bulunur ve bitkinin mekanik desteğinin ayrılmaz bir parçasıdır. BR seviyelerinin modülasyonu, sak lifi hücrelerinin çoğalmasını ve uzamasını etkileyerek lif verimini ve kalitesini etkileyebilir. Bununla birlikte, kenevirdeki BR'ler üzerine yapılan araştırmalar sınırlıdır. Liu vd. (2021), kenevirdeki BR sinyal yollarını keşfetmenin lif üretimini artırmaya yönelik içgörüler sağlayabileceğini öne sürerek, ekonomik açıdan önemli olan bu üründe lif gelişiminin hormonal düzenlemesini araştıran çalışmalar yapılması çağrısında bulunmuştur.

Özetle, brassinosteroidler bitki büyümesi ve gelişiminin kilit yönlerini düzenleyen temel hormonlardır. Hücre uzaması, vasküler farklılaşma, üreme gelişimi ve stres tepkileri üzerindeki etkileri, bitki biyolojisindeki önemlerinin altını çizmektedir. BR'lerin lif gelişimindeki potansiyel rolü, özellikle lif kalitesinin önemli bir ekonomik değere sahip olduğu kenevir gibi ürünlerde araştırma için heyecan verici bir yol sunar. BR sinyal yollarının anlaşılması ve manipüle edilmesi, doğal liflere dayanan endüstrilere fayda sağlayarak ve sürdürülebilir tarım uygulamalarına katkıda bulunarak gelişmiş lif özelliklerine yol açabilir.

## **1.5 Brassinosteroidlerin Lif Gelişimindeki Rollerini**

Bitkilerin büyüme ve gelişim süreçlerinin fitohormon adı verilen endojen moleküller tarafından düzenlendiği bilinen bir gerçektir. Bitkilerde doğal olarak bulunurlar ve çok düşük konsantrasyonlarda sinyal bileşikleri olarak hareket ederler (Sauer vd., 2013). Beş ana bitki hormonu grubu vardır, bunlar; oksinler, sitokininler, gibberellinler, absisik asit, etilen ve brassinosteroidler, jasmonik asit, strigolaktonlar gibi diğer büyüme düzenleyicileridir. Oksinler ve sitokininler ilk keşfedilen ve en iyi anlaşılanslardır (Sudan vd., 2014).

İlk olarak kolza tohumunda (*Brassica napus*) bulunan brassinosteroidler (BR'ler), bitki yaşam döngüsünde düzenleyici bir rol oynayan temel hormonlardır ve BR'ler bitkiler aleminde yaygın olarak bulunur (Clouse ve Sasse, 1998; Mitchell vd., 1970). Hücre uzaması, fotomorfogenez, yaşlanma ve simbiyoz, damar farklılaşması ve biyotik ve abiyotik stres tepkileri dahil olmak üzere birçok bitki gelişimsel ve fizyolojik süreç BR'ler tarafından düzenlenir (Chory vd., 1991; Clouse vd., 1996; Li ve Chory, 1997; Planas-Riverola vd., 2019). BR'lerin eksikliği veya duyarsızlığı aşırı cüceleşme, yaprak kıvrılması, çiçeklenme ve yaşlanmanın gecikmesi, fotoperiyot bozuklukları ve erkek kısırılığı gibi çeşitli morfolojik değişikliklere yol açar (Li vd., 1996; Le Liu vd., 2021; Singh ve Savaldi-Goldstein, 2015; Szekeres vd., 1996). Ayrıca BR'ler oksin, jasmonik asit, sitokinin, etilen, absisik asit, gibberellin ve salisilik asit gibi çoklu hormon yolları ile etkileşime girerek bitki gelişimini ve fizyolojik süreçleri toplu olarak düzenleyen bir hormon düzenleyici ağ oluşturur (Saini vd., 2015).

BR'ler, BR sinyal yolu aracılığıyla altakım (downstream) hedef genlerinin ifadesini düzenler, böylece bitkilerde çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal işlevleri etkiler. Mevcut anlayışa göre, BR endoplazmik retikulumda sentezlenir (Nolan vd., 2020; Northey vd., 2016) ve plazma membranında lokalize BR İnsensitive1'e (BRI1) bağlandığı apoplast'a taşınır (Friedrichsen vd., 2000; He vd., 2000) ve homologları BRI1-Like1 (BRL1), BRI1-Like3 (BRL3) (Caño-Delgado vd., 2004; Kinoshita vd., 2005) ve eş reseptör Somatik Embriyogenez Reseptör Kinaz 3 (SERK3) (Nam ve Li, 2002)/BRI1-Asociated Kinase1 (BAK1) (Gou vd., 2012) reseptörlerini fosforiller ve aktive eder. Daha sonra bir dizi sinyal BR sinyalini BRI1-EMS-Suppressor1 (BES1)/Brassinazole-Resistant1 (BZR1) ailesi üyelerine iletir (Yin vd., 2002; Yu vd., 2011). Bu arada, BR Sinyal Kinazları (BSKs)/Konstitütif Diferansiyel Büyüme1 (CDG1) (Kim vd., 2011; Sreeramulu vd., 2013) fosforillenir ve BR sinyalinin ana negatif düzenleyicisi olan Brassinosteroid İnsensitive2 (BIN2) aktivitesini inhibe etmek için BRI1-Suppressor1 (BSU1) (Kim vd., 2011; Kim vd., 2009) fosfatazı aktive edilir. BIN2, BR sinyal yolunun çekirdek transkripsiyon faktörü (TF) BES1/BZR1 de dahil olmak üzere, aktivitelerini inhibe etmek veya bozulmalarını teşvik etmek için çeşitli substratları fosforile edebilir (Youn ve Kim, 2015). BIN2'nin inaktivasyonu ve Protein Fosfataz2a'nın (PP2A) defosforilasyonu (Tang vd., 2011) çekirdekte BES1/BZR1'in aktivitesini artıracak ve diğer TF'lere ve ko-faktörlere bağlanmayı teşvik edecek,

böylece BR ile indüklenen genlerin ve BR inhibe edici genlerin ekspresyonunu düzenleyecektir (He vd., 2002; Yu vd., 2011; Zhao vd., 2002).

BR sinyal yolunun çekirdek TF'si olarak Arabidopsis'teki (*Arabidopsis thaliana*) BES1/BZR1, protein düzeyinde %88 dizi benzerliğine sahiptir ve N-terminalinde DNA'ya bağlanan atipik bir BHLH alanı içerir. Ayrıca, sırasıyla E-box (CANNTG) ve BRRE (CGTGT/CG) elementleri ile etkileşime girdikleri bildirilmiştir (He vd., 2002; Yin vd., 2005) ve ilginç bir şekilde, BES1/BZR1 sırasıyla transkripsiyonel aktivatörler/represörler olarak tanımlanmıştır (Yin vd., 2005). Bununla birlikte, işlevsel farklılıkların arkasındaki mekanizma hala belirsizdir (Gendron ve Wang, 2007). Günümüzde, çalışmalar BES1'in doğrudan selüloz sentazın (CESA) üstakım (upstream) elemanlarına bağlanabildiğini ve hücre genişlemesini ve uzamasını düzenlemek için gen ifadesini etkileyebildiğini göstermiştir (Xie vd., 2011). Buna ek olarak, MYBL2 transkripsiyonda BES1 tarafından inhibe edilir, böylece hücre uzamasını etkiler (Ye vd., 2012). BES1 ayrıca MDP40'a bağlanabilir ve BR aracılı hipokotil uzamasını düzenleyebilir (Wang vd., 2012). Tapetal Gelişim ve Fonksiyon 1 (TDF1), Sporocyteless/Nozzle (SPL/NZZ), Erkek Sterilitesi1 (MS1) ve Erkek Sterilitesi2 (MS2) gibi anter ve polen gelişimi için gerekli birçok anahtar gen, bu genlerin ifadesini düzenleyerek üreme ve tohum gelişimini etkileyen BES1'in doğrudan hedefleridir (Ye vd., 2010). BES1 ayrıca bitkilerin abiyotik streslere verdiği tepkilerde de rol oynar. JUN-GBRUNNEN1 (JUB1) yaşlanmayı geciktirebilir ve bitkinin tuz ve ısıya karşı toleransını artırabilir ve aktivitesi BES1 tarafından doğrudan inhibe edilebilir (Shahnejat-Bushehri vd., 2012). BES1 ayrıca farklı koşullar altında büyüme ve kuraklık tepkilerini koordine etmek için NAC kodlayan TF genleri Responsive To Desiccation 26 (RD26) ve WRKY'lerin (WRKY46, WRKY54 ve WRKY70) promotörlerine bağlanabilir (Chen ve Yin, 2017).

BR, çok uzun zincirli yağ asidi (VLCFA) biyosentezini modüle ederek pamuk lifi uzamasını kontrol eder. BR eksikliği, VLCFA biyosentezinde yer alan hız sınırlayıcı enzimler olan 3-ketoasil-CoA sentazların (GhKCS'ler) ekspresyonunu azaltarak pagoda1 (pag1) mutant liflerinde daha düşük doymuş VLCFA içeriğine yol açar. *In vitro* ovül kültürü deneyleri, BR'nin VLCFA'ların yukarısında hareket ettiğini göstermektedir. BR sinyal yolunun bir ana transkripsiyon faktörünü kodlayan BRI1-EMS-SUPPRESSOR 1.4'ün (GhBES1.4) susturulması, lif uzunluğunu önemli ölçüde

azaltırken, GhBES1.4 aşırı ekspresyonu daha uzun lifler üretir. GhBES1.4 endojen VLCFA içeriklerini düzenler ve GhKCS10\_At promotör bölgesindeki BR Response Elements'e (BRRE'ler) doğrudan bağlanır, bu da endojen VLCFA içeriklerini artırmak için GhKCS10\_At ifadesini düzenler. GhKCS10\_At aşırı ekspresyonu pamuk lifi uzamasını teşvik ederken, GhKCS10\_At susturma pamuk lifi büyümesini engelleyerek GhKCS10\_At için lif uzamasında pozitif bir düzenleyici rolü desteklemektedir. Genel olarak, bu sonuçlar tek hücre düzeyinde BR ve VLCFA'lar arasındaki çapraz konuşma yoluyla bir lif uzama mekanizmasını ortaya çıkarmaktadır (Yang vd., 2023).

Transkriptom analizi ve transgenik bitki hatları üzerinde yapılan araştırmalar, bitki hormonu biyosentezinde ve lif gelişiminde yer alan sinyal yollarında birkaç gen tanımlamıştır. Bitki hormonlarına ek olarak, reaktif oksijen türleri ve doymuş çok uzun zincirli yağ asitlerinin (VLCFA'lar) de lif uzamasını teşvik ettiği gösterilmiştir (Qin vd., 2007; Qin ve Zhu, 2011; Tang vd., 2014; Yang vd., 2020). Bununla birlikte, çeşitli hormonlar ve metabolitler arasındaki potansiyel ilişki belirsizliğini korumaktadır.

Belirli BR konsantrasyonları, *in vitro* ovül kültürlerinde pamuk liflerinin başlamasını ve uzamasını teşvik eder (Li vd., 2022; Sun vd., 2005). Lif uzaması sırasında BR biyosentez genlerinin ifadelerinin artması, BR'nin lif gelişimine katkıda bulunduğunu işaret etmektedir (Shi vd., 2006). BR biyosentez geni Steroid 5 $\alpha$ -Reductase DE-Etoliated2'nin (GhDET2) baskılanmasıyla BR eksikliği olan pamuk mutantlarında lif uzunluğu önemli ölçüde azalmıştır. Buna karşılık, BR biyosentez veya sinyal genlerinin aşırı ifadesi daha uzun liflerle sonuçlanır (Yang vd., 2014; Zhao vd., 2018; Zhou vd., 2015). Son zamanlarda, bHLH TF Fiber-Related Protein1 GhFP1'in BR biyosentezini ve sinyalini modüle ederek lif uzamasını teşvik ettiği bulunmuştur (Liu vd., 2020). Bir başka bHLH TF olan Fiber-Related Protein2 (GhFP2), Activators For Cell Elongation1 (GhACE1) ile birlikte pamuk lifi uzamasını antagonistik olarak düzenler (R. Lu vd., 2022). Bu keşiflere rağmen, BR sinyalinin lif gelişimini hangi mekanizma aracılığıyla düzenlediği anlaşılamamıştır.

## 1.6 Kenevir Üzerine BR Araştırmalarında Bilgi Açığı

Brassinosteroidlerin (BR) çeşitli bitki gelişim süreçlerindeki iyi belgelenmiş rollerine rağmen, kenevir lif gelişimi üzerindeki etkilerine odaklanan bir araştırma bulunmamaktadır. BR'ler, pamuk gibi diğer lif üreten bitkilerde kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve lif uzaması ve kalitesi üzerindeki önemli etkilerini ortaya koymuş olsa da (Perez, 2018; Yang vd., 2023), kenevirde benzer bir çalışma bulunmamaktadır. Kenevir liflerinin ekonomik önemi ve endüstriyel uygulamalar için sürdürülebilir doğal liflere yönelik artan küresel ilgi göz önüne alındığında, bu araştırma eksikliği özellikle dikkat çekicidir.

Kenevir lifleri, floem dokusundaki konumları ve diğer sak liflerine kıyasla selüloz bakımından zengin ve lignin bakımından düşük olan bileşimleri nedeniyle benzersizdir (Liu vd., 2015). Bu ayırt edici özellikler, BR'lerin kenevir lifi gelişimini etkileyebileceği mekanizmaların diğer türlerde gözlemlenenlerden farklı olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte, hedefe yönelik çalışmalar olmaksızın, BR'lerin kenevir lifi verimini ve kalitesini artırma potansiyeli büyük ölçüde spekülasyon kalmaktadır. Bu bilgi boşluğuna çeşitli faktörler katkıda bulunmaktadır. Tarihsel olarak, kenevir yetiştiriciliğini çevreleyen yasal kısıtlamalar ve düzenleyici engeller, bilimsel keşif ve finansman fırsatlarını sınırlamıştır (Salentijn vd., 2015). Sonuç olarak, kenevir büyümesi ve lif gelişiminin hormonal düzenlemesi üzerine BR perspektifi ile temel çalışmalar eksiktir. Dahası, kenevirin bir tür olarak karmaşıklığı, farklı kemotipleri ve kullanımları ile farklı çeşitler arasında standartlaştırılmış araştırmalar yürütmek için zorluk katmanları ekler (Schlottenhofer ve Yuan, 2017).

Kenevir için mevcut genomik ve moleküler kaynakların sınırlı olması, BR'lerin rollerine ilişkin araştırmaları daha da zorlaştırmaktadır. Yakın zamana kadar kenevir için genomik diziler ve transkriptomik veriler oldukça sınırlıydı, bu da ayrıntılı moleküler analizler yapmayı zorlaştırmaktaydı (Grassa vd., 2021). Bu veri azlığı, kenevir lifi gelişimine özgü BR sinyal yollarında yer alan genleri ve transkripsiyon faktörlerini tanımlama ve karakterize etme yeteneğini kısıtlamıştır.

BR'lerin kenevir üzerindeki etkilerini anlamak sadece akademik bir ilgi alanı değil, aynı zamanda tarım ve endüstri için pratik sonuçlar da doğurmaktadır. BR'ler lif

özelliklerini iyileştirmek için kullanılabilirse, yüksek kaliteli doğal liflere yönelik artan talebi karşılamayı amaçlayan çiftçiler ve yetiştiriciler için değerli bir araç haline gelebilecektir (Amaducci vd., 2015). Ayrıca, BR aracılı yollara ilişkin bilgiler, kenevir yetiştiriciliğinde BR'ye duyarlı çeşitlerin geliştirilmesi veya lif verimini artıran optimize edilmiş büyüme protokolleri gibi yenilikçi yaklaşımlara yol açabilir.

Bu konuda kapsamlı çalışmaların olmaması, bitki bilimi ve agronomi alanında önemli bir boşluğu temsil etmektedir. Bu boşluğun giderilmesi, kenevirin sürdürülebilir bir ürün olarak potansiyelinden tam olarak faydalanmak ve bitkilerde hormonla düzenlenen lif gelişiminin daha geniş bir şekilde anlaşılmasına katkıda bulunmak için gereklidir. Özellikle Narlı ve Vezir gibi yerel olarak önemli çeşitlerde BR'lerin kenevir lifi gelişimi üzerindeki spesifik etkilerine odaklanan araştırmalar, temel biyoloji ve pratik uygulamalar arasında köprü kuran değerli bilgiler sağlayabilir.

Bu tez, BR uygulamalarının kenevir lifi gelişimini morfolojik düzeyde nasıl etkilediğini sistematik olarak araştırarak bu boşluğu doldurmayı amaçlamaktadır. Bitki büyüme parametrelerinin ayrıntılı analizleri ile çalışma BR'lerin lif oluşumu üzerindeki etkilerini anlamayı hedeflemektedir. Ayrıca, gelişmiş biyoinformatik ve yapay zeka yaklaşımlarını entegre ederek, kenevirde bulunan anahtar transkripsiyon faktörlerini tanımlamaya çalışmaktadır. Bu tür bulgular, ıslah programlarını, yetiştirme uygulamalarını bilgilendirme ve nihayetinde kenevir üretiminin ekonomik ve çevresel sürdürülebilirliğini artırma potansiyeline sahiptir.

## **1.7 Bitki Büyüme ve Gelişmesinde Transkripsiyon Faktörleri (TF)**

Transkripsiyon faktörleri (TF'ler), gen ekspresyonunu düzenleyen hücresel mekanizmanın ayrılmaz bileşenleridir ve bitkilerde çok çeşitli biyolojik süreçlerin kontrolünde önemli bir rol oynarlar. Bunlar, tipik olarak hedef genlerin promotör bölgelerinde spesifik DNA dizilerine bağlanan ve bu genlerin transkripsiyonunu teşvik eden veya inhibe eden proteinlerdir. Bu düzenleme, bitki büyümesini, gelişimini ve çevresel uyarılara verilen tepkileri düzenlemek için gereklidir ve genlerin doğru zamanda, yerde ve düzgün işleyiş için gereken seviyelerde ifade edilmesini sağlar (Gonzalez, 2015; Spitz ve Furlong, 2012).

Moleküler düzeyde, TF'ler hücre bölünmesini, farklılaşmasını ve uzamasını kontrol eden gen ağlarını aktive ederek veya baskılayarak bitki gelişimini etkiler. Örneğin, AUXIN RESPONSE FACTOR (ARF) TF ailesi, embriyogenez, organogenez ve tropik tepkiler gibi süreçler için hayati önem taşıyan bitki hormonu oksine verilen tepkilere aracılık eder. ARF'ler gen promotörlerindeki oksin duyarlı elementlere bağlanarak hücre genişlemesi ve bölünmesinde rol oynayan genlerin ifadesini modüle eder (Weijers ve Wagner, 2016). Benzer şekilde, APETALA2/ETHYLENE RESPONSIVE FACTOR (AP2/ERF) ailesi, çiçek gelişimi ve stres tepkileriyle ilişkili genleri düzenleyerek TF'lerin bitki fizyolojisinde oynadığı çeşitli rolleri vurgular (Phukan vd., 2016).

Transkripsiyon faktörleri ayrıca bitkilerde flavonoidler, terpenoidler ve alkaloidler gibi bileşiklerin biyosentezini içeren ikincil metabolizmanın düzenlenmesine de önemli ölçüde katkıda bulunur. Bu metabolitler bitki savunma mekanizmaları için önemlidir ve farmasötikler, tatlar ve kokularda kullanılmaları nedeniyle önemli ekonomik değere sahiptir. Örneğin MYB transkripsiyon faktörlerinin, hücre duvarı oluşumunu ve pigmentasyonu etkileyen lignin ve flavonoidlerin üretimini etkileyerek fenilpropanoid yolunu düzenlediği bilinmektedir (Dubos vd., 2010). Xu vd. (2022) tarafından yapılan son çalışmalar, belirli MYB TF'lerinin manipüle edilmesinin, bitki büyümesini olumsuz etkilemeden faydalı ikincil metabolitlerin birikimini artırabileceğini göstermiştir (Sabir vd., 2022).

Stres tepkileri bağlamında, transkripsiyon faktörleri bitkilerin kuraklık, tuzluluk ve aşırı sıcaklıklar gibi abiyotik streslere uyum sağlamasını sağlayan ana düzenleyiciler olarak hareket eder. NAC (NAM, ATAF1/2 ve CUC2) TF ailesi, abiyotik stres toleransındaki rolü nedeniyle kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bu TF'ler ozmotik denge, reaktif oksijen türlerinin temizlenmesi ve strese duyarlı sinyal yollarında yer alan genleri düzenler. Örneğin, pirinçte belirli NAC TF'lerinin aşırı ekspresyonunun, stoma kapanmasını ve kök mimarisini modüle ederek gelişmiş kuraklık toleransı sağladığı gösterilmiştir (Jeong vd., 2010).

WRKY ailesi, hem abiyotik hem de biyotik stres tepkilerine katılan bir başka transkripsiyon faktörü grubudur. WRKY TF'leri, hedef genlerin promotörlerindeki W-box elemanlarına bağlanarak patojen savunması, yaşlanma ve hormon sinyali gibi

süreçleri düzenler. Chen vd. (2019), domates bitkilerinde belirli bir WRKY TF'nin aşırı ekspresyonunun, savunma ile ilgili genleri aktive ederek bakteriyel patojenlere karşı direnci artırdığını ve ürün geliştirme stratejilerinde TF'lerin potansiyelini gösterdiğini bildirmiştir.

Gelişimsel düzeyde, transkripsiyon faktörleri çiçeklenme zamanı, tohum gelişimi ve morfogenezin düzenlenmesi için gereklidir. LEAFY (LFY) ve FLOWERING LOCUS T (FT) TF'leri, fotoperiyot ve sıcaklık gibi çevresel ipuçlarını endojen hormonal sinyallerle entegre ederek vejetatif büyümeden çiçeklenmeye geçişin kilit düzenleyicileridir (Andrés ve Coupland, 2012). Bu TF'lerin manipülasyonu, bitkileri farklı iklim koşullarına adapte etmek ve verimi artırmak için değerli olan çiçeklenme zamanlarını değiştirebilir.

Transkripsiyon faktörleri tarafından düzenlenen karmaşık ağları anlamak, bitki gelişiminin altında yatan moleküler mekanizmaları deşifre etmek için esastır. Genomik teknolojiler ve biyoinformatik alanındaki gelişmeler, çeşitli bitki türlerinde çok sayıda TF'nin tanımlanmasını ve işlevsel karakterizasyonunu sağlamıştır. Bu bilgi, artan stres toleransı, gelişmiş besin içeriği ve daha yüksek biyokütle üretimi gibi gelişmiş özelliklere sahip genetiği değiştirilmiş bitkilerin geliştirilmesini kolaylaştırmaktadır (Jin vd., 2016).

Özetle, transkripsiyon faktörleri bitkilerde büyüme, gelişme ve çevresel zorluklara verilen tepkileri belirleyen gen ifade modellerini kontrol eden önemli düzenleyiciler olarak hizmet eder. Karmaşık gen ağlarını modüle etme yetenekleri, onları mahsul performansını ve sürdürülebilirliğini iyileştirmeyi amaçlayan araştırmalar için önemli hedefler haline getirmektedir. Bilim insanları, TF'lerin rollerini çözerek, sürekli değişen bir ortamda gıda, lif ve biyoaktif bileşikler için artan talepleri karşılama potansiyellerini kullanabilirler.

## **1.8 *Cannabis sativa*'da Bulunan Transkripsiyon Faktörleri**

Transkripsiyon faktörleri (TF'ler), belirli DNA dizilerine bağlanarak gen ifadesini düzenleyen ve hedef genlerin transkripsiyonunu etkileyen proteinlerdir. Bu proteinler büyüme, gelişme, stres tepkileri ve metabolik yollar gibi biyolojik süreçleri kontrol

eder. Tarımsal biyoteknolojide, transkripsiyon faktörleri mahsul verimliliğini, dayanıklılığını ve kalitesini artırmadaki dönüştürücü potansiyelleriyle giderek daha fazla tanınmaktadır. TF'lerin kapsamlı bir şekilde anlaşılması, verimi artırmak, stres toleransını geliştirmek ve metabolik çıktılarını optimize etmek için bitki özelliklerinin manipüle edilmesinde etkili olmuştur (Feng vd., 2020; Liu ve Stewart Jr, 2016; Piatek vd., 2015; Wei vd., 2022). Önemli endüstriyel ve tıbbi değere sahip bir tür olan *Cannabis sativa*, hem endüstriyel kenevir hem de tıbbi marihuana olarak ikili faydası nedeniyle bu tür manipülasyonlar için eşsiz bir fırsat sunmaktadır. Ekonomik ve terapötik önemine rağmen, *C. sativa* üzerine yapılan araştırmalar parçalı kalmakta ve bu türe özgü merkezi bir TF veri havuzuna duyulan ihtiyacın altını çizmektedir.

Birkaç TF, *C. sativa*'da kannabinoid biyosentezinin önemli düzenleyicileri olarak belirlenmiştir. CsWRKY1 ve CsMYB1, marihuana tetrahidrokanabinolik asit (THCA) üretimini kontrol eden THCAS promotörünün negatif düzenleyicileri olarak hareket eder. Aynı zamanda CsAP2L1, kannabinoidlerin sentezlendiği trikomlarda THCAS ekspresyonunu pozitif olarak düzenler (Y. Liu vd., 2021). Ek olarak, kenevir çiçeklerinde ifade edilen bZIP transkripsiyon faktörlerinin, kannabinoid yolları da dahil olmak üzere ikincil metabolizmayı düzenlediği ve dokuya özgü metabolik süreçleri koordine etmek için kritik öneme sahip olduğu bilinmektedir (M. Lu vd., 2022). MYB ve bHLH ailelerinin üyeleri, kenevirin metabolik çeşitliliğini etkileyerek hem kannabinoid hem de flavonoid sentezinin düzenlenmesine katkıda bulunur. Genom çapında yapılan analizler, kannabinoid verimini artırabilecek aday düzenleyici genler sağlayarak mahsulün iyileştirilmesi için umut verici yollar sunmuştur (Bassolino vd., 2020).

İkincil metabolizmadaki rollerine ek olarak, transkripsiyon faktörleri, hücre duvarı biyosentezi ve modifikasyonunda yer alan genleri düzenleyerek kenevir lifi gelişiminde önemli bir rol oynar. Son çalışmalar, *C. sativa*'da ikincil hücre duvarı oluşumu ile ilişkili NAC ve MYB gibi birkaç TF ailesini tanımlamıştır. Guerriero vd. (2017) kenevir saplarının transkriptom analizini gerçekleştirmiş ve lif gelişim aşamalarında yüksek oranda ifade edilen NAC transkripsiyon faktörlerini tanımlayarak lignin ve selüloz biyosentezine dahil olduklarını öne sürmüşlerdir (Guerriero vd., 2017). Benzer şekilde, Zhao vd. (2020), bazı MYB transkripsiyon

faktörlerinin kenevir saplarında yukarı regüle edildiğini ve lif mukavemeti ve kalitesi için kritik olan selüloz sentaz genlerini düzenleyebileceğini bulmuştur.

Transkripsiyon faktörleri ayrıca biyotik ve abiyotik streslere verilen tepkilere de önemli ölçüde aracılık eder. WRKY ve NAC aileleri katlanmamış protein tepkilerini düzenler ve çevresel stresin etkilerini azaltır (Sun vd., 2013). *CsbZIP* genleri, çevresel ipuçlarına transkripsiyonel tepkilere aracılık ederek abiyotik stres toleransına katkıda bulunur (Ng vd., 2018). Lif gelişimi bağlamında, WRKY transkripsiyon faktörleri, hücre duvarı yeniden şekillenmesi ile ilişkili genlerin düzenlenmesinde rol oynamıştır. Kenevirdeki doğrudan çalışmalar sınırlı olsa da, diğer lif bitkilerindeki araştırmalar WRKY TF'lerin ekspansin gen ekspresyonunu etkileyebileceğini, hücre uzamasını ve lif uzamasını teşvik edebileceğini göstermektedir (Wang vd., 2010). Endüstriyel kenevirdeki HD-ZIP IV transkripsiyon faktörleri, lif kalitesi için gerekli olan trikomlar da dahil olmak üzere epidermal gelişimi düzenler. İfadeleri çiçek olgunluğu ile ilişkilidir ve kenevir çeşitlerinde lif üretimini iyileştirme çabalarını destekler (Ma vd., 2022). Ayrıca, LBD ailesinin üyeleri, özellikle *CsLBD21* ve *CsLBD23*, saplarda ve çiçeklerde ifade edilir ve lif üretimiyle ilgili yapısal gelişimi etkiler (Zhen vd., 2020).

bHLH transkripsiyon faktörleri lif hücrelerinin farklılaşmasında anahtar düzenleyiciler olarak tanımlanmıştır. Kenevirde doğrudan kanıtlar ortaya çıkarken, ilgili bir sak lif ürünü olan ketende (*Linum usitatissimum*) yapılan çalışmalar, bHLH TF'lerin lif gelişimi için kritik olan ikincil duvar oluşumunu düzenlediğini göstermiştir (Zhong ve Ye, 2009). Keten ve kenevir lifleri arasındaki benzerlikler göz önüne alındığında, bHLH TF'lerin kenevir lifi biyosentezinde benzer bir rol oynaması olasıdır ve *Cannabis sativa*'da daha fazla araştırma yapılmasını gerektirir.

THCAS ve CBDAS gibi kannabinoid sentaz genlerinin transkripsiyonel düzenlemesinin anlaşılması, belirli THC/CBD oranlarına sahip tıbbi kenevir için hedefli ıslahı mümkün kılmaktadır (Van Bakel vd., 2011). HD-ZIP ve LBD gibi TF'lerin genetik manipülasyonu, düşük THC'li kenevir çeşitlerinde lif kalitesini ve adaptasyon kabiliyetini artırmak için fırsatlar sunmaktadır. Islah programlarında WRKY ve NAC ailelerinden yararlanmak, açık havada kenevir yetiştiriciliği için kritik olan çevresel stres faktörlerine karşı dayanıklılığı artırabilir.

Bu transkripsiyon faktörlerinin kenevir lifi gelişimindeki ayrılmaz rolleri göz önüne alındığında, *Cannabis sativa*'ya özgü TF'leri derleyen kapsamlı bir veri tabanı araştırma ve ıslah çabalarını büyük ölçüde kolaylaştıracaktır. Böyle bir kaynak, genetik iyileştirme için aday genlerin tanımlanmasını sağlayacak ve lif kalitesi özellikleri için moleküler belirteçlerin geliştirilmesini destekleyecektir (Guerriero vd., 2017). TF'lerin genel işlevlerini kenevir lifi gelişiminin özel bağlamına bağlanarak, lif oluşumunun altında yatan moleküler mekanizmaları daha iyi anlayabilir ve bu çok yönlü bitkinin endüstriyel uygulamalarını geliştirmek için çalışabiliriz.

### **1.9 Bitki Biliminde Biyoinformatik ve Yapay Zeka Alanındaki Gelişmeler**

Genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik veri kümelerindeki üstel artış, bitki biliminde devrim yaratmış ve karmaşık biyolojik süreçleri araştırmak için benzeri görülmemiş fırsatlar sunmuştur. Büyük ölçüde manuel kütürtlüğe ve temel istatistiksel yaklaşımlara dayanan geleneksel veri analizi yöntemleri, bu geniş ve karmaşık veri kümelerinden tam olarak yararlanmak için artık yeterli değildir. Bu sınırlama, bilgi hacminin büyüklüğünden, heterojen veri türlerini entegre etme ihtiyacından ve genler, proteinler ve çevresel faktörler arasındaki etkileşimlerin karmaşıklığından kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak, alan, büyük ölçekli biyolojik verilerin depolanması, geri alınması ve analizi için tasarlanmış hesaplama araçları ve veritabanları geliştirmek için biyoloji, bilgisayar bilimi ve istatistiği birleştiren biyoinformatiğin yükselişine tanık olmuştur (Buermans ve Den Dunnen, 2014; Kersey, 2019).

Son yıllarda, yüksek verimli dizileme teknolojilerinin ortaya çıkması ve hesaplama gücündeki ilerlemeler, yeni analitik metodolojilerin önünü açmıştır. Yapay zekanın (YZ) alt alanları olan makine öğrenimi ve derin öğrenme, karmaşık biyolojik veri kümelerinde örüntü tanıma ve öngörücü modelleme için özellikle güçlü yaklaşımlar olarak ortaya çıkmıştır. Bu yöntemler, geleneksel teknikler kullanılarak tespit edilmesi zor veya imkansız olan gizli ilişkileri ortaya çıkarabilir. Örneğin, yapay zeka odaklı modeller gen düzenleyici ağları tahmin edebilir, belirli özelliklerle bağlantılı aday genleri belirleyebilir veya değişen çevresel koşullar altında fenotipik sonuçları tahmin edebilir, böylece ıslah ve ürün geliştirme programlarını hızlandırabilir (Libbrecht ve Noble, 2015; Saint-André, 2021; Wang vd., 2020).

Biyoinformatik ve yapay zekanın bitki biliminde uygulanması, gen anotasyonu (ek açıklama), yapısal ve fonksiyonel genomik, karşılaştırmalı genomik ve markör destekli seleksiyon gibi görevler için vazgeçilmez hale gelmiştir. Bu yöntemler daha sofistike hale geldikçe, laboratuvaradaki zahmetli ve zaman alıcı prosedürleri azaltarak deneysel araştırmaları giderek daha fazla tamamlamaktadır. Sonuç olarak, biyoinformatik ve yapay zekanın entegrasyonu, bitki biyolojisini sistem düzeyinde anlama kapasitemizi artırarak tarım, koruma ve biyoteknolojide daha bilinçli kararlara rehberlik etmekte ve daha dayanıklı ve üretken mahsullere giden yolu kolaylaştırmaktadır.

### **1.10 Protein Sınıflandırması ve Biyoinformatikte Yapay Zeka Uygulaması**

Yapay zekanın (AI), özellikle makine öğrenimi (ML) ve derin öğrenmenin (DL) entegrasyonu, biyoinformatiği derinden etkilemiş ve büyük, karmaşık biyolojik veri kümelerini yönetmek ve yorumlamak için sofistike yöntemler sunmuştur. BLAST (Altschul vd., 1990) gibi ilk hesaplama araçları, homolog dizileri tanımlamak için istatistiksel ilkeler uygulayarak dizi hizalama ve veritabanı aramalarında devrim yaratmıştır. Bu yöntemler alanı önemli ölçüde ilerletirken, genellikle doğrusal olmayan ilişkiler, karmaşık evrimsel geçmişler ve proteinlerin yapısal karmaşıklığı ile mücadele ettiler (Baldi ve Brunak, 2001; Gromiha, 2010; Petrey ve Honig, 2009). Bu sınırlama, örüntüleri doğrudan ham biyolojik verilerden öğrenebilen yaklaşımların önünü açmıştır. Biyoinformatik olgunlaştıkça, Destek Vektör Makineleri, Naive Bayes Sınıflandırıcıları ve K-En Yakın Komşular gibi klasik makine öğrenimi algoritmaları ara çözümler olarak ortaya çıktı ve tamamen istatistiksel yöntemlerden daha doğru tahminler sağladı. Bu makine öğrenimi teknikleri gen tahmini, motif keşfi ve protein işlevi ek açıklaması gibi görevleri geliştirmiştir (Strodthoff vd., 2020). Ancak asıl atılım, hiyerarşik ve bağlama bağlı özellikleri otomatik olarak çıkarmak için Tekrarlayan Sinir Ağları (RNN'ler) ve Evrimsel Sinir Ağları (CNN'ler) gibi mimarilerden yararlanan derin öğrenme ile geldi. Bu değişim, araştırmacıların transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesi tahmini ve sekans-fonksiyon ilişkisi çıkarımı dahil olmak üzere daha karmaşık soruları daha yüksek doğrulukla ele almalarını sağlamıştır (Asgari ve Mofrad, 2015; Naveenkumar vd., 2018). Bir dizi çalışma bu ilerlemeyi örneklemektedir. Gong vd. (2023), transkripsiyon faktörlerini tahmin etmek

için konvolüsyon ve dikkat mekanizmalarını entegre ederek %97,8 doğruluk elde etmiştir (Gong vd., 2023). Bu başarı sadece DL modellerinin geleneksel yaklaşımlar üzerindeki gücünün altını çizmekle kalmamış, aynı zamanda dizi verilerindeki uzun menzilli bağımlılıkları yakalamak için dikkat katmanlarının değerini de göstermiştir. Benzer şekilde, Strodtsoff vd. (2020) enzim sınıflandırma doğruluğunu artırmak için Word2Vec katıştırmalarıyla birleştirilmiş CNN ve LSTM tabanlı modeller kullanarak vektörleştirme tekniklerinin ve DL mimarilerinin dizi karmaşıklığını önceki yöntemlerden daha etkili bir şekilde nasıl ele alabileceğini göstermiştir (Strodtsoff vd., 2020). Ayrıca, transkripsiyon faktörü dizisi özgülüğü (Zhang vd., 2021) ve bağlanma bölgesi tespiti (Koo ve Ploenzke, 2020) üzerine yapılan araştırmalar, DL'nin geleneksel algoritmalar için genellikle zor olan ince kalıpları ayırt etme kapasitesini vurgulamaktadır.

YZ, protein ve transkripsiyon faktörü sınıflandırmasının ötesinde, mahsulle ilgili uygulamalara da uzanmıştır. *C. sativa*'da Aasim vd. (2022), endüstriyel kenevirin çimlenme ve büyüme endekslerini optimize etmek için Random Forest (RF) ve Multilayer Perceptron (MLP) modelleri dahil olmak üzere makine öğrenimi algoritmalarını kullanarak bahçecilik yönetimi için eyleme geçirilebilir bilgiler sağlamıştır (Aasim vd., 2022). Başka bir çalışma, *C. sativa*'nın invazif olmayan kemotip sınıflandırmasında %91,23 doğruluk elde etmek için NIR-hiperspektral görüntülemeyi makine öğrenimi ile birleştirerek yapay zekanın hızlı ve güvenilir fenotipik değerlendirmeleri nasıl kolaylaştırabileceğini göstermiştir (San Nicolas vd., 2024).

Bu gelişmeler toplu olarak, YZ'nin biyoinformatik alanını erken istatistiksel yöntemlerin sınırlamalarının ötesine nasıl taşıdığını göstermektedir. YZ güdümlü modeller, karmaşık veri kümelerindeki gizli ilişkileri ortaya çıkararak deneysel maliyetleri azaltmakta, keşif zaman çizelgelerini hızlandırmakta ve daha rafine hipotezler üretmektedir. Bu tez bağlamında, protein sınıflandırması, transkripsiyon faktörü işlevselliği tahmini ve büyük ölçekli *Cannabis sativa* TF veri kümelerinin işlenmesi için derin öğrenme modellerinin uygulanması çok önemli olacaktır. Bu tür yaklaşımlar, kenevirde lif gelişimi ve metabolik düzenlemenin altında yatan moleküler mekanizmaların aydınlatılmasına yardımcı olacak ve sonuçta daha verimli ıslah stratejileri ve sürdürülebilir mahsul iyileştirmeleri hakkında bilgi verecektir.

### 1.11 *Cannabis sativa*'da Özel Bir TF Veritabanı İhtiyacı

*Cannabis sativa*'nın büyüme, gelişme ve metabolik uzmanlaşmasını yöneten karmaşık düzenleyici ağlar, bu türe adanmış merkezi, özel bir transkripsiyon faktörü (TF) veritabanına sahip olmayı gerekli kılmaktadır. Böyle bir kaynak, fizyokimyasal özellikler, korunmuş motifler, ekzon-intron yapıları, filogenetik ilişkiler ve protein-protein etkileşim haritaları ile birlikte TF ailelerinin genomik, transkriptomik ve proteomik dizileri de dahil olmak üzere moleküler verileri birleştirecektir. Bu veri tabanı, cis-düzenleyici element analizlerini ve tahmin edilen üç boyutlu yapıları entegre ederek, araştırmacıların ve yetiştiricilerin temel özellikleri hassas ve bilinçli bir şekilde manipüle etmelerini sağlayacaktır. Özel bir TF veri tabanı hem bilimsel araştırmaları hem de endüstriyel uygulamaları dönüştürme potansiyeline sahiptir. Karşılaştırmalı genomik büyük ölçüde kolaylaşacak, fonksiyonel genomik çalışmaları hızlandıracak ve kannabinoid biyosentezinden lif üretimine kadar çeşitli süreçlerde yer alan TF ailelerine ilişkin evrimsel içgörüler sağlayacaktır. WRKY, MYB, NAC ve bZIP aileleri dahil ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere bu TF'ler, çeşitli uygulamalar için hem tıbbi marihuana hem de endüstriyel kenevir çeşitlerini optimize etmenin ayrılmaz bir parçasıdır. Bu veri tabanı, ürün verimini ve kalitesini artırmanın ötesinde, sürdürülebilir ve yenilikçi tarım uygulamalarına rehberlik edebilir, sentetik biyoloji çabalarını destekleyebilir ve biyoteknolojik ve farmasötik gelişmeleri ilerletebilir. Yapay zeka ve biyoinformatiğin bu veri tabanına dahil edilmesi, veri tabanının faydasını daha da artıracaktır. Protein sınıflandırması ve TF tahmininde etkinliği kanıtlanmış olan yapay zeka odaklı modeller, aksi takdirde gizli kalabilecek kalıpları ve evrimsel ilişkileri belirlemek için büyük veri kümelerini hızla analiz edebilir. Derin öğrenme metodolojileri protein ve transkripsiyon faktörü çalışmalarında umut vaat ederken, nispeten az sayıda görüntü tabanlı derin öğrenme yaklaşımı özellikle *C. sativa*'ya uygulanmıştır. Bu çalışmada kullanılan metin tabanlı TF protein veri modeli, literatürdeki kritik bir boşluğu gidermekte ve türün kendine özgü taleplerine göre uyarlanmış bir kaynak oluşturmanın önemini vurgulamaktadır.

Sonuç olarak, *Cannabis sativa* için özel bir TF veritabanı oluşturulması oldukça gereklidir. Bu veri tabanı gelecekteki araştırmalar için sağlam bir temel oluşturacak, daha doğru özellik manipülasyonuna olanak sağlayacak ve bilimsel bilgiye önemli ölçüde katkıda bulunacaktır. Veri tabanı, en yeni hesaplama tekniklerini geleneksel

bitki bilimi ile birleştirerek yalnızca kenevir biyolojisi anlayışımızı zenginleştirmekle kalmayacak, aynı zamanda mahsul geliştirme, farmasötik araştırma ve sürdürülebilir tarımda önemli araç olarak kullanılabilir olacaktır.

### **1.12 Yerel Kenevir Çeşitlerinin İncelenmesinin Önemi: Narlı ve Vezir**

Narlı ve Vezir gibi yerel kenevir çeşitlerinin araştırılması, hem bölgesel tarım hem de *Cannabis sativa* araştırmalarının daha geniş bağlamı için büyük önem taşımaktadır. Ondokuz Mayıs Üniversitesi ve Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün ortak çabalarıyla geliştirilen bu çeşitler Mart 2021'de resmi olarak tescil edilmiştir (Bahar, 2022). Türkiye'nin Samsun bölgesinin kendine özgü ekolojik koşullarına uygun titiz ışlah programlarının ürünleri olan Narlı ve Vezir, kendilerini diğer kenevir çeşitlerinden ayıran benzersiz genetik özelliklere sahiptir.

Özellikle Narlı, lif verimi ve kalitesi açısından dikkate değer bir performans göstermiştir. Aksoy ve Aytaç (2021), Samsun'un ekolojik koşulları altında Narlı çeşitinin dekar başına 79,34 kg tohum veriminin yanı sıra dekar başına 264 kg ile en yüksek lif verimini elde ettiğini bildirmiştir (Aksoy ve Aytaç, 2021). Çalışmada ayrıca Narlı'nın %36,9 ham yağ ve %24,5 ham protein içeriğine dikkat çekilerek uygun kimyasal bileşimi vurgulanmıştır. Bu özellikler sadece çeşitin lif üretimi potansiyelinin altını çizmekle kalmayıp, aynı zamanda tohum yağı çıkarma ve beslenme uygulamaları için de değerini göstermektedir.

Benzer şekilde, Vezir çeşidi de büyüme ve adaptasyon açısından umut verici özellikler göstermiştir. Vezir ile ilgili detaylı çalışmalar daha az kapsamlı olmasına rağmen, ön gözlemler lif yetiştiriciliğine uygun sağlam morfolojik özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Bahar, 2022). Bu yerel çeşitlerin geliştirilmesi, verim ve kaliteyi optimize etmek için gerekli olan bölgesel iklim ve toprak koşullarına iyi adapte olmuş kenevir çeşitlerine olan ihtiyaca stratejik bir yanıttır.

Narlı ve Vezir'in incelenmesi çeşitli avantajlar sunmaktadır. İlk olarak, *Cannabis sativa* içindeki genetik çeşitliliğin değerlendirilmesine olanak tanıyarak, belirli genetik özelliklerin lif gelişimini ve genel bitki performansını nasıl etkilediğinin anlaşılmasına katkıda bulunur. Paslı (2021), Narlı ve Vezir de dahil olmak üzere yerel kenevir

genotiplerinin verim, morfolojik, fizyolojik ve kalite özelliklerini inceleyerek kapsamlı bir değerlendirme yapmıştır (Pashlı, 2021). Bulgular, genotipler arasında önemli farklılıklar olduğunu ortaya koyarken, Narlı 14 hattı dekar başına 248,44 kg ile en yüksek lif verimini sergilemiştir. Bu tür veriler, arzu edilen özellikleri geliştirmeyi amaçlayan ıslah programlarında yerel çeşitlerin önemini vurgulamaktadır.

İkinci olarak, bu çeşitlere odaklanmak bölge çiftçilerinin karşılaştığı pratik zorlukları ele almaktadır. Narlı ve Vezir'in yerel çevreye adaptasyonu, bölgesel zararlılara, hastalıklara ve abiyotik streslere karşı daha dayanıklı olacakları anlamına gelmektedir. Bu dayanıklılık kimyasal girdilere bağımlılığı azaltabilir, üretim maliyetlerini düşürebilir ve sürdürülebilir tarım uygulamalarını teşvik edebilir. Ayrıca, bu çeşitlere özgü yetiştirme tekniklerini optimize ederek, tekstil ve kompozit malzeme endüstrilerinin taleplerini karşılayacak şekilde lif kalitesini ve verimini artırmak mümkündür (Amaducci vd., 2015).

Narlı ve Vezir'in bölgesel önemi tarımın ötesine uzanmaktadır. Bu çeşitlerin ekimi, kırsal kalkınmaya ve ekonomik büyümeye potansiyel olarak katkıda bulunacak sosyoekonomik etkilere sahiptir. Çiftçilere yüksek verimli ve yüksek kaliteli kenevir çeşitleri sağlayarak, yerel kenevir endüstrisini canlandırma, istihdam yaratma ve katma değerli işleme faaliyetlerini teşvik etme fırsatı oluşturmaktadır. Bu durum, kenevir liflerinin çevresel faydalarıyla tanınmaya başladığı sürdürülebilir ve çevre dostu malzemelere yönelik küresel eğilimlerle uyumludur (Salentijn vd., 2015).

Ayrıca, Narlı ve Vezir gibi yerel çeşitlerin incelenmesi, değişen iklim koşulları altında ıslah stratejileri hakkında bilgi verebilir. İklim değişikliği tarım için yeni zorluklar ortaya çıkardıkça, belirli yerel koşullara iyi adapte olmuş çeşitler giderek daha değerli hale gelmektedir. Narlı ve Vezir'de adaptasyon kabiliyeti sağlayan genetik ve fizyolojik mekanizmaların anlaşılması, kuraklık veya tuzluluk gibi stres koşulları altında gelişebilen yeni çeşitlerin geliştirilmesine rehberlik edebilir (Schlattenhofer ve Yuan, 2017).

Bu araştırma bağlamında, Narlı ve Vezir'e odaklanmak, brassinosteroid uygulamalarının kenevir lifi gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmak için somut bir temel sağlar. Genetik olarak farklı ve bölgesel olarak önemli olan çeşitlerin incelenmesiyle, çalışma yerel tarım uygulamalarına doğrudan uygulanabilir bilgiler

sağlayabilir. Ayrıca, araştırmadan kaynaklanan lif verimi veya kalitesindeki herhangi bir gelişme, bölgesel paydaşlar için anında fayda sağlayabilir ve çalışmanın alaka düzeyini ve etkisini artırabilir.

Sonuç olarak, yerel kenevir çeşitleri Narlı ve Vezir'in incelenmesinin önemi, benzersiz genetik özelliklerinde, bölgesel adaptasyon kabiliyetlerinde ve tarımsal üretkenliği ve sürdürülebilirliği geliştirme potansiyellerinde yatmaktadır. Araştırmayı bu çeşitlerin özel bağlamında temellendirerek, pratik zorlukları ele almak, kenevir biyolojisinin bilimsel olarak anlaşılmasına katkıda bulunmak ve bölgenin ekonomik kalkınmasını desteklemek mümkündür.

### **1.13 Çalışmanın Amacı ve Hedefleri**

Bu çalışmanın temel amacı, brassinosteroid (BR) uygulamalarının *Cannabis sativa*'da lif gelişimi üzerindeki etkilerini, özellikle Narlı ve Vezir yerel çeşitlerine odaklanarak araştırmaktır. Araştırma, bu etkileri morfolojik düzeyde inceleyerek, BR'lerin lif büyümesini ve kalitesini etkilemesinin altında yatan mekanizmaları aydınlatmayı amaçlamaktadır. Bu çaba, ekonomik açıdan önemli olan bu ürün için yetiştirme uygulamalarını optimize etme ve genetik iyileştirme konusundaki ilerlemeleri engelleyen BR'lerin kenevir lifi gelişimindeki rolüne ilişkin literatürde tespit edilen önemli bilgi boşluğunu ele almaktadır.

Kapsamlı bir anlayış elde etmek için çalışma, BR'lerle muamele edilen kenevir bitkilerinin ayrıntılı morfolojik değerlendirmeleri yapılmıştır. Başta pamuk (*Gossypium hirsutum*) olmak üzere diğer lif bitkilerinde yapılan önceki araştırmalar, BR uygulamalarının hücre uzamasını ve ikincil hücre duvarı biyosentezini teşvik ederek lif kalitesini artırabileceğini göstermiştir (Sun vd., 2015; Yang vd., 2023). Bu araştırma, kenevirdeki benzer etkileri keşfederek, tarımsal uygulamaları doğrudan bilgilendirebilecek ve bu yerel çeşitlerde gelişmiş lif üretimine katkıda bulunabilecek pratik bilgiler sağlamayı amaçlamaktadır.

Bu araştırmalara ek olarak, çalışma *Cannabis sativa*'ya özgü özel bir transkripsiyon faktörü veritabanı oluşturarak daha geniş bilimsel topluluğa katkıda bulunacaktır. Schluttenhofer ve Yuan (2017) tarafından vurgulandığı üzere, bu türdeki TF araştırmalarının parçalı yapısı göz önüne alındığında, dizileri, işlevsel ek açıklamaları

ve ifade kalıpları dahil olmak üzere TF'ler hakkında kapsamlı bilgi derlemek kritik bir ihtiyacı ele almaktadır (Schlutenhofer ve Yuan, 2017). Bu veri tabanı, kenevirde gen düzenlemesi ve fonksiyonel genomu araştıran araştırmacılar için değerli bir kaynak görevi görecek, karşılaştırmalı çalışmaları kolaylaştıracak ve alandaki gelişmeleri hızlandıracaktır.

Veritabanının faydasını artırmak ve TF'lerin sınıflandırılmasını ve tahminini kolaylaştırmak için, çalışmada gelişmiş yapay zeka (AI) modelleri, özellikle de derin öğrenme teknikleri uygulanmıştır. YZ'nin biyoinformatiğe entegrasyonunun, Kim vd. (2023) tarafından protein sınıflandırma görevlerinde gösterildiği gibi, büyük veri kümelerinin işlenmesinde ve karmaşık modellerin ortaya çıkarılmasında etkili olduğu kanıtlanmıştır (Kim vd., 2021). Araştırma, yapay zeka tabanlı modeller kullanarak *Cannabis sativa*'da TF tanımlama ve karakterizasyonunun doğruluğunu ve verimliliğini artırmayı amaçlamaktadır. Bu yenilikçi yaklaşım sadece bitki biyoinformatiğini ilerletmekle kalmayıp, aynı zamanda tarımsal araştırmalarda en son teknolojinin entegrasyonunu da örneklemektedir.

Bu nedenle, bu çalışmanın hedefleri hem temel bilimsel araştırmaları hem de pratik uygulamaları kapsamaktadır. BR'lerin kenevir lifi gelişimi üzerindeki etkilerini aydınlatarak ve genetik ve biyoinformatik analizlere yardımcı olacak kaynaklar yaratarak, araştırma moleküler biyoloji ve tarımsal uygulama arasındaki boşluğu doldurmayı amaçlamaktadır. Belirlenen bilgi boşlukları ile bu uyum, kullanılacak metodolojik yaklaşımlar için zemin hazırlamakta ve çalışmanın sürdürülebilir tarım ve ürün geliştirmeye katkıda bulunmadaki öneminin altını çizmektedir.

## 2. YÖNTEM

### 2.1 Veri Tabanı Oluşturulması ve Yapay Zeka Aracının Geliştirilmesi

#### 2.1.1 Veri Toplama ve Veri Seti Hazırlama

*Cannabis sativa* L.'deki transkripsiyon faktörü (TF) proteinlerini sınıflandırmak için, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) veri tabanından genomik ve proteomik veriler toplanmıştır. Çalışma, tür içindeki genetik çeşitliliği yakalamak için birden fazla *Cannabis sativa* topluluğuna odaklanmıştır. Seçilen derlemeler ve bunlara karşılık gelen çeşitler aşağıda listelenmiştir:

**Tablo 2.1** Derin öğrenme modelinin eğitiminde kullanılan genom birleştirmeleri

Erişim Numarası	Çeşit
GCA_016165845.1	Cannbio-2
GCA_003660325	Jamaican Lion DASH (Cs_JLD)
GCA_003417725	Finola (Cs_FN)
GCA_000230575	Purple Kush (Cs_PK)
GCA_900626175	CBDRx-18 (Cs_CBD)
GCA_002090435	Pineapple Banana Bubba Kush (Cs_PBK)
GCA_001510005	LA Confidential (Cs_LAC)
GCA_001509995	Chemdog91 (Cs_CD91)
GCA_001865755	Cannatonic (Cs_CAN)

Veri kümesinin temelini oluşturmak üzere her bir genom birleştirmesi için peptit dizileri elde edilmiştir. Peptit dizisi dosyaları, verilen erişim numaraları kullanılarak NCBI veritabanından FASTA formatında indirilmiştir. Tutarlılığı ve uygunluğu sağlamak için yalnızca erişim numaraları ve çeşit bilgileri kullanılmıştır. İndirilen dizilerin bütünlüğü, eksiksizlik ve uygun biçimlendirme kontrol edilerek doğrulanmıştır. Tüm montajlardan elde edilen peptit dizileri, sonraki adımlarda tek tip işlemeyi kolaylaştıran tek bir veri kümesinde derlenmiştir.

Transkripsiyon faktörü proteinlerinin tanımlanması ve sınıflandırılması PFAM korunmuş domain anotasyonları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Peptit dizileri içindeki protein domainleri, çoklu dizi hizalamaları ve gizli Markov modelleri (HMM'ler) ile temsil edilen kapsamlı bir protein ailesi koleksiyonu sağlayan PFAM

veritabanı kullanılarak tanımlanmıştır. Transkripsiyon faktörleriyle ilişkili PFAM alanlarının bir listesi derlenmiştir (EK-1). Peptit dizileri, CLC Genomics Workbench kullanılarak PFAM domainleri için taranmıştır. Seçilen PFAM domainlerinden bir veya daha fazlasını içeren peptit dizileri çıkarılmıştır. Bu alt küme *Cannabis sativa* proteomu içindeki transkripsiyon faktörü proteinlerini temsil etmektedir. Her TF peptidi, PFAM domain anotasyonları dayalı olarak bir transkripsiyon faktörü ailesine atanmıştır. Veri kümesi, tanımlanan ve sınıflandırılan TF peptidleri ile derin öğrenme modeline giriş için hazırlanmıştır. Her peptit dizisi, sınıflandırma görevi için hedef sınıf olarak hizmet eden karşılık gelen TF ailesi ile etiketlenmiştir. Yüksek kaliteli veri sağlamak ve gürültüyü ve potansiyel önyargıları en aza indirmek için belirsiz veya eksik domain anotasyonlarına sahip yinelenen diziler ve peptitler kaldırılmıştır (Ceylan vd., 2023; Faris vd., 2023).

Üstün kalitesi ve eksiksizliği nedeniyle, Cannbio-2 (Braich vd., 2020) genom birleştirmesi (GCA\_016165845.1), kenevir genomundaki transkripsiyon faktörü genlerini ve ilgili proteinleri karakterize etmek için biyoinformatik analizler için seçilmiştir. Cannbio-2 genomu, uzun okumalı dizileme teknolojileri kullanılarak dengeli bir kannabidiol ve delta-9-tetrahidrokannabinol oranı üreten tıbbi bir kenevir türünden üretilmiştir. Birleştirilen nükleotid sayısına ve BUSCO değerlendirmesine dayanan değerlendirmeler, Cannbio-2 genom birleştirmesini *Cannabis sativa* için mevcut en eksiksiz genom dizisi olarak tanımlamıştır. Bu yüksek kaliteli genom birleştirmesi, transkripsiyon faktörü genlerini ve bunlarla ilişkili proteinleri tanımlamak ve analiz etmek için sağlam bir temel sağlamıştır.

### **2.1.2 *Cannabis sativa* Transkripsiyon Faktör Ailesi Üyelerinin Biyoinformatik Analiz ile Karakterizasyonu**

Cannbio-2 proteomunda tanımlanan transkripsiyon faktörü (TF) ailesi üyelerinin kromozomal konumları belirlenmiş ve kromozomlardaki yerleşimlerine göre sıralanmıştır. Her gen, tür adı “Cs” (*Cannabis sativa*) kısaltması ile başlayıp transkripsiyon faktörü ailesinin adı ve kromozomal konumuna karşılık gelen benzersiz bir tanımlayıcı ile adlandırılmıştır. *Cannabis sativa*'daki TF genlerinin kromozomal lokalizasyonları, Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI) tarafından sağlanan Genom Veri Görüntüleyicisi kullanılarak tanımlanmıştır (Rangwala vd., 2021). Bu

genlerin intron ve ekzon yapıları, gen mimarisinin görselleştirilmesini kolaylaştıran ve gen organizasyonu hakkında bilgi sağlayan Gene Structure Display Server (GSDS) (Hu vd., 2015; URL-1, 2024) kullanılarak belirlenmiştir. Tanımlanan TF proteinlerinin fizikokimyasal özellikleri (stabilite, moleküler ağırlık, amino asit uzunluğu ve izoelektrik nokta (pI) değerleri dahil) ExPASy sunucusunda (URL-2, 2024) bulunan ProtParam aracı kullanılarak belirlenmiştir (Gasteiger vd., 2005). TF proteinlerinin çoklu dizi hizalamaları Clustal Omega kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Tamura vd., 2021). Filogenetik ağaçlar, ağaç topolojisinin sağlamlığını değerlendirmek için 1.000 yinelemeli bootstrap analizi ile Maximum Likelihood yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. TF proteinleri içindeki korunmuş motifler, MEME Suite çevrimiçi aracı (Bailey vd., 2009; URL-3, 2024) kullanılarak tanımlanmış ve protein işlevi için kritik olan yinelenen dizi modellerinin keşfedilmesini sağlamıştır.

*Cannabis sativa* TF proteinlerinin üç boyutlu (3D) yapıları AlphaFold (Jumper vd., 2021; URL-4, 2024) kullanılarak tahmin edilmiştir. TF proteinlerinin amino asit dizileri AlphaFold çevrimiçi aracı ile yüksek güvenilirlikli yapısal modeller oluşturmak için kullanılmıştır. Ayrıca, bilinen 3B yapıya sahip homolog proteinleri belirlemek, karşılaştırmalı analizleri kolaylaştırmak ve tahmin edilen modelleri doğrulamak için Protein Veri Bankası (PDB) veritabanında aramalar yapılmıştır. *Cannabis sativa* genomunda kodlanan TF ailesi üyelerinin genomik dizileri NCBI veritabanından elde edilmiştir. Cis-düzenleyici element (CRE) analizi için tüm TF genlerinin transkripsiyon başlangıç bölgelerinden 2 kb yukarı akış bölgelerini çıkarmak için hazırlanan bir Phyton komut dizisi kullanılmıştır. PlantCARE veritabanı (Lescot vd., 2002) bu promotör bölgelerdeki CRE'leri tahmin etmek için kullanılmıştır ve TF gen ifadesini kontrol eden düzenleyici mekanizmalar hakkında bilgi sağlamıştır. Proteinler genellikle çeşitli sinyal yollarını düzenlemek için aynı sınıftaki veya farklı gruplardaki diğer proteinlerle etkileşime girer. TF proteinlerinin diğer potansiyel etkileşimcilerle etkileşimlerini değerlendirmek için, seçilen *Cannabis sativa* TF proteinlerinin protein dizileri, etkileşim ağlarının oluşturulması için STRING veritabanına (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) (Szklarczyk vd., 2021; URL-5, 2024) girilmiştir. Güven eşiği 0,40 olarak belirlenmiştir ve TF

proteinleri arasındaki hem doğrudan hem de dolaylı ilişkileri vurgulayan kapsamlı bir etkileşim haritası oluşturmak için ilk kabukta maksimum 10 etkileşimci seçilmiştir.

### 2.1.3 Veri Ön İşleme ve Hazırlık

Bu çalışmada kullanılan protein dizileri, "aile" ve "dizi" olmak üzere iki sütundan oluşan, sekmeyle ayrılmış bir metin (.txt) dosyasında derlenmiştir. Proteinler ve dolayısıyla amino asitler harflerle ifade edilmektedir (Ofer vd., 2021). Ancak bu gösterim, derin öğrenme modellerinde doğrudan kullanıma elverişli bulunmamıştır. Literatürde sıklıkla kullanılan kod sözlüğü (Bileschi vd., 2022) ve tek atımlı kodlama (Yang vd., 2018) gibi yöntemler, karakterleri tek tek sayısallaştırdığı için dizi motiflerini yeterince yansıtamamıştır (Ay Karakuş vd., 2018).

Bu eksikliğin giderilmesi için, amino asitler arasındaki anlamsal ilişkileri yakalamak amacıyla doğal dil işleme yaklaşımına benzer bir strateji benimsenmiştir. Bu kapsamda protein dizilerinin "kelime" benzeri birimlere (k-mer) ayrılması uygun görülmüştür. Literatürde k-mer uzunluğunun genellikle 3 karakter olduğu belirtilmiştir (Vries vd., 2007; Vries ve Liu, 2008). Diziler 3 karakterlik k-mer'lere bölünerek amino asit grupları arasındaki anlamlı ilişkiler ortaya çıkarılmıştır. Bu k-mer'lerin sayısallaştırılması için Word2Vec (Mikolov vd., 2013) dil benzerlik modeli kullanılmış, her k-mer 300 boyutlu bir vektör ile temsil edilmiştir. Daha fazla k-mer elde edebilmek için her diziden üç farklı başlangıç karakteri kullanılarak k-mer üretilmiştir (Asgari ve Mofrad, 2015; Öncül ve Çelik, 2023). CBOW yaklaşımı benimsenmiş ve pencere boyutu 5 olarak belirlenmiştir. Word2Vec modelinin elde ettiği vektör temsilleri, gömme katmanının ağırlıkları olarak atanarak transfer öğrenme uygulanmıştır.

Veri dağılımı incelendiğinde bazı sınıfların az sayıda örneğe sahip olduğu görülmüştür. Bu durumun model performansını olumsuz etkilememesi için Rastgele Aşırı Örnekleme yöntemiyle veri seti dengelenmiştir. Ayrıca protein dizilerinin uzunluk dağılımı incelenerek (ağırlıklı olarak 400-450 amino asit), 3-mer tabanlı ayrıştırma sonucunda dizilerin boyutunun 150 kelimedede eşitlenmesi uygun bulunmuştur. Bu adımlar sonucunda veri setinin derin öğrenme için standart ve dengeli bir yapıya kavuşturulduğu saptanmıştır.

#### 2.1.4 Veri Seti ve Model Eğitimi

Orijinal veri kümesi 13.499 protein dizisi ve 74 protein ailesi içermektedir. İlk aşamada veri seti, Sklearn'in `train_test_split` fonksiyonu ile %80 eğitim, %10 doğrulama, %10 test şeklinde ayrılmış, bu dağılım sonucunda bazı sınıfların doğrulama ve test setlerinde yetersiz temsil edildiği anlaşılmıştır. Bu nedenle veri artırımı uygulanarak toplam veri sayısı 83.056'ya çıkarılmıştır. Artırılmış veri seti yeniden aynı oranlarda bölündüğünde, 65.552 eğitim, 8.702 doğrulama ve 8.702 test verisi elde edilmiştir. Böylece her sınıfın temsil düzeyinin iyileştirildiği ve modelin her sınıfı daha dengeli bir biçimde öğrenebildiği ortaya konmuştur.

#### 2.1.5 Derin Öğrenme Modeli

Tablo ayracıyla sınırlanmış metin (.txt) formatındaki veri dosyası, veri kaynaklarından alınarak birleştirilmiş ve "aile" ile "dizi" olmak üzere iki sütundan oluşacak şekilde hazırlanmıştır. Ancak, bu veri dosyası doğrudan bir derin öğrenme modelinde kullanılmaya uygun değildir. Derin öğrenme modellerinde verilerin kullanımı, ancak belirli ön işleme adımlarıyla sayısallaştırılmasıyla mümkün hale gelir. Hem literatürde hem de bu çalışmadaki veri setinde proteinler ve dolayısıyla amino asitler harflerle ifade edilmiştir (Ofer vd., 2021). Ancak, bu temsil biçimi derin öğrenme modelleri için uygun değildir; bu nedenle verilerin sayısallaştırılması gerekmektedir.

Bu alanda kullanılan sayısallaştırma yöntemleri arasında, literatürde sıklıkla tercih edilen kod sözlüğü (Bileschi vd., 2022) ve tek atımlı kodlama (Yang vd., 2018) gibi yöntemler bulunur. Ancak bu yöntemler, dizilerdeki her bir karakteri ayrı ayrı sayısallaştırdığı için, amino asitler arasındaki bağlamı, yani protein ailelerini belirleyen dizi motiflerini yeterince ortaya koyamamaktadır (Ay Karakuş vd., 2018). Doğal dil işleme çalışmalarında kelimeler arasındaki anlam ilişkileri nasıl belirleniyorsa, burada da amino asit grupları arasındaki bağların ortaya çıkarılması gerekmektedir. Bu nedenle, bu çalışmada, verilerin ön işleme adımında Word2Vec dil benzerlik modeli kullanılmıştır.

Word2Vec modeli, tasarımı gereği kelimelerden oluşan cümlelerle çalışmaktadır. Ancak protein dizileri yekpare bir yapıya sahiptir. Literatürden alınan bilgiler ışığında,

protein dizilerinin kelimelere, yani k-mer'lere bölünmesi gerektiği belirlenmiştir. Burada "k", kelimelerdeki karakter sayısını ifade etmektedir. Literatür incelendiğinde, bu karakter sayılarının genellikle 3 ile 6 arasında değiştiği, ancak çoğunlukla 3 olduğu görülmektedir (Vries vd., 2007; Vries ve Liu, 2008). Bu çalışma kapsamında, dizilerden kelimeler elde edilerek bir kelime havuzu oluşturulmuş ve bu havuz, Word2Vec modeli ile kelimelerin yakınlıklarının belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Bu kelimeler daha sonra, 300 boyutlu vektörler halinde sayısallaştırılmıştır.

K-mer'lerin sayısını artırmak amacıyla, her dizi için ilk karakterden başlayarak birinci turda, ikinci karakterden başlayarak ikinci turda ve üçüncü karakterden başlayarak üçüncü turda olmak üzere üç farklı turda k-mer üretimi gerçekleştirilmiştir. Böylece, dizilerde saklı bulunan tanımlayıcı motiflerin her koşulda tespit edilmesi sağlanmıştır (Asgari ve Mofrad, 2015; Öncül ve Çelik, 2023). Word2Vec modeliyle bu süreçte CBOW ve Skip-Gram olmak üzere iki farklı yaklaşım uygulanmış ve bu çalışmada CBOW yaklaşımını kullanılmıştır. Her bir k-mer, kendisinden önceki ve sonraki belirli pencere boyutundaki k-mer'lere bakılarak tahmin edilmiştir. Yapılan testler sonucunda pencere boyutu varsayılan değer olan 5 olarak belirlenmiştir.

Derin öğrenme modellerinin başarısı için veri sınıflarının dengeli bir şekilde dağıtılması önemlidir. Bu çalışmada, Word2Vec analizinin ardından veri setinin sınıflara göre dağılımı incelenmiştir. Bazı sınıfların az sayıda örnekle temsil edildiği gözlemlenmiş, bu durum hem doğrulama hem de test veri setlerinde bazı sınıfların yetersiz temsil edilmesine, dolayısıyla modelin düşük başarı göstermesine yol açmıştır. Veri setini dengeli bir hale getirmek için Rastgele Aşırı Örnekleme yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemle, eksik örneklemlenmiş sınıfların verileri, bilginin korunmasını ve orijinal veriyle aynı özelliklere sahip olmasını sağlayacak şekilde artırılmıştır.

Veri setindeki protein dizilerinin uzunlukları farklılık göstermektedir. Derin öğrenme modellerinin başarılı olabilmesi için dizilerin eşit uzunlukta olması gerekmektedir. Bu çalışmada, dizilerin uzunluklarına göre dağılımı incelenmiş ve ağırlıklı olarak 400-450 amino asit uzunluğunda toplandıkları görülmüştür. Dizilerin 3 karakterli kelimelere (3-mer) ayrılacağı göz önünde bulundurularak, ön işleme sırasında bu dizilerin boyutlarının 150 kelimedeki eşitlenmesinin uygun olduğu belirlenmiştir. Sabit uzunlukta

diziler Word2Vec modeli ile vektörlere dönüştürülmüş ve transfer öğrenme yöntemiyle modelin başlangıç ağırlıkları olarak atanmıştır.

Bu çalışmada, derin öğrenme tabanlı bir 1D GRU Attention modeli geliştirilmiş ve protein dizilerinin sınıflandırılması amaçlanmıştır. Model, Evrişimsel Sinir Ağları (CNN), çift yönlü GRU katmanları ve Dikkat mekanizmalarını birleştirerek protein dizilerinin karmaşık yapısını öğrenmeye odaklanmıştır. Hazırlanan derin öğrenme modelinin tasarımı Tablo 2.2’de verilmiştir.

**Tablo 2.2** Önerilen derin öğrenme modelinin tasarımı

Layer	Output Shape	Param #
InputLayer	(None, 150)	0
Embedding	(None, 150, 300)	2,517,300
Conv1D	(None, 150, 128)	115,328
BatchNormalization	(None, 150, 128)	512
ReLU	(None, 150, 128)	0
MaxPooling1D	(None, 75, 128)	0
Conv1D	(None, 75, 256)	98,560
BatchNormalization	(None, 75, 256)	1,024
ReLU	(None, 75, 256)	0
MaxPooling1D	(None, 38, 256)	0
Conv1D	(None, 38, 512)	393,728
BatchNormalization	(None, 38, 512)	2,048
ReLU	(None, 38, 512)	0
MaxPooling1D	(None, 19, 512)	0
Bidirectional GRU	(None, 19, 512)	1,182,720
LayerNormalization	(None, 19, 512)	1,024
Attention	(None, 19, 512)	0
Concatenate	(None, 19, 1024)	0
Bidirectional GRU	(None, 512)	1,969,152
LayerNormalization	(None, 512)	1,024
Dense	(None, 512)	262,656
Dropout	(None, 512)	0
Dense (Classification)	(None, 74)	37,962

### 2.1.6 Websitesi Hazırlanması ile Veri Tabanının Çevrimiçi Hale Getirilmesi

Veritabanına ait web sitesi Visual Studio IDE ortamında C# programlama dilinde yazılmıştır ve MVC (Model-View-Controller) modeli kullanılarak ASP.NET ortamında oluşturulmuştur. Bu web sitesi bir yönetici paneli ve bir son kullanıcı arayüzü olmak üzere iki modül olarak geliştirilmiştir. Veritabanına veri girişi admin paneli üzerinden gerçekleştirilmiş ve girilen veriler veritabanına kaydedilmiştir. Veritabanı olarak MS SQL kullanılmıştır. Girilen veriler kullanıcı ara yüzünde

görüntülenmektedir. Veritabanı mimarisi ilişkisel tablolar etrafında oluşturulmuştur. Bu mimari veritabanı tablolarını, alanlarını ve tablo ilişkilerini göstermektedir. Table1 veritabanı tablosu, *Cannabis sativa* TF proteinlerine ait TableS1'in verilerini içermektedir (genom veritabanı kimliği ve kromozomal konum, vb.). Ayrıca indirme tablosu bölümü, tüm bitkiler için peptit, CDS ve gen dizilerini kapsamaktadır. Karakterizasyon aşamasında gen yapısı, filogenetik ilişkiler, korunmuş motifler ve diğer analiz sonuçları da veritabanında ulaşılabilir. Tasarlanan derin öğrenme modeli de yine veri tabanından çevrimiçi olarak erişilebilir.

## 2.2 Bitki Yetiştirilmesi ve Morfolojik Analizler

### 2.2.1 Bitki Materyalinin Büyütülmesi ve Hormonal Uygulamalar

Yerli kenevir çeşitleri olan Narlı ve Vezir'e ait *Cannabis sativa* tohumları (300 adet Vezir, 300 adet Narlı) Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kenevir Araştırmaları Enstitüsü'nden Prof. Dr. Selim AYTAÇ tarafından temin edilmiştir. Kenevir bitkilerinin yetiştirilmesi için T.C. Kastamonu Valiliği İl Tarım ve Orman Müdürlüğü'ne gerekli başvurular yapılmış ve E-25224248-105.10-12884069 yazıda belirtildiği üzere gerekli izinler alınmıştır (EK 1). Kenevir bitkilerinin yetiştirilme süreci boyunca aylık periyotlar ile İl Tarım ve Orman Müdürlüğü personelleri tarafından denetimler gerçekleştirilmiştir. Çalışma süresince ve çalışma bitiminde imha edilmesi gereken bitki numuneleri İl Tarım ve Orman Müdürlüğü personelleri ile birlikte imha edilmişlerdir. Tohumlar distile su ile yıkandıktan sonra mineral ile zenginleştirilmiş torf [pH (KCl) 5.5 – 7.0, azot içeriği 180 mg L<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>O içeriği 400 mg L<sup>-1</sup>, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> içeriği 245 mg L<sup>-1</sup>] doldurulmuş plastik saksılara ekilmiştir (Caplan vd., 2023). Bitkiler, çimlenme ve filizlenme dönemlerinde 18 saat ışık (uzun günler), vejetatif büyüme döneminde ise 12 saat ışık (kısık gün) ile bitki büyütme kabinde yetiştirilmiştir. Bitki büyütme kabinde 24°C gündüz ve 20°C gece sıcaklıkları, %70 nem koşulları sağlanmıştır. Bitkilerin büyütülmesinde floresan lambalar (SYLVANIA F36W GRO) 400 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ışık yoğunluğu ile kullanılmıştır (Todd vd., 2022).

Deney kapsamında 3 farklı grup oluşturulmuştur Şekil 2.1. İlk grup kontrol grubu olarak belirlenmiştir. İkinci gruba brassinolide (BR) uygulaması yapılmıştır. Üçüncü grup ise brassinosteroid sentezini engelleyen brassinazole (BRZ) uygulamasının

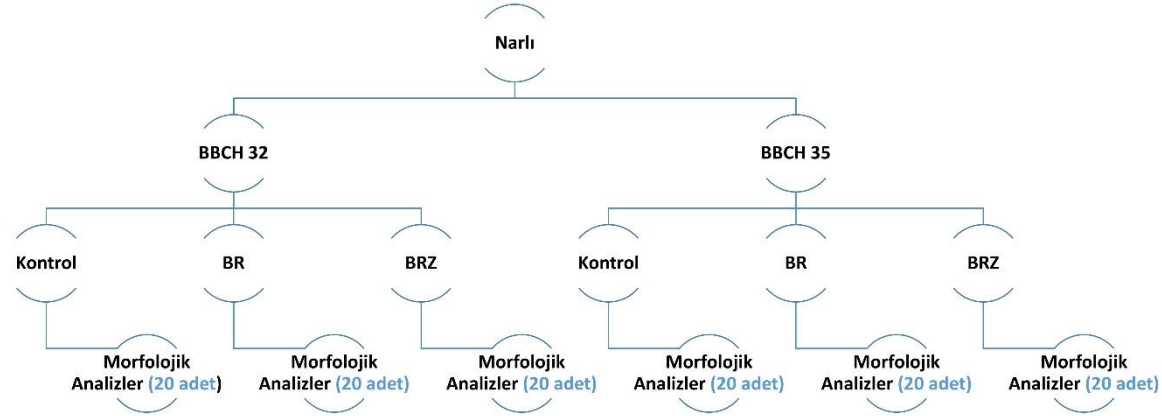
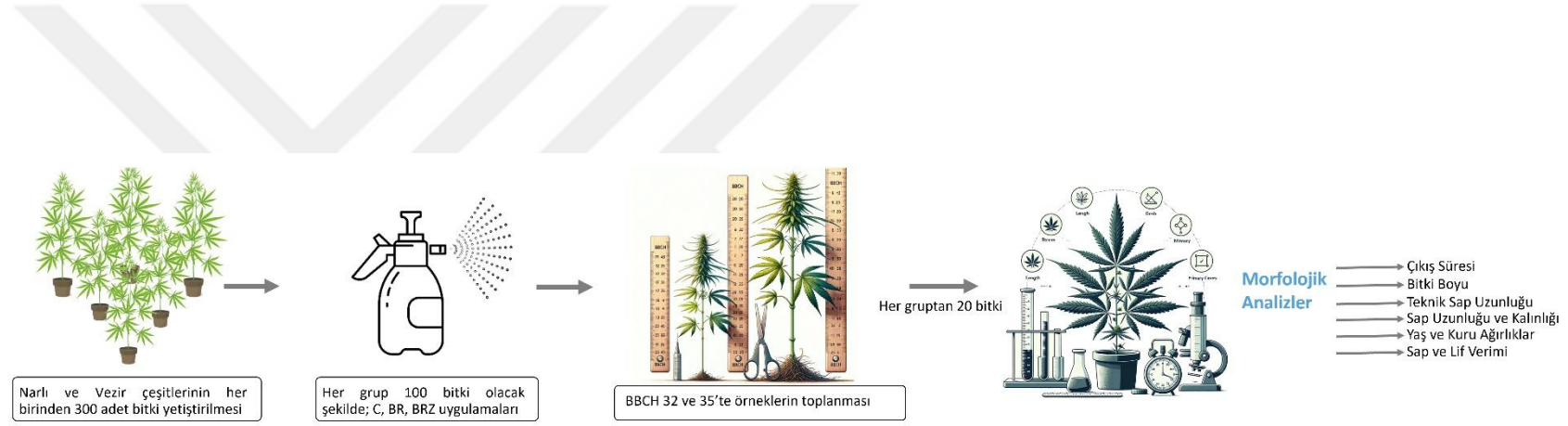
yapıldığı grup olarak tanımlanmıştır. Tohumların filizlenmesinin 15. gününden itibaren iki haftada bir olmak üzere 8 hafta boyunca C, BR ve BRZ uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Uygulamalar, bitkilerin toprak üstü yüzeylerine öğleden sonra 16:00-18:00 saatleri arasında yapılmış ve her bir metrekaareye 15 günde bir 150 mL çözelti püskürtülmüştür (Yuan vd., 2019). Brassinolide (BR) ve Brazinazole (BRZ) (Sigma-Aldrich, Almanya) stok çözeltileri (20 µM) tozun başlangıçta etanol içinde çözülmesi ve son hacmin distile su ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Uygulama konsantrasyonları BR için 1 µM, BRZ için ise 10 µM olarak belirlenmiştir (Fan vd., 2021; Pramod vd., 2021; Yang vd., 2023). Kontrol bitkilerine, BR ve BRZ stok çözeltilerinin hazırlanmasında kullanılan etanol-su karışımı uygulanmıştır. Sadece etanolün püskürtüldüğü bir “mock” grup planlanmış ancak etanolün bitkilere zarar verme potansiyeli nedeniyle bu grup çalışma kapsamından çıkarılmıştır.

### **2.2.2 Örneklerin Toplanması ve Saklanması**

Büyütme sürecinde iki farklı gelişimsel dönemde örnek alınması ve karşılaştırılması öngörülmüştür. Bu doğrultuda, tohumların filizlenmesinin 15. gününden itibaren iki haftada bir 8 hafta boyunca BR ve BRZ uygulamaları yapılmıştır. Kontrol örneklerine etanol-su karışımı uygulanmıştır. İki farklı gelişimsel dönemde, BBCH skalasına göre 32 ve 35 seviyelerde örnekler alınmıştır (Mishchenko vd., 2017). Bu dönemlerin filizlenmenin ardından yaklaşık 10. ve 14. haftalara karşılık geldiği öngörülmüştür. Morfolojik analizler için her çeşitin her örnek grubu için 20 adet örnek toplanmış ve gerekli analizler gerçekleştirilmiştir.

### **2.2.3 Morfolojik ve Fizyolojik Analizler**

Örneklerde gerçekleştirilen morfolojik ölçümler; çıkış süresi, bitki boyu (m), teknik sap uzunluğu (m), sap kalınlığı (mm), yaş ve kuru ağırlıklar (sap), sap ve lif verimini içermektedir (Aksoy ve Aytaç, 2021).



Şekil 2.1 İş akış şeması ve örnek dağılımları

#### 2.2.4 İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen morfolojik veriler, her bir parametre için farklı faktörlerin (çeşit, cinsiyet, uygulama, gelişimsel dönem gibi) ana etkilerini ve etkileşimlerini ortaya koymak amacıyla tek yönlü veya çok yönlü ANOVA'ya tabi tutulmuştur. Varyans analizinde faktör düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık saptandığında, hangi grupların birbirinden farklı olduğunu belirlemek üzere Tukey post-hoc testi uygulanmış; bu sayede ortalama değerler arası ayrımların istatistiksel anlamlılığı ve yönü değerlendirilmiştir. Çalışmada  $p < 0,05$  düzeyi anlamlılık sınırı olarak benimsenmiş, elde edilen F istatistikleri, serbestlik dereceleri ve p değerleri tablolar ve metin içi açıklamalar şeklinde raporlanmıştır. Tek yönlü ANOVA, özellikle tek bir faktörün (örneğin BR uygulaması) etkisini analiz etmek için kullanılmış; çok yönlü ANOVA ise birden fazla faktörün (çeşit, cinsiyet gibi) aynı anda incelenmesi ve bu faktörler arasında etkileşim olup olmadığının sınılanması için tercih edilmiştir. Gruplara ait ortalama ve standart sapma veya standart hata değerleri grafiklerde sunulmuş, boxplot görselleriyle dağılımın medyan, çeyrekler arası aralık ve olası uç değerleri gözlemlenmiştir. Bu yaklaşım, hormon uygulamalarının bitki boyu, teknik sap uzunluğu ve sap kalınlığı gibi önemli verim bileşenlerini hangi koşullarda ve ne ölçüde etkilediğini istatistiksel olarak doğrulamaya imkân sağlamıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1 Veri Tabanı ve Yapay Zeka Aracı

Genomik ve proteomik veriler, tür içindeki genetik çeşitliliği yakalamak için dokuz farklı *Cannabis sativa* çeşidinden toplanmıştır. Seçilen çeşitler arasında Cannbio-2, Jamaican Lion DASH (Cs\_JLD), Finola (Cs\_FN), Purple Kush (Cs\_PK), CBDRx-18 (Cs\_CBD), Pineapple Banana Bubba Kush (Cs\_PBK), LA Confidential (Cs\_LAC), Chemdog91 (Cs\_CD91) ve Cannatonic (Cs\_CAN) yer almıştır. Bu dokuz kenevir çeşidinden 74 protein ailesine ait toplam 13.499 protein tanımlanmıştır. Peptit dizileri NCBI veritabanından FASTA formatında elde edilmiş ve tek bir veri kümesinde derlenmiştir. Dizilerin bütünlüğü, eksiksizliği ve uygun biçimlendirmeyi sağlamak için doğrulanmıştır. Transkripsiyon faktörü (TF) proteinlerinin tanımlanması ve sınıflandırılması PFAM alan ek açıklamaları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Peptit dizilerini taramak için transkripsiyon faktörleriyle ilişkili PFAM alanlarının kütatörlü bir listesi kullanılmıştır. Birleştirilmiş veri kümesinden, daha ileri analiz için TF'ye özgü alanlar içeren bir protein alt kümesi çıkarılmıştır.

**Tablo 3.1** *Cannabis sativa* genomunda belirlenen transkripsiyon faktörü aileleri ve üye sayıları

TF Ailesi	Üye	TF Ailesi	Üye	TF Ailesi	Üye	TF Ailesi	Üye
AP2	20	E2F/DP	11	LFY	2	SBP	18
ARF	31	EIL	6	LSD	4	SRS	7
ARR-B	9	ERF	111	MIKC_MADS	4	STAT	2
B3	86	FAR1	38	M-type_MADS	32	TALE	14
BBR-BPC	4	G2-like	29	MYB	67	TCP	23
BES1	8	GATA	18	MYB_related	73	Trihelix	37
bHLH	118	GeBP	8	NAC	36	VOZ	3
bZIP	50	GRAS	57	NF-X1	4	Whirly	2
C2H2	74	GRF	10	NF-YA	8	WOX	8
C3H	58	HB-other	10	NF-YB	15	WRKY	40
CAMTA	7	HB-PHD	3	NF-YC	13	YABBY	9
CO-like	12	HD-ZIP	27	Nin-like	8	ZF-HD	10
CPP	2	HRT-like	1	NZZ/SPL	1		
DBB	8	HSF	4	RAV	3		
Dof	27	LBD	30	SAP	3		

Cannbio-2 genom düzeneği, üstün kalitesi ve eksiksizliği nedeniyle ayrıntılı biyoinformatik analizler için seçilmiştir. Biyoinformatik analizlerden elde edilen sonuçlar hazırlanan veri tabanının internet sitesinde ([www.cannabistfdb.org.tr](http://www.cannabistfdb.org.tr)) sunulmuştur. Cannbio-2 genomu içinde, 57 transkripsiyon faktörü ailesine ait 1.323 gen tanımlanmıştır. Bu genlerin farklı TF aileleri arasındaki dağılımı Tablo 3.1'de sunulmuştur. En fazla üyeye sahip TF aileleri arasında bHLH (118 üye), MYB ile ilişkili (73 üye), C2H2 (74 üye) ve B3 (86 üye) yer almaktadır. Buna karşılık, HRT benzeri ve NZZ/SPL gibi ailelerin her birinin yalnızca bir üyesi vardı, bu da *Cannabis sativa* genomunda TF ailelerinin çeşitli bir temsiline işaret etmiştir.

1.323 TF geni NCBI Genom Veri Görüntüleyicisi kullanılarak *C. sativa* kromozomlarıyla eşleştirilmiştir. Genler on kromozom boyunca eşit olmayan bir şekilde dağılmıştır ve belirli kromozomlar daha yüksek yoğunlukta TF genleri barındırmaktadır. Her bir gene, kromozomal konumuna ve aile sınıflandırmasına göre, “Cs” (*Cannabis sativa* için), TF aile adı ve benzersiz bir numarayı takip eden benzersiz bir tanımlayıcı atanmıştır. Kromozom 1 en yüksek TF yoğunluğunu (~200) sergiler, bu da gen ifadesinin ve hücresel süreçlerin düzenlenmesinde kritik öneme sahip olduğunu gösterir. Kromozom 6 ve 7 daha az TF barındırırken, 4 ve 8 gibi diğer kromozomlar da yüksek TF sayıları sergiler. Bu dengesiz dağılım, *Cannabis sativa*'daki genomik uzmanlaşmanın altını çizmekte ve belirli kromozomların muhtemelen transkripsiyonel düzenlemeye daha önemli katkıda bulunduğunu göstermektedir. TF yoğunluğunun bu sıcak noktaları, yüksek transkripsiyonel aktivite bölgeleri veya strese duyarlı gen kümeleri ile ilişkili olabilir. *Cannabis sativa* transkripsiyon faktörü proteinlerinin analizi, protein uzunluklarında 48 amino asit kadar kısıdan 2.011 kalıntı kadar uzunluğa kadar değişen ve ortalama uzunluğu yaklaşık 409 amino asit olan önemli farklılıklar ortaya koymuştur. Bu geniş aralık, bitkinin proteomu içindeki yapısal ve işlevsel çeşitliliğin altını çizmektedir. Spektrumun daha kısa ucundaki, tipik olarak 258 amino asitten daha az olan proteinlerin özel enzimatik veya düzenleyici işlevlere hizmet etmesi muhtemeldir. Bu küçük proteinler, transkripsiyon faktörleri, sinyal molekülleri veya belirli substrat afinitelerine sahip enzimler olarak hareket edebilir ve hücresel süreçlerin ince ayarında önemli roller oynayabilir (Lu ve Xiao, 2024). Tersine, 1.000 amino asidi aşan daha büyük proteinler, karmaşık biyokimyasal yolların ayrılmaz parçası olan çok alanlı

iskeleler olarak işlev görebilir. Bu proteinler genellikle çeşitli biyomoleküllerle etkileşimleri kolaylaştıran ve sinyal iletimi, makromoleküler birleştirme ve metabolik düzenleme gibi karmaşık hücresel işlevleri koordine etmelerini sağlayan birden fazla işlevsel alan içerir (Vogel ve Chothia, 2006). Bu tür büyük proteinler, *C. sativa*'nın adaptasyon kabiliyetine ve metabolik çok yönlülüğüne katkıda bulunan yüksek düzeyde bir organizasyonel karmaşıklığa işaret etmektedir. Proteinlerin ortalama izoelektrik noktası (pI) 7,06 olarak hesaplanmıştır, bu da çoğu proteinin nötr hücre içi ortamlarda en iyi şekilde işlev gördüğünü göstermektedir. Bununla birlikte, pI değerlerinin dağılımı, belirli hücresel bölmelerin farklı pH ortamlarına uyum sağlayarak hem asidik hem de bazik koşullara doğru değişkenlik göstermiştir. Asidik pI değerlerine sahip proteinler, iç pH'ın daha düşük olduğu vakuoller veya Golgi aparatı gibi organellere lokalize olabilir ve protein ayrıştırma ve bozunma gibi süreçleri kolaylaştırabilir (Martínez ve Chrispeels, 2003). Buna karşılık, bazik pI değerlerine sahip proteinler, hafif alkali ortamlara sahip mitokondri veya kloroplastlarla ilişkili olabilir veya negatif yüklü DNA omurgası ile uygun elektrostatik etkileşimler nedeniyle çekirdek içindeki DNA bağlama faaliyetlerine katılabilir (Dyson ve Wright, 2005). Bu pI varyasyonu, proteinlerin farklı hücresel lokalizasyonlarda yapısal stabiliteyi ve fonksiyonel aktiviteyi sürdürme ihtiyacını yansıtmaktadır. *C. sativa* proteinlerinin çeşitli pH koşullarında çalışabilme yeteneği, bitkinin fizyolojik esnekliğine ve değişen çevresel stresler altında dayanıklılığına katkıda bulunur. Proteinlerin ortalama kararsızlık indeksi 52,07'dir ve bu da kararsız olduğu tahmin edilen proteinlerin baskın olduğunu göstermektedir (kararsızlık indeksi >40). Kararsız proteinler genellikle geçicidir ve stres tepkileri, sinyal yolları ve gelişimsel düzenleme gibi dinamik hücresel süreçlerde önemli roller oynarlar (Guharoy vd., 2016). Bitkilerde, hızlı protein döngüsü, çevresel değişikliklere uyum sağlamak için kritik öneme sahiptir ve metabolik aktivitelerin ve gen ekspresyon profillerinin hızlı bir şekilde modülasyonuna izin verir (Vierstra, 2009). *C. sativa*'da kararsız proteinlerin yüksek yaygınlığı, proteomik esnekliği destekleyen evrimsel bir adaptasyona işaret etmektedir. Bu özellik, bitkinin gerektiğinde belirli proteinleri hızla sentezleyerek veya parçalayarak patojen saldırıları, kuraklık veya sıcaklık dalgalanmaları gibi biyotik ve abiyotik streslere hızlı bir şekilde yanıt vermesini sağlar (Fragkostefanakis vd., 2015).

Transkripsiyon faktörü (TF) genleri bakımından zengin kromozomlar ile yüksek protein çeşitliliği sergileyen bölgeler arasındaki örtüşme ilgi çekici bir gözlemdir. Başta Kromozom 1 olmak üzere yüksek sayıda TF'ye sahip kromozomlar, tanımlanan kararsız proteinlerin büyük bir kısmı da dahil olmak üzere proteomun önemli bir bölümünü düzenliyor olabilir. Transkripsiyon faktörleri gen ifadesinin kilit düzenleyicileridir ve genomik kümelenmeleri birden fazla hedef gen üzerinde koordineli kontrolü kolaylaştırabilir (Jin vd., 2016). Bu genomik organizasyon, transkripsiyonel tepkilerin verimliliğini artırabilir ve bitkinin uyum yeteneği için gerekli olan karmaşık düzenleyici ağlara katkıda bulunabilir. TF genlerinin kümelenmesi diğer bitki genomlarında rapor edilmiştir ve gen düzenlemesini kolaylaştırmak için evrimsel bir strateji olduğu düşünülmektedir (Rizzon vd., 2006). *C. sativa*'da, protein özelliklerinde gözlemlenen değişkenlikle birlikte bu tür kümelenme, büyüme ve stres yanıt mekanizmalarında esnekliği korumak için evrimsel baskıları yansıtmaktadır. Bu bulguların önerdiği sıkı bir şekilde koordine edilmiş transkripsiyon ağı, bitkinin çevresel ipuçlarına yanıt olarak proteomunu etkili bir şekilde modüle etme yeteneğinin altını çizmektedir. TF'lerin genomik kümelenmesi ve kararsız proteinlerin yaygınlığı, organizmaların değişen ortamlara hızla uyum sağlamak için mekanizmalar geliştirdiği evrimsel plastisite kavramıyla uyumludur. *C. sativa* bağlamında, farklı habitatlarda gelişme ve çeşitli streslere dayanma ihtiyacı, muhtemelen dinamik ayarlamalar yapabilen bir proteomun evrimine neden olmuştur. Kararsız proteinlerin yüksek oranı, hızlı proteomik yeniden yapılandırmaları kolaylaştırarak bitkinin gereksiz proteinleri parçalayarak ve acil hayatta kalmak için gerekli olanları sentezleyerek kaynakları korumasını sağlayabilir (Gabler vd., 2020). Ayrıca, çok çeşitli protein uzunluklarının gösterdiği yapısal çeşitlilik, *C. sativa*'nın özel işlevleri yerine getirmek için çok yönlü bir protein araç setine sahip olduğunu göstermektedir. Bu çok yönlülük, bitki savunmasındaki ekolojik rolleri ve tıbbi ve endüstriyel uygulamalardaki ekonomik önemleri nedeniyle değerli olan kannabinoidler ve terpenler gibi ikincil metabolitlerin biyosentezi için gereklidir (Andre vd., 2016).

*C. sativa*'nın proteomik yapısını anlamının biyoteknoloji ve ürün geliştirme çabaları açısından önemli sonuçları vardır. Stres tepkilerinde ve metabolik yollarda yer alan kilit kararsız proteinlerin belirlenmesi, genetik mühendisliği veya seçici ıslah yoluyla

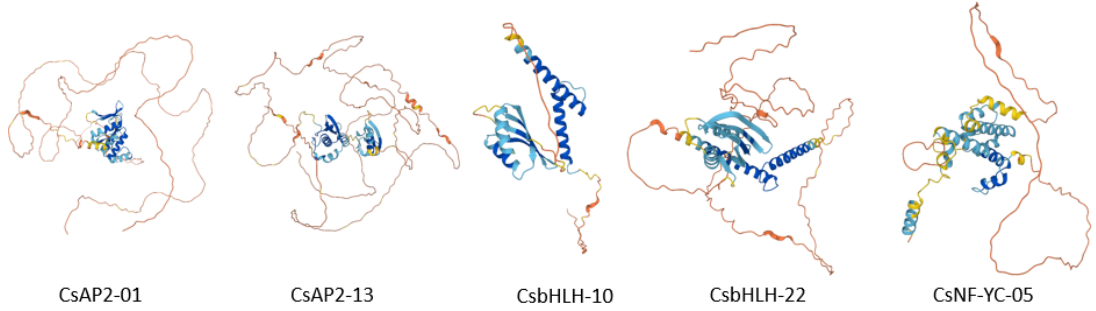


gerekliliğinden kaynaklanan evrimsel korumayı göstermiştir. Bu gözlem, transkripsiyon faktörlerinin temel işlevsel alanları korumak için sıkı seçici baskılar altında geliştiği diğer bitki türlerindeki bulgularla tutarlıdır (Li vd., 2024). Filogenetik analiz, TF veri kümesi içindeki farklı alt aileleri daha da belirginleştirmiş ve DNA bağlanması veya protein-protein etkileşimleri için çok önemli olan yüksek oranda korunmuş kalıntılar sergileyen belirli kümeler ortaya çıkarmıştır. Bu uzmanlaşma, stres tepkileri ve gelişimsel yollar da dahil olmak üzere çeşitli biyolojik süreçleri düzenlemek için TF ailelerinin çeşitliliğinin altını çizmektedir. Örneğin, *C. sativa*'daki NAC ailesinin genom çapında yapılan bir analizi, kromozomlar arasında eşit olmayan bir şekilde dağılmış 69 *CsNAC* geni tespit etmiş, en yüksek sayıyı içeren kromozom 1, çevresel uyaranlara yanıt olarak gen ifadesini modüle eden karmaşık bir düzenleyici ağa işaret etmiştir (Li vd., 2024).

Transkripsiyon faktörü proteinlerinin tahmin edilen üç boyutlu yapıları AlphaFold çevrimiçi aracı kullanılarak elde edilmiştir (Şekil 3.2). Bu modeller, proteinlerin işlevsel ve yapısal özelliklerine ilişkin ayrıntılı bilgiler sağlamıştır. Özellikle,  $\beta$ -sheet ve  $\alpha$ -helix motifleri proteinlerin çoğunda öne çıkmakta ve yapısal karmaşıklıklarını vurgulamaktadır. Transkripsiyon faktörlerinin üç boyutlu yapı tahmini, işlevsel mekanizmalarının anlaşılması için çok önemlidir.  $\beta$ -sheet ve  $\alpha$ -helix motiflerinin varlığı, bu proteinlerin DNA veya diğer proteinlerle spesifik etkileşimleri kolaylaştıran sağlam yapısal çerçevelere sahip olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıntılı yapısal modeller, bu transkripsiyon faktörlerinin moleküler işlevlerini aydınlatmak için gerekli olan aktif bölgeleri, bağlanma ceplerini ve etkileşim alanlarını tanımlamaya yardımcı olur. Bu yapısal bilgi, öngörülen işlevleri ve etkileşimleri doğrulamak için daha fazla deneysel çalışma tasarlamak için çok önemlidir. Bu bulgu, belirli gruplar içindeki korunmuş motiflerin özelleşmiş işlevleri ve evrimsel kökenleri gösterdiği buğdaydaki LEA proteinlerinin analizi gibi diğer çalışmalarla tutarlıdır (Jing vd., 2022). Bu modeller, yapısal varyasyonların transkripsiyon faktörlerinde işlevsel özgülüğe nasıl katkıda bulunduğunu anlamak için bir temel oluşturmaktadır.

Bir grup araştırmacı,  $\beta$ -sheet motiflerinin yüksek tuzluluk koşulları altında transkripsiyon faktörü etkileşimlerini stabilize etmedeki rolünü araştırmış ve yapısal motiflerin stresli ortamlarda protein stabilitesini ve işlevini artırabileceğini öne

sürmüştür (Begum, 2022). Benzer şekilde, transkripsiyon faktörlerindeki  $\alpha$ -sarmal motiflerinin DNA bağlanma afinitesini kolaylaştırabileceğini ve böylece stres yanıtları sırasında transkripsiyonel düzenlemeyi artırabileceğini bulmuştur (Wiese vd., 2021).



**Şekil 3.2** Kenevir genomunda kodlanan bazı transkripsiyon faktörü ailesi üyelerine ait proteinlerin 3 boyutlu yapıları

Gelecekteki yönelimlere, mutasyonların bu yapısal motifler üzerindeki etkisini tahmin etmek için gelişmiş hesaplama araçlarının kullanılması dahil edilebilir. Bu, farklı koşullar altında bu transkripsiyon faktörlerinin yüksek çözünürlüklü yapılarını elde etmek için X-ışını kristalografisi ve kriyo-elektron mikroskobu gibi tekniklerin kullanıldığı deneysel çalışmalarla tamamlanabilir. Bu tür çalışmalar, yapısal motiflerin transkripsiyon faktörlerinin işlevini ve kararlılığını nasıl etkilediğine dair daha derin bilgiler sağlayabilir ve potansiyel olarak hedeflenen genetik modifikasyonlar yoluyla daha sağlam bitki çeşitlerinin geliştirilmesine yol açabilir. Ayrıca, diğer hücresel bileşenlerle transkripsiyon faktörü etkileşimlerinin yapısal temelini anlaşılması, gelişmiş düzenleyici yeteneklere sahip sentetik transkripsiyon faktörlerinin tasarımını bilgilendirebilir. Bu yaklaşım, her biri işlevleri için kritik olan benzersiz yapısal özellikler sergileyen çeşitli transkripsiyon faktörü ailelerine genişletilebilir.

MYB transkripsiyon faktörlerinin üç boyutlu yapıları genellikle DNA bağlanmasını ve protein-protein etkileşimlerini kolaylaştıran çoklu  $\alpha$ -heliks motiflerinin varlığını ortaya koyar. Bu yapısal özellikler, MYB proteinlerinin hücre farklılaşması ve stres tepkilerindeki düzenleyici işlevleri için çok önemlidir. Bu yapısal motiflerin anlaşılması, MYB transkripsiyon faktörlerinin hedef gen düzenlemelerinde nasıl özgüllük kazandıklarına dair öngörüler sağlayabilir (Manzoor vd., 2021).

bZIP transkripsiyon faktörleri tipik olarak, DNA bağlanması için bir ön koşul olan dimerizasyonu kolaylaştıran korunmuş bir lörin fermuar motifi sergiler. bZIP proteinlerinin yapısal modelleri, stres ve hormon sinyal yollarındaki rolleri için gerekli olan protein-DNA ve protein-protein etkileşimlerine aracılık etmede bu motifin önemini vurgulamaktadır. WRKY transkripsiyon faktörlerindeki WRKY alanı, hedef gen promotörlerindeki W-box elemanlarına bağlanmak için gerekli olan korunmuş bir çinko parmak motifi ile karakterize edilir. WRKY proteinlerinin yapısal analizleri, bu motiflerin bitki savunma ve stres tepkilerindeki düzenleyici işlevlerine nasıl katkıda bulunduğunu ortaya çıkarabilir (Letunic ve Bork, 2021).

NAC transkripsiyon faktörleri, DNA bağlanmasını ve dimerizasyonunu kolaylaştıran korunmuş bir NAC alanı içerir. NAC proteinlerinin yapısal modelleri, aktivasyonları sırasında meydana gelen konformasyonel değişikliklere ve bu değişikliklerin gelişim ve stres yanıtlarındaki düzenleyici rollerini nasıl etkilediğine dair öngörüler sağlayabilir. bHLH transkripsiyon faktörleri, dimerizasyon ve DNA bağlanması için çok önemli olan korunmuş bir helix-loop-helix motifi ile karakterize edilir. bHLH proteinlerinin yapısal çalışmaları, DNA ve diğer düzenleyici proteinlerle etkileşimlerinin moleküler temelini aydınlatılabilir ve gelişim ve stres tepkilerindeki rollerine ilişkin öngörüler sağlayabilir (Chang vd., 2021).

Transkripsiyon faktörlerinin ekzon ve intron organizasyonları Gene Structure Display Server (GSDS) kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 3.3). Bu analiz, gen yapılarının ayrıntılı bir görünümünü sağlayarak ekzonların ve intronların varlığını ve düzenini ortaya çıkarmıştır. Transkripsiyon faktörlerinin gen yapısının anlaşılması, düzenleyici mekanizmalarının deşifre edilmesi için hayati önem taşımaktadır. Çoklu ekzon ve intronların varlığı, gen ifadesini ve alternatif ekleme yoluyla farklı protein izoformlarının üretimini etkileyebilir. Ayrıntılı ekzon-intron organizasyonu, gen ifadesini kontrol eden düzenleyici unsurların belirlenmesine yardımcı olur. Ayrıca, farklı transkripsiyon faktörleri arasında gen yapısındaki farklılıklar, evrimsel adaptasyonlarını ve işlevsel çeşitliliklerini gösterir. Özellikle, buğdaydaki LEA ailesindekiler gibi strese yanıt veren genler, stres koşulları altında daha hızlı ve daha verimli transkripsiyonu kolaylaştırabilecek daha az intronlara sahip olma eğilimindedir (Zhu vd., 2016). Bu gözlem, strese yanıt veren genlerin, transkript

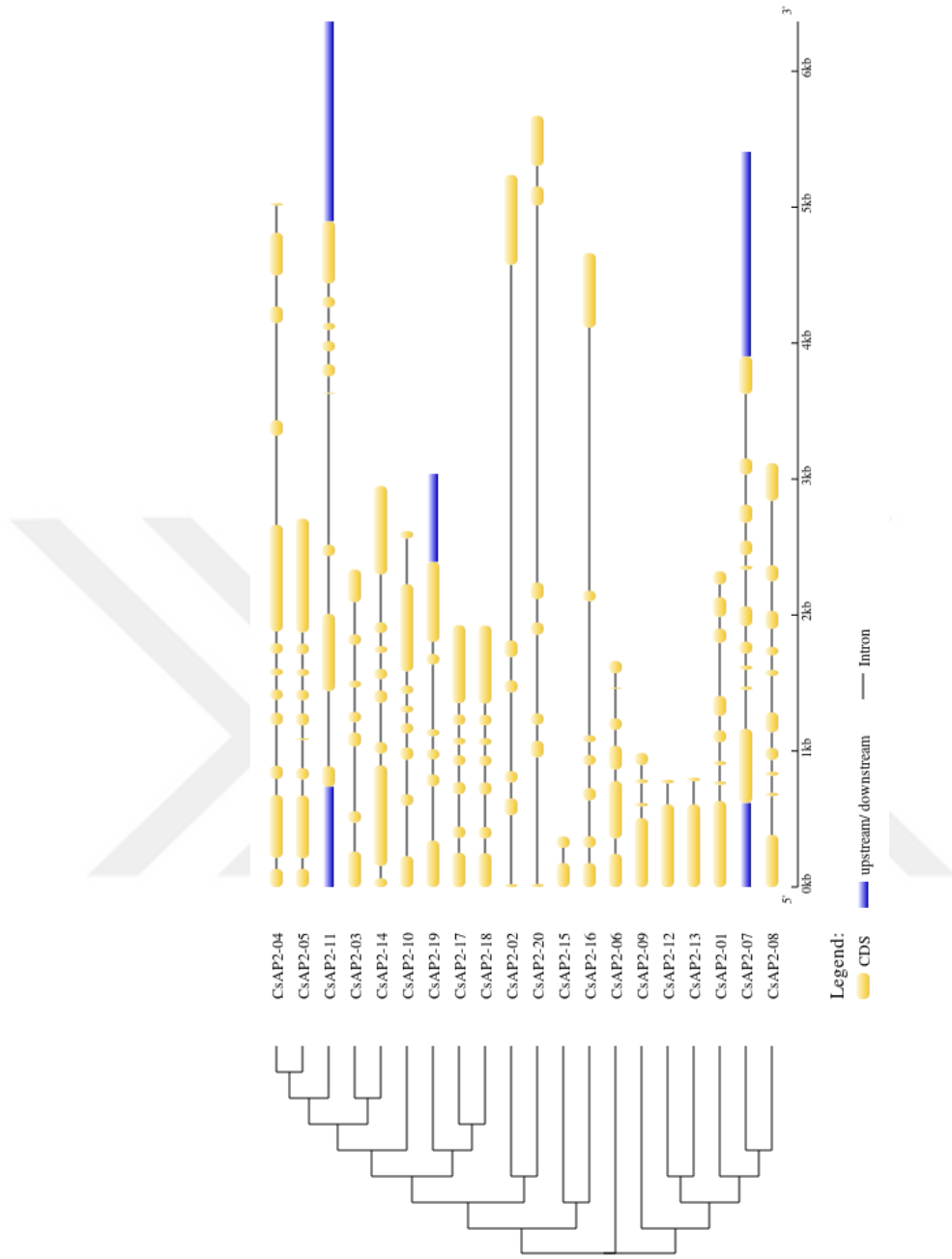
üretimindeki gecikmeyi azaltmak ve stres yanıtının verimliliğini artırmak için genellikle daha az intron içerdiği diğer bitki türlerindeki bulgularla uyumludur. Daha az intronun varlığı, stres koşulları sırasında gen ifadesinin hızını ve verimliliğini artırabilir, böylece çevresel uyaranlara hızlı bir yanıt mekanizması sağlayabilir.

Daha az intron içeren transkripsiyon faktörlerinin kuraklık stresine daha hızlı yanıt verdiğini göstererek intron sayısı ile yanıt hızı arasında doğrudan bir bağlantı olduğunu öne sürmüştür (Zhang vd., 2016). Ek olarak, çoklu ekzonlara sahip transkripsiyon faktörlerinin alternatif splicinginin, farklı düzenleyici işlevlere sahip izoformların üretimine yol açtığını ve bitkinin değişen stres koşullarına uyum sağlama yeteneğini artırdığını bulmuştur (Yan vd., 2016).

Gelecekteki çalışmalar, stres koşulları altında ifade profillerini optimize etmek için anahtar transkripsiyon faktörlerinin intron-ekzon yapılarını değiştirmek için gen düzenleme teknolojilerini kullanma potansiyelini araştırabilir. Bu yaklaşım, transkripsiyon verimliliğini ve işlevsel çok yönlülüğü en üst düzeye çıkarmak için gen yapısını uyarlayarak çevresel streslere karşı daha dirençli bitki çeşitleri oluşturmak için kullanılabilir. Ayrıca, transkripsiyon faktörlerinin ekleme varyantlarını ve farklı stres tepkilerindeki rollerini belirlemek için büyük ölçekli transkriptom analizleri yapılabilir ve bu genlerin düzenleyici karmaşıklığı hakkında daha derin bilgiler sağlanabilir (Hogeweg, 2011).

Gen yapısı analizi, düzenleyici rollerine katkıda bulunan benzersiz ekzon-intron düzenlemelerini vurgulayarak diğer transkripsiyon faktörü ailelerine genişletilebilir. MYB transkripsiyon faktörleri genellikle az sayıda intron içeren nispeten basit bir gen yapısı sergiler ve çevresel değişikliklere hızlı transkripsiyonel yanıtları kolaylaştırır. Gen yapısı analizi, düzenleyici rollerine katkıda bulunan benzersiz ekzon-intron düzenlemelerini vurgulayarak diğer transkripsiyon faktörü ailelerine genişletilebilir.

Transkripsiyon faktörleri arasındaki potansiyel protein-protein etkileşimleri STRING çevrimiçi aracı kullanılarak tahmin edilmiştir (Şekil 3.4). Bu analiz olası etkileşim ortaklarını ve ağ yapılarını belirlemiştir. Protein-protein etkileşim ağları, transkripsiyon faktörleri arasındaki işlevsel etkileşimi anlamak için temeldir.



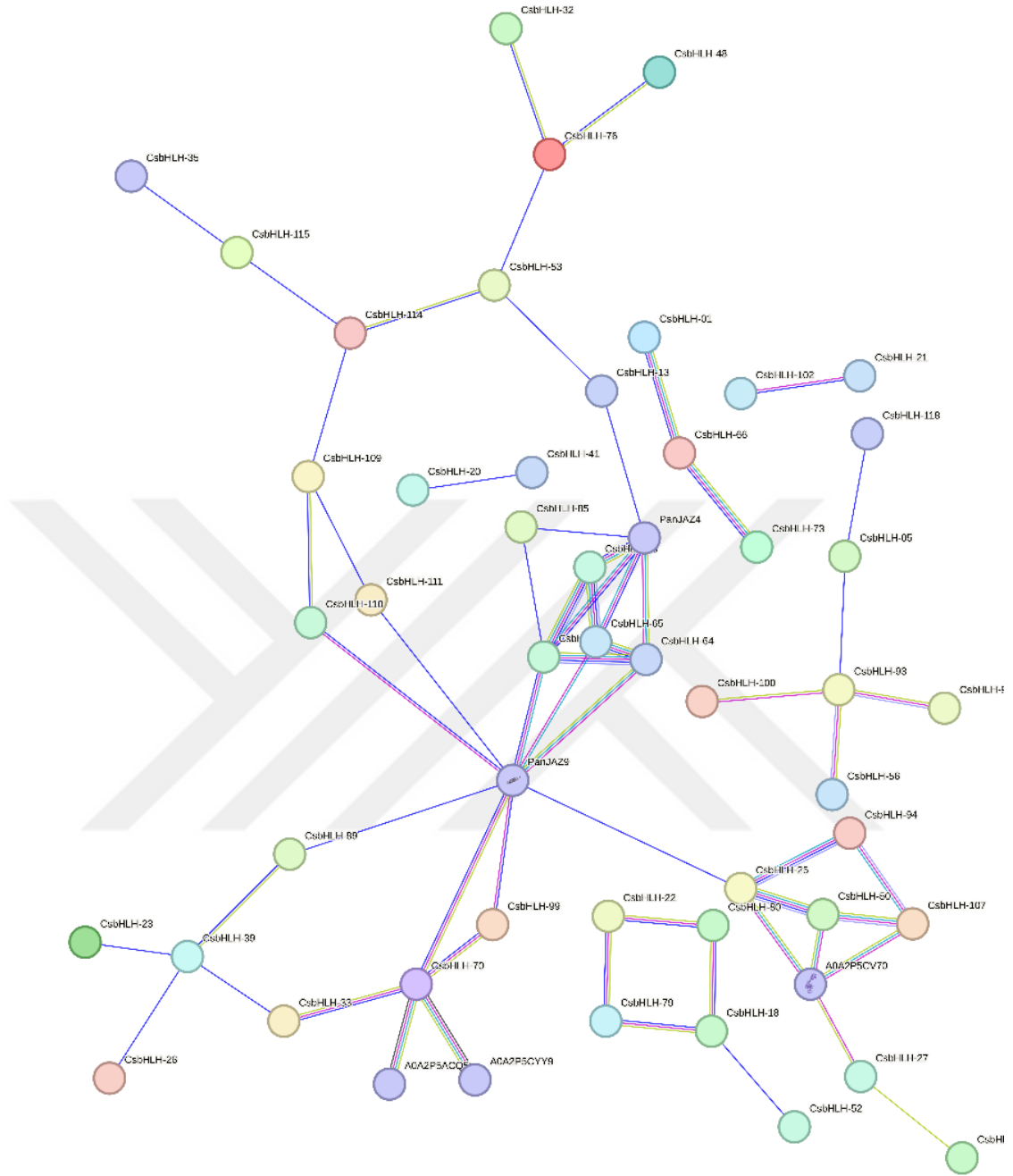
**Şekil 3. 3** Kenevir genomunda kodlanan AP2 genlerinin ekzon intron organizasyonları

Bu etkileşimler genellikle gen ifadesini kontrol eden düzenleyici komplekslerin oluşumunu belirler. Tahmin edilen etkileşim ağları, transkripsiyon faktörlerinin çeşitli biyolojik süreçleri düzenlemek için nasıl işbirliği yaptığını keşfetmek için bir çerçeve sağlar. Bu bilgiler, bu etkileşimleri doğrulamak ve *Cannabis sativa*'daki karmaşık düzenleyici ağları anlamak için deneyler tasarlamak için çok değerlidir. Buğday LEA proteinleri için de benzer etkileşim ağları tanımlanmış ve stres koşulları altında çeşitli hücresel kompartımanlarda her yerde bulunan varlıkları ve temel işlevleri

vurgulanmıştır (Dai vd., 2022). Bu etkileşim ağları, bitkilerin çevresel uyaranlara karşı entegre tepkisini ve transkripsiyonel tepkilerin koordinasyonunu anlamak için kritik öneme sahiptir. Bu ağları haritalandırarak, stres adaptasyonu ve gelişim süreçleri için gerekli olan kilit düzenleyici düğümleri ve yolları belirlenebilir. Belirli transkripsiyon faktörlerinin, belirli stres sinyallerine yanıt olarak değişen ve bitkinin adaptif tepkilerini artıran dinamik etkileşim ağları oluşturduğunu göstermiştir (Shang vd., 2016). Bu ağlar içindeki kilit etkileşimlerin bozulmasının stres toleransını önemli ölçüde bozabileceğini bulmuş ve bu protein-protein etkileşimlerinin bitki sağlığını korumadaki önemini altını çizmiştir (Premnath vd., 2016).

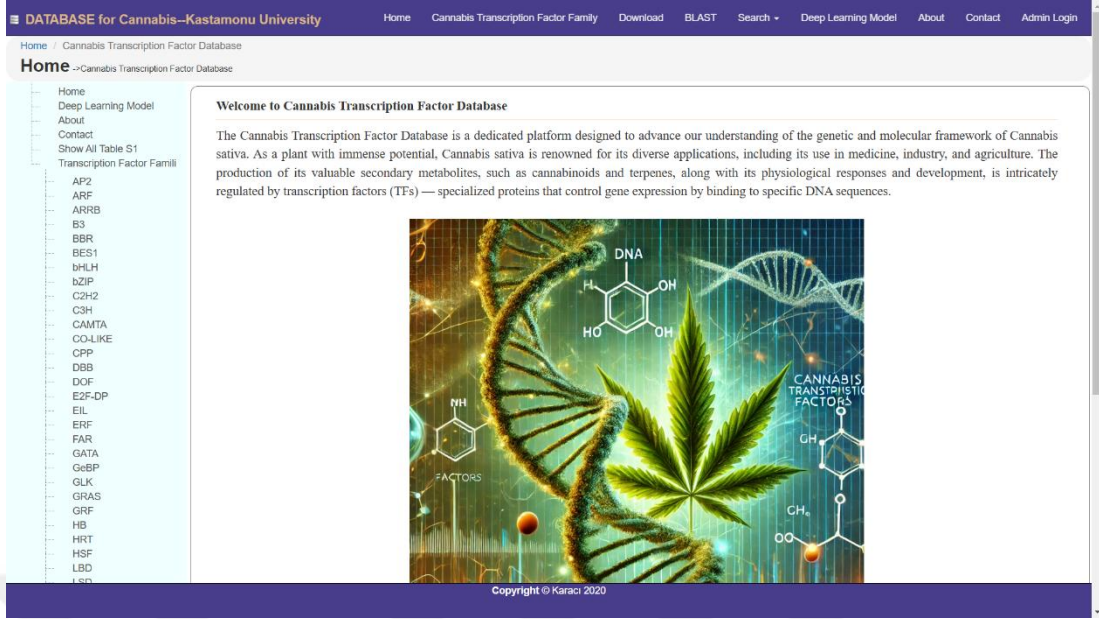
*C. sativa* transkripsiyon faktörü (TF) proteinlerinin dizi, yapısal, düzenleyici eleman (CRE) ve etkileşim analizlerini bütünleştiren yaklaşım, söz konusu protein ailesine ilişkin kapsamlı bir anlayış sağlamıştır. Korunmuş motifler ve yapısal paternler, temel işlevlerin evrimsel olarak istikrarlı kaldığını göstermiştir. CRE analizi ve protein-protein etkileşim ağları, TF'lerin çeşitli biyolojik süreçlerdeki dinamik düzenleyici rollerini açıkça ortaya koymuştur. Bu durum, gen düzenleyici ağların anlaşılması, ürün iyileştirme stratejilerinin desteklenmesi ve sürdürülebilir tarım uygulamalarının güçlendirilmesi açısından önemli bir değer taşımıştır. Örneğin stresle ilişkili TF'lerin veya kritik CRE'lerin belirlenmesi, ıslah ve biyoteknolojik müdahaleler için somut hedefler sunmuştur. Bu yaklaşımın önemi, TF'lerin genetik manipülasyonu ile bitki dayanıklılığının artabildiğine işaret eden çeşitli çalışmalarla da uyumludur (Chen vd., 2023; Rodriguez vd., 2022).

Cannabis Transkripsiyon Faktörü Veritabanı (CannaTFDB, <https://cannabistfdb.org.tr/>) *Cannabis sativa*'nın genetik ve moleküler çerçevesine ilişkin anlayışımızı geliştirmek için tasarlanmış özel bir platformdur. Çalışmada, biyoinformatik analizler aracılığıyla kenevirde (*Cannabis sativa*) elde edilen tüm verilerin (transkripsiyon faktörü protein kimlikleri, kromozom konumları, genom veritabanı kimlikleri, protein uzunlukları, tahmini izoelektrik noktaları, moleküler ağırlıkları, kararlılık durumları, NCBI kimlikleri, ekzon-intron yapısı, domain özellikleri, protein dizileri, PDF dosyaları, tahmini üç boyutlu modelleri, motif bilgileri vb.) yüklenmesi, yönetici paneli üzerinden gerçekleştirilmiştir. Web sitesinin ana sayfası Şekil 3.5'de gösterilmekte olup, TF aileleri ayrı başlıklar altında sunulmaktadır.



**Şekil 3.4** bHLH transkripsiyon faktörü ailesi ait proteinlerin protein-protein etkileşim ağları

Her bir bitki ya da çeşit için benzer içerikte ayrı bir Tablo S1 dosyası da yer almaktadır. Söz konusu tabloda “CannaTFDB ID” numarasının üzerine tıklandığında, ilgili proteine ait tahmini üç boyutlu yapı öngörüsü, domain özellikleri, genin ekzon-intron dağılımı, lokus ve gen model tanımlayıcıları ile peptit, CDS ve gen dizileri yeni bir sekmede gösterilmektedir (Şekil 3.7).



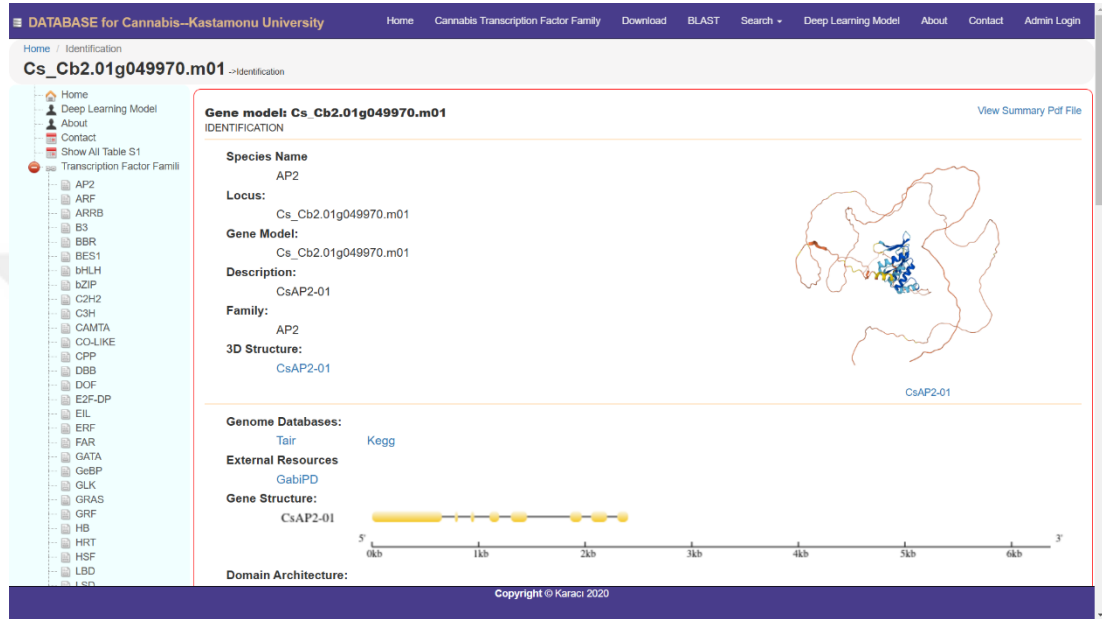
Şekil 3.5 CannaTFDB websitesi ana sayfa görüntüsü

Order	Category Name	TF Family	CannaTFDB Id	Genom DB id	Chromosome	Start Position	End Position	Protein Length	pI	Molecular Weight	Instability Index
1	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-01	Cs_Cb2.01g049970.m01	1	1.627058E+07	1.62729E+07	422	8.41	46510.79	46.66
2	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-02	Cs_Cb2.01g073520.m01	1	6.404473E+07	6.404996E+07	364	5.09	40481.85	55.28
3	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-03	Cs_Cb2.01g081890.m01	1	7.397736E+07	7.39797E+07	266	9.94	29642.06	50.75
4	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-04	Cs_Cb2.02g213660.m01	2	5.452639E+07	5.453142E+07	773	6.45	84008.36	50.64
5	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-05	Cs_Cb2.02g213810.m01	2	5.819306E+07	5.819577E+07	603	6.05	65965.77	43.89
6	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-06	Cs_Cb2.02g218730.m01	2	7.331421E+07	7.331586E+07	340	6.07	36615.41	42
7	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-07	Cs_Cb2.02g229950.m01	2	9.904962E+07	9.905503E+07	498	9	54583.28	54.29
8	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-08	Cs_Cb2.02g230150.m01	2	9.943051E+07	9.943363E+07	434	9.19	47822.44	56.05
9	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-09	Cs_Cb2.03g110560.m01	3	4.414576E+07	4.414675E+07	217	6.06	24111.2	63.4
10	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-10	Cs_Cb2.03g120950.m01	3	8.04183E+07	8.042081E+07	426	8.83	47014.55	48.94
11	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-11	Cs_Cb2.04g149630.m01	4	7.953514E+07	7.95415E+07	519	6.2	57200.79	44.11
12	Transcription Factor Families	AP2	CsAP2-12	Cs_Cb2.04g162630.m01	4	8.573666E+07	8.573745E+07	211	4.96	23311.7	72.06
13	Transcription Factor	AP2	CsAP2-13	Cs_Cb2.04g152880.m01	4	8.592724E+07	8.592805E+07	211	4.96	23311.7	72.06

Şekil 3.6 CannaTFDB All Table S1 sayfa görüntüsü

Ayrıca her bitkinin TF'lerine ilişkin detaylı gen yapısı, motif dağılımları ve kromozomal yerleşimleri yine bu sekmede yer alır (Şekil 4.5). Proteine ait tüm bilgiler PDF formatında indirebilecek şekilde sunulmaktadır. Web sitesinde, belirli bir TF ailesine (örneğin bHLH, NAC vb.) ait peptit, CDS ve gen dizilerine topluca erişim de sağlanabilmektedir. “Blast” sekmesine tıklandığında NCBI Blast veritabanına yönlendirme yapılmakta (Şekil 3.5), “deep learning model” sekmesi üzerinden ise eğitilen hibrit derin öğrenme modelinin çalıştığı sunucuya erişilebilmektedir (Şekil

3.6). Böylece hangi TF ailesine ait olduğu bilinmeyen, kenevire ait bir protein dizisinin sisteme yüklenmesiyle, ilgili dizinin hangi gruba dahil olabileceğine yönelik bir tahmin yürütülmektedir. “Search” seçeneğine basıldığında ise bitki sınıflandırması, tür adı ve TF numarası gibi üç farklı kategoride (category name, species name, ID) arama yapılması mümkündür (Şekil 3.5).



Şekil 3.7 CannaTFDB'de yer alan TF ailesi üyelerine ait sayfa görüntüsü

Hibrit derin öğrenme modeli, Tablo 2.2’de ayrıntılandırılan katman yapısıyla, hem orijinal hem de veri artırma (oversampling) yöntemiyle dengelenmiş veri setleri üzerinde eğitilmiştir. Orijinal veri setiyle yapılan ilk analizlerde modelin eğitim doğruluğunun %97,93, doğrulama doğruluğunun %97,47 olduğu gözlemlenmiştir. Ancak test aşamasında yüksek doğruluk değerine rağmen f1-skoru gibi metriklerde görece düşük değerler elde edilmesi, bazı sınıfların yeterince temsil edilemediğini göstermiştir. ROC eğrileri incelendiğinde, bazı sınıfların rastgele tahminden dahi düşük performans sergilediği görülmüş, bu durum veri setindeki sınıf dengesizliği ile ilişkilendirilmiştir. Bu soruna çözüm olarak veri seti Rastgele Aşırı Örnekleme ile dengelenmiştir. Dengelenmiş veri setiyle eğitilen modelde eğitim doğruluğunun %97,93, doğrulama doğruluğunun %97,47 olarak korunması, veri artırma stratejisinin modelin temel performansını olumsuz etkilemediğini göstermiştir. Test aşamasında ise doğruluk, kesinlik, duyarlılık ve f1-skorda neredeyse mükemmel yakın sonuçlar elde edilmiştir. ROC eğrisi incelendiğinde tüm sınıfların eğrilerinin 1 değerine son derece

yakın olduğu, dolayısıyla modelin sınıflar arasındaki ayırım gücünün son derece yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca modelin başarısının belirli veri alt kümeleriyle sınırlı olmadığını kanıtlamak için uygulanan 10-kat çapraz doğrulama sonucunda elde edilen %97,28'lik doğruluk değeri (Xiong vd., 2020), modelin genelleme kapasitesinin de yüksek olduğunu desteklemiştir. Veri artırma yaklaşımının bu denli başarılı olması, literatürde sınıf dengesizliği problemlerine karşı yaygın olarak önerilen veri artırma stratejileriyle de örtüşmektedir (Buda vd., 2018).

Literatürde benzer TF sınıflandırma problemlerine odaklanan çalışmalarla karşılaştırıldığında, bu hibrit modelin yüksek doğruluk ve f1-skor değerlerine ulaşması dikkat çekicidir. Tablo -3.1'de Ledesma-Dominguez vd. (2024), Zhang vd. (2024), John vd. (2024) gibi çalışmalarla kıyaslandığında bu modelin hem doğruluk hem de f1-skorunda üstün olduğu görülmüştür. Bu üstünlük, Word2Vec tabanlı gömme katmanının amino asit dizileri arasındaki anlamsal ilişkileri yakalayabilmesi, CNN'in olgunlaşmış özellik çıkarma yeteneği, çift yönlü GRU'nun sıralı verideki bağlamsal bilgiyi çift yönlü kavrayışı ve Dikkat (Attention) mekanizmasının kritik motiflere odaklanması sayesinde elde edilmiştir (Ba vd., 2016; Fan vd., 2021; Gao ve Glowacka, 2016; Hochreiter ve Schmidhuber, 1997; Krizhevsky vd., 2017; Livak ve Schmittgen, 2001; Mikolov vd., 2013; Pramod vd., 2021; Srivastava vd., 2014; Yang vd., 2023) Özellikle TF belirleme ve işlevsel genomik çalışmalarında derin öğrenme yöntemlerinin artan önemi göz önüne alındığında (Jin vd., 2017; Kersey, 2019), bu modelin elde ettiği başarı, bitki genomikleri ve tarım biyoteknolojisi alanlarında yeni olanaklar sağlamıştır.

Sadece protein dizilerine dayanarak yüksek performans sergileyen bu yaklaşım, büyük veri tabanları veya kapsamlı anotasyonlara gereksinim duymadan da başarılı bir TF sınıflandırması yapılabildiğini kanıtlamıştır. Bu durum, *C. sativa* gibi ürün potansiyeli yüksek ancak henüz tam anlamıyla keşfedilmemiş genomik kaynaklara sahip bitkiler için son derece önemlidir. İlgili literatürde TF veritabanlarına duyulan gereksinimin artması, bu yaklaşımın başka türlere de uygulanabilme olasılığını güçlendirmiştir. Örneğin Jin vd. (2017) PlantTFDB 4.0 ile bitki TF ve etkileşimlerini merkezi bir hub'da toplamış, araştırmacıların TF verilerine kolay erişim sağlamıştır. Bu çalışma da benzer şekilde TF verilerinin düzenlenmesi ve sınıflandırılmasına ilişkin bir örnek sunmuştur.

Derin öğrenmenin bitki genomik verilerdeki önemi, Kaul vd. (2021) ve Libbrecht ve Noble (2015) tarafından da vurgulanmıştır. Bu çalışmalar, derin öğrenme ve makine öğrenimi yöntemlerinin gen ve TF etkileşimlerinin anlaşılmasında, fenotipik sonuçlarla gen regülasyonunun ilişkisini ortaya koymada etkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, TF'lerin bağlanma bölgelerini derin öğrenme tabanlı modellerle tahmin etmek, non-coding varyantların gen ifadesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek mümkün olmuştur (Zhou ve Troyanskaya, 2015). Bu tarz yaklaşımlar, modelin genelleme yeteneğini ve başka türlere, farklı koşullara veya yeni TF ailelerine uyarlama potansiyelini göstermiştir.

**Tablo 3.2** Önerilen modelin diğer benzer çalışmalarla karşılaştırılması.

Author	Method	Dataset	Accuracy (%)	F1-Score (%)
Ledesma-Dominguez vd. (Ledesma-Dominguez vd., 2024)	DeepTFactor (8:1:1)	Eukaryotic and prokaryotic genomes from SwissProt	97,73	95,41
Zhang vd. (G. Zhang vd., 2024)	MulCNN	HSP	98,14	94,61
John vd. (John vd., 2024)	CNN-BLSTM	KinBase (eukaryotic kinome)	94	92
Proposed Model	Hybrid (Word2Vec-CNN-BiGRU-Attention-BiGRU)	<i>Cannabis sativa</i> TF Protein Dataset	97,80	97,74

Bu çalışma, veri kısıtı, sınıf dengesizliği ve ek anotasyon eksikliği gibi zorlukların üstesinden gelinmesi için kullanılan stratejilerin ne denli etkili olduğunu göstermiştir. Veri artırma, Word2Vec temelli gömme, CNN, BiGRU, Dikkat mekanizması ve gelişmiş optimizasyon yöntemlerinin entegrasyonu, TF sınıflandırmasında yüksek

doğruluk, genelleme kabiliyeti ve her bir sınıfa karşı adil temsil sağlamıştır. Bu sonuçlar, *C. sativa* için TF sınıflandırmasında önemli bir kilometre taşı oluşturmuş, ayrıca TF temelli çalışmaların bitki ıslahı, metabolit üretim optimizasyonu ve stres dayanıklılığının artırılması gibi alanlarda uygulanabilirliğini desteklemiştir. Özellikle *Cannabis sativa* gibi hem tıbbi hem de endüstriyel öneme sahip bir bitkinin TF'lerinin anlaşılması, ileride daha verimli, dayanıklı ve ticari değeri yüksek varyetelerin geliştirilmesi için değerli bir temel sağlamıştır. Bu durum, sürdürülebilir tarımsal uygulamalar, farmasötik gelişmeler ve hassas genomik düzenleme yaklaşımlarının kapısını aralamıştır.

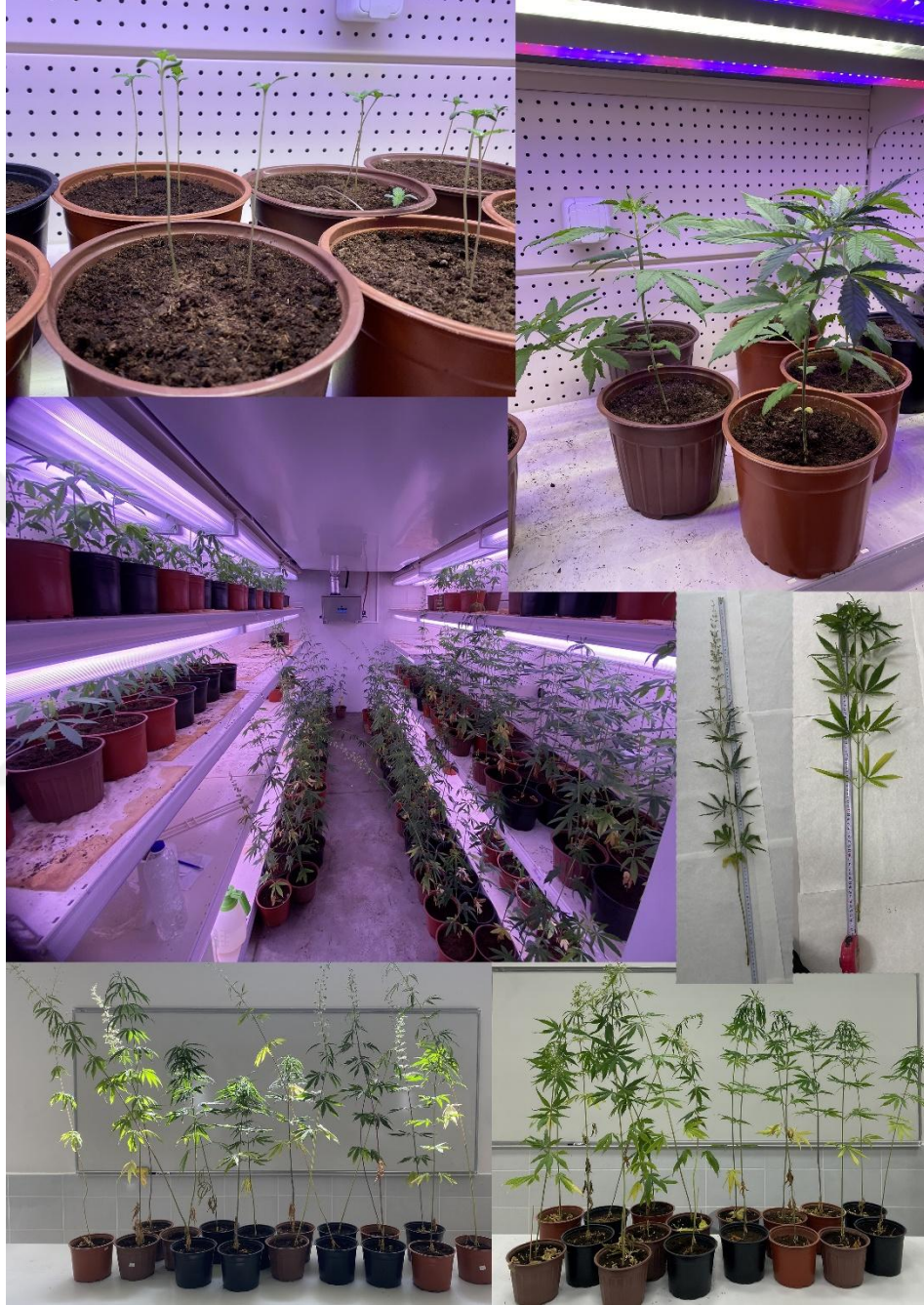
### 3.2 Bitkilerin Yetiştirilmesi, Uygulamalar

Bu çalışmada, Narlı ve Vezir yerli kenevir çeşitlerinde brassinosteroid (BR) uygulamalarının morfolojik etkileri incelenmiştir. Araştırma, farklı gelişimsel dönemlerde uygulanan BR ve brassinazole (BRZ) hormonlarının bitkilerdeki büyüme ve sap özellikleri üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir.

Narlı ve Vezir çeşitlerine ait *Cannabis sativa* tohumları, 26 Haziran 2024 tarihinde ıslatılmış, 27-28 Haziran 2024 tarihlerinde viollere ekilmiş ve 29 Haziran 2024'te toprak yüzeyinde çıkış göstermeye başlamıştır. Bitkiler yaklaşık 10 cm boyutlarına ulaştığında viollerden saksılara transfer edilmiştir. Deney süresince bitkiler, 18 saat uzun gün ve 12 saat kısa gün ışık rejiminde yetiştirilmiştir. Floresan lambalarla sağlanan  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ışık yoğunluğunda,  $24^{\circ}\text{C}$  gündüz ve  $20^{\circ}\text{C}$  gece sıcaklık koşulları korunmuştur (Şekil 3.8). Bu standart yetiştirme koşulları, literatürde benzer çalışmalarda kullanılan yöntemlerle paralellik göstermektedir (Caplan vd., 2023; Todd vd., 2022).

Kontrol grubu dışında, BR uygulanan ve BR sentezini engelleyen BRZ grupları oluşturulmuştur. BR ve BRZ uygulamaları, 15. günden başlayarak iki haftada bir, toplam sekiz hafta boyunca gerçekleştirilmiştir. Bitkilerin BBCH skalasına göre 32. ve 35. büyüme evrelerinde örnekleme yapılmıştır. Bu dönemler, yaklaşık 10. ve 14. haftalara denk gelmiştir. Işık stresine bağlı olarak bitkilerde erken çiçeklenme

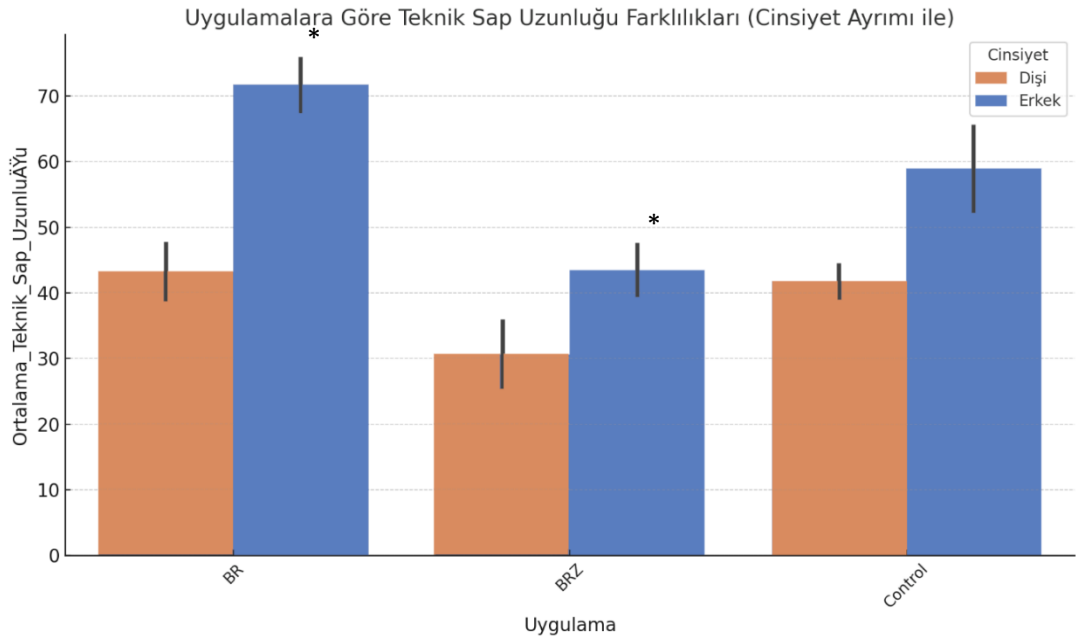
belirtileri gözlemlenmiş ve bu durum özellikle çiçeklenme başlangıç zamanını etkilemiştir.



Şekil 3.8 Sürecin farklı noktalarında kenevir bitkileri

Mevcut çalışma, “Narlı” ve “Vezir” kenevir (*Cannabis sativa* L.) çeşitlerinde farklı gelişimsel dönemler ve cinsiyetler (dişi, erkek) ile brassinolide (BR), brassinolide inhibitörü (BRZ) ve kontrol uygulamalarının, bitki morfolojik özellikleri (bitki boyu, teknik sap uzunluğu, sap kalınlığı) üzerindeki etkilerini istatistiksel olarak

karşılaştırmaktadır. Genel olarak incelendiğinde, uygulamaların ve genotipik farklılıkların yanı sıra cinsiyet ve gelişimsel dönemler, ölçülen tüm parametrelerde varyasyonun önemli kaynaklarını oluşturmuştur. Elde edilen sonuçlar, hem “Narlı” hem de “Vezir” çeşitlerinde erkek bireylerin, dişilere kıyasla genellikle daha yüksek bitki boyu ve teknik sap uzunluğuna ulaştığını ortaya koymaktadır. Özellikle BR uygulamaları, kontrol gruplarına ve BRZ uygulamalarına kıyasla hem birinci hem de ikinci gelişimsel dönemlerde daha yüksek ortalama bitki boyu ve teknik sap uzunluğu sağlamıştır. Örneğin, Narlı çeşidinde birinci gelişimsel dönemde erkek bitkilerde BR uygulaması ortalama 116,97 cm ( $\pm 25,09$ ) bitki boyu ve 68,85 cm ( $\pm 16,89$ ) teknik sap uzunluğu ile görece üstünlük göstermiştir. İkinci gelişimsel dönemde de BR uygulaması erkek bitkilerde ortalama 120,40 cm ( $\pm 19,56$ ) bitki boyu ve 67,03 cm ( $\pm 12,24$ ) teknik sap uzunluğu sağlamıştır. Vezir çeşidinde benzer bir eğilim gözlenmiş, özellikle erkek bitkilerde BR uygulaması birinci gelişimsel dönemde 130,00 cm ( $\pm 21,21$ ) bitki boyu ve 73,67 cm ( $\pm 9,95$ ) teknik sap uzunluğu gibi yüksek değerler sunmuştur. Buna karşılık BRZ uygulamaları, her iki çeşitte de genel olarak daha düşük bitki boyu ve teknik sap uzunluğu değerlerine neden olmuş, kontrol grupları ise orta seviyede sonuçlar vermiştir (Şekil 3.9).

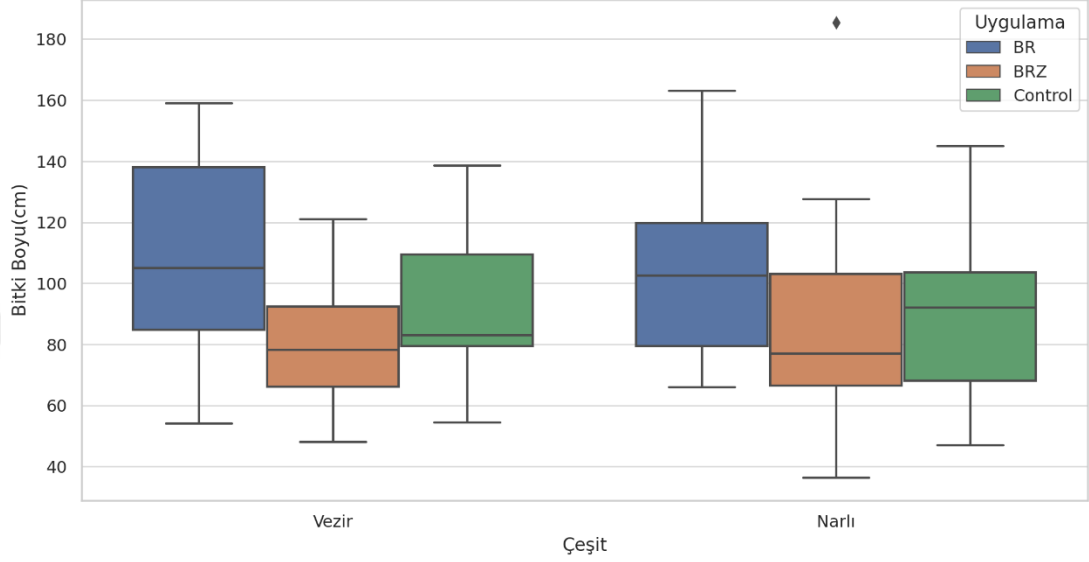


**Şekil 3.9** Uygulamaların teknik sap uzunluğu üzerindeki etkileri

Şekil 3.10, “Vezir” ve “Narlı” olmak üzere iki kenevir çeşidinin bitki boyu (cm) değerlerini üç farklı uygulama (BR, BRZ ve Kontrol) altında karşılaştırmaktadır. Kutu diyagramları her bir uygulama için gözlemlenen bitki boylarının dağılımını özetler; kutular çeyrekler arası aralığı (IQR) ve medyan değerini, antenler (whiskers) ise gözlemlerin en düşük-yüksek aralıklarını gösterir. Kutunun dışında yer alan nokta veya elmas simgesi (◆) olası aykırı veya uç değerlerdir. Öncelikle, BR uygulaması (mavi), her iki çeşitte de ortalama ve medyan bitki boylarını genellikle en yüksek seviyelere taşımıştır. Özellikle “Vezir” çeşidinde BR uygulaması sonrası gözlemlenen değerler 100 cm’in üzerine çıkarak 140-150 cm bandına kadar uzanmaktadır. Bu dağılım, literatürde de belirtildiği gibi brassinosteroidlerin gövde uzaması üzerinde olumlu etkileri olabileceğine işaret etmektedir. BRZ uygulaması (turuncu) ise her iki çeşitte de bitki boyunu düşürme eğilimindedir. Özellikle “Vezir”de BRZ grubu kutusu 70-100 cm bandında yoğunlaşırken, en düşük aykırı değer 50 cm düzeyindedir. “Narlı”da benzer şekilde BRZ uygulamasının ortalama değeri 70-90 cm civarındadır. Bu bulgu, brassinosteroid sentezini engelleyen BRZ’nin büyümeyi kısıtlayan etkisini göstermektedir. Kontrol grubu (yeşil), genellikle BRZ’den daha yüksek, ancak BR’den daha düşük bir profil sergilemektedir. “Vezir” için kontrol örnekleri 80-110 cm aralığına yayılırken, “Narlı”da kontrol bitki boyları 80-100 cm civarındadır. Böylece kontrol, hormon müdahalesi yapılmadan gözlemlenen “doğal” büyüme yüksekliğini temsil etmektedir. Sonuç olarak bu kutu grafiği, BR uygulamasının gövde uzamasını artırdığını, BRZ uygulamasının ise boy kısalmasına yol açtığını net biçimde göstermektedir. Her iki çeşitte de BR grubu en yüksek değerlere ulaşırken, BRZ grubu en düşük ortalamayı oluşturmuş, kontrol ise orta düzeyde kalmıştır.

Şekil 3.11, birinci ve ikinci gelişimsel dönemlerde iki farklı kenevir çeşidinin (Vezir = mavi, Narlı = turuncu) bitki boyu (cm) dağılımlarını göstermektedir. Birinci gelişimsel dönemde her iki çeşidin boy dağılımlarına bakıldığında, Vezir’in (mavi) medyanının 90-100 cm civarında olduğu; alt sınır değerinin yaklaşık 60 cm’ye kadar indiği, ancak zaman zaman 120 cm üzerinde ve 160 cm civarında aykırı değerler gözlemlendiği görülmektedir. Narlı (turuncu) çeşidi ise birinci dönemde 80-100 cm bandında yoğunlaşırken, 40 cm düzeyinde bir alt aykırı değere rastlanmaktadır. Bu sonuçlar, ilk gelişimsel dönemdeki boy varyasyonunun her iki çeşitte de geniş bir aralıkta seyrettiğini gösterir; ancak Vezir çeşidinin üst sınırdaki Narlı’ya göre biraz daha

uzun değerlere ulaştığı söylenebilir. İkinci gelişimsel dönemde, Vezir'in dağılımında ortalama ve medyanın 90-100 cm bandında yoğunlaştığı ve alt aykırı değerinin 60 cm altına indiği dikkat çekmektedir. Narlı, bu dönemde 80-90 cm civarındaki medyanyla Vezir'den biraz daha kısa görünmektedir.

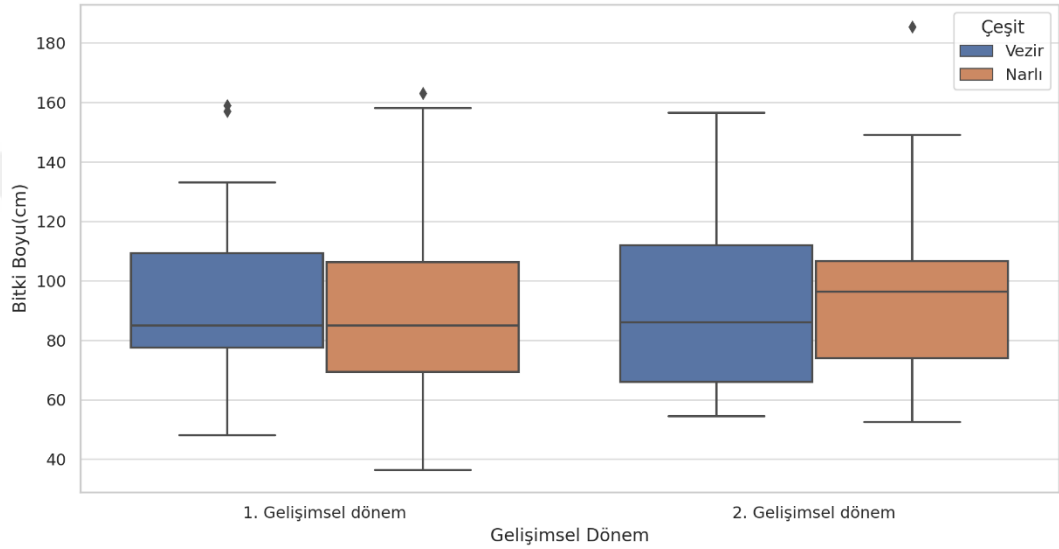


**Şekil 3.10** Bitki boyunun kenevir çeşitleri ve uygulamalara göre değişimleri

Ayrıca Narlı'da 120-130 cm aralığında üst değerler, Vezir'de de 140 cm'ye yakın üst değerler gözlemlense de bu yüksek gözlemler daha sınırlı sayıdadır. Genel olarak, ikinci gelişimsel dönemde ortalama ve medyan değerlerde büyük bir sıçrama gözlenmediği, ancak aykırı (uç) değerlerin her iki çeşitte de zaman zaman 140-160 cm seviyelerine ulaşabildiği fark edilmektedir. Bu durum, ele alındığı üzere, kenevirin çevresel faktörler ve genetik yapının etkileşimi altında oldukça değişken büyüme gösterebildiğini teyit etmektedir. Kısacası, grafik her iki çeşidin de gelişimsel dönem ilerledikçe bitki boylarında artış eğilimi yansıtırsa da, bu artışın istatistiksel olarak her zaman büyük bir fark yaratmadığını ortaya koyar. Ayrıca Vezir ve Narlı arasındaki boy ortalamaları incelendiğinde Vezir dönem dönem daha yüksek değerlere çıkabilse de, Narlı'nın da belli örneklerde Vezir'e yakın ya da daha yüksek seviyelere ulaşabildiği görülmektedir. Bu veriler, kenevirin fenotipik çeşitliliğini ve farklı gelişim evrelerinde çeşitler arasındaki yanıt farklılıklarını ortaya koymasından önemlidir.

Şekil 3.12, erkek ve dişi bitkilerde iki farklı kenevir çeşidinin (Vezir: mavi, Narlı: turuncu) bitki boyu (cm) dağılımını göstermektedir olarak daha uzun boylanabildiğini

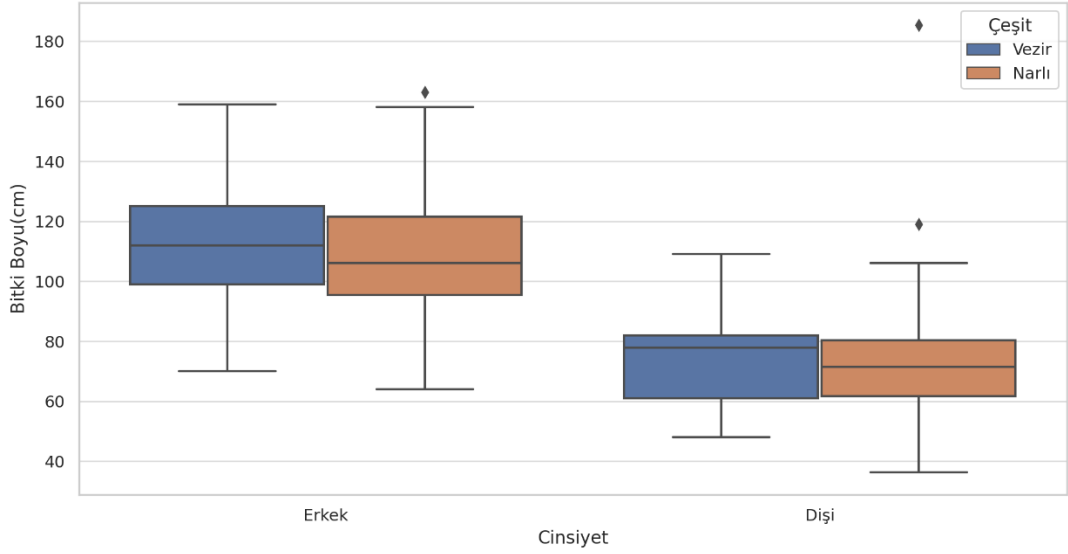
göstermektedir. Dişi bitkilerde ise medyan değerler genelde daha düşük olup (70-90 cm aralığında), alt sınırdaki (~60 cm) ve üst sınırdaki (~110-120 cm) gözlemlenen dağılım daha dar kalmaktadır. Bazı aykırı değerler (~130-180 cm) dikkat çekse de, dişi bitkilerin genel boy ortalamasının erkeklerle kıyasla daha kısıtlı bir aralıkta seyrettiği anlaşılmaktadır. Bu veriler, tez çalışmasındaki morfolojik bulgularla uyumlu olarak, erkek kenevir bitkilerinin çoğu zaman daha yüksek boylanma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca Vezir ile Narlı arasındaki fark incelendiğinde,



**Şekil 3.11** Bitki boyunun kenevir çeşitleri ve gelişimsel süreçlere göre değişimi

her iki cinsiyette de bitki boyu aralığının büyük ölçüde örtüştüğü, ancak erkek bireylerde Vezir'in üst sınırının yer yer Narlı'dan daha yüksek değerlere ulaşabildiği görülmektedir. Bu durum, kenevirin cinsiyet ve genotip bazında büyüme farklılıklarının belirgin olduğunu ve ıslah ile yetiştirme stratejilerinde bu unsurların göz önünde bulundurulması gerektiğini vurgulamaktadır.

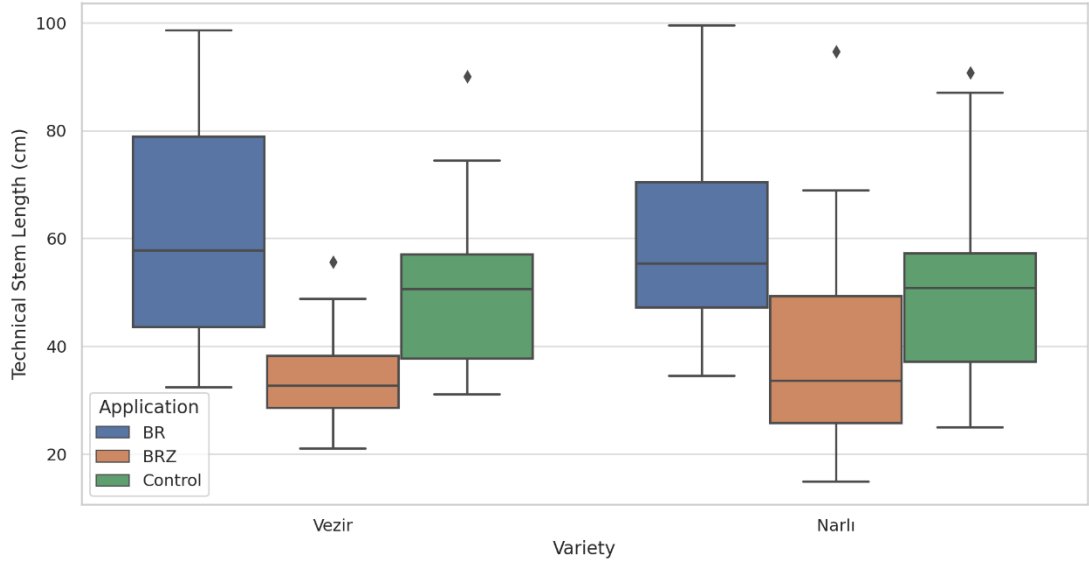
Şekil 3.13, Vezir (solda) ve Narlı (sağda) kenevir çeşitlerinde üç farklı uygulamanın (mavi: BR, turuncu: BRZ, yeşil: Kontrol) teknik sap uzunluğu (cm) üzerindeki etkisini göstermektedir. Vezir çeşidinde, BR uygulaması (mavi) teknik sap uzunluğunun ortalama ve medyanını 60-70 cm civarında konumlandırmakla birlikte, 80-90 cm'ye varan üst değerler gözlemlenmektedir. BRZ uygulaması (turuncu) ise genellikle 35-45 cm aralığında kalmış olup alt sınırdaki 20 cm düzeyine kadar inen örnekler mevcuttur. Kontrol (yeşil) grubu ise 50-60 cm bandında medyanıyla, BRZ'den daha uzun ama BR'den daha düşük bir profil sergilemektedir.



**Şekil 3.12** Bitki boyunun kenevir çeşitleri ve cinsiyetlere göre değişimi

Narlı çeşidinde de benzer bir eğilim söz konusudur. BR uygulamasında (mavi) 70-80 cm'lik medyan değeri gözlenirken, antenlerde 90 cm'yi aşan ve 100 cm'ye yakın uç değerler bulunmaktadır. BRZ grubu (turuncu) daha kısıtlı bir sap uzunluğu aralığı (yaklaşık 40-60 cm) sergilemekte, hatta 30 cm altına inen az sayıda aykırı değer gözlenmektedir. Kontrol (yeşil) ise ortalama olarak 60-70 cm bandında, BRZ'den daha uzun ama BR'den daha düşük bir dağılım göstermektedir. Bu veriler, tez kapsamında da ele alındığı gibi, brassinosteroid (BR) uygulamasının kenevir sap uzunluğunu artırdığını, BRZ inhibitörü uygulamasının ise büyümeyi sınırladığını doğrular niteliktedir. Vezir ve Narlı arasında genel bir benzerlik olsa da, üst sınır değerleri incelendiğinde Vezir'in zaman zaman daha yüksek teknik sap uzunluğuna ulaşabildiği, Narlı'nın ise ortalama değerleri benzer seyretmekle birlikte uç değerlerinin biraz farklılaştığı dikkat çekmektedir.

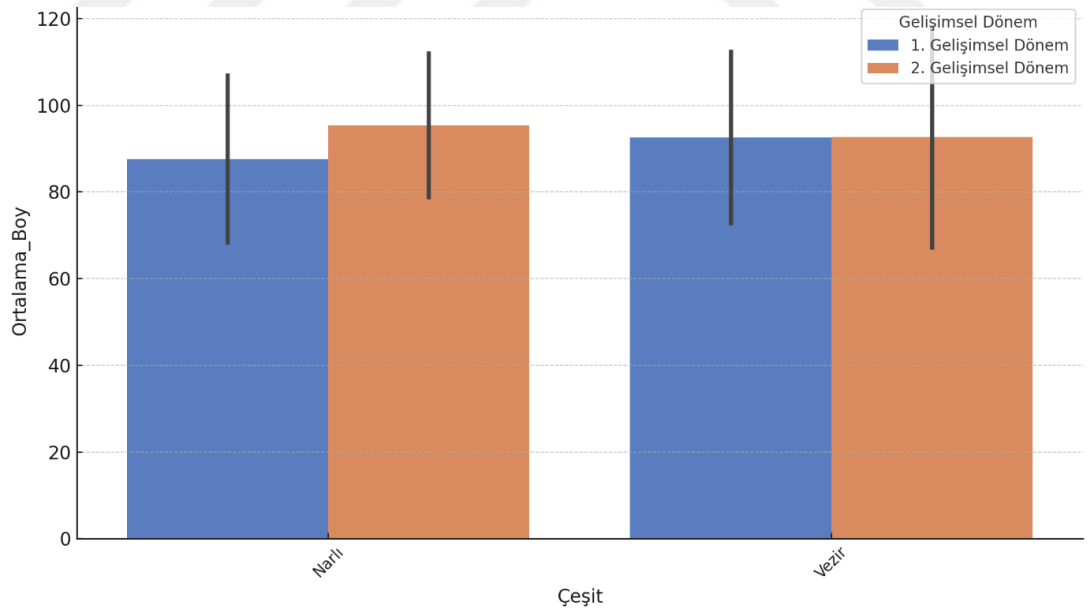
Gelişimsel dönemler arasındaki karşılaştırma, ilerleyen büyüme evrelerinde genel olarak ortalama boy ve teknik sap uzunluğunda artış eğilimi olduğunu göstermektedir ki bu durum fenolojik evre ilerledikçe bitkilerin morfolojik parametrelerinde beklenen artışları doğrulamaktadır (Şekil 3.14). Ancak cinsiyet ve çeşit bazlı farklılıklar, bu artışların mutlak değerlerinde ve BR/BRZ uygulamalarına yanıt biçimlerinde belirginleşmektedir.



**Şekil 3.13** Teknik sap uzunluğunun kenevir çeşitleri ve uygulamalara göre değişimleri

Literatürde brassinosteroidlerin bitki büyüme ve gelişiminde oynadığı kilit rol uzun süredir bilinmekte, BR'nin hem monokotil hem de dikotil bitkilerde gövde uzaması, internod uzunluğu ve genel bitki fizyolojisi üzerine olumlu katkıları rapor edilmektedir. Bu çalışma da söz konusu hormonun kenevir üzerinde benzer biçimde pozitif etkiler yarattığını ortaya koymaktadır. Dolayısıyla kenevir yetiştiriciliğinde BR uygulaması, özellikle lif ve biyokütle üretimi hedeflenen varyetelerde teknik sap uzunluğunun artırılması yönünde potansiyel bir araç olabilir. Sap kalınlığı bakımından incelendiğinde, Narlı ve Vezir çeşitlerinde genellikle BR uygulamasının hafifçe artış sağladığı, ancak bu etkinin boy ve teknik sap uzunluğu kadar belirgin olmadığı görülmektedir. Örneğin Narlı çeşidinde ikinci gelişimsel dönemde erkek bitkilerde BR uygulaması 4,55 mm ( $\pm 0,44$ ) ortalama sap kalınlığı değeri ile kontrol (4,50 mm  $\pm 0,55$ ) ve BRZ (3,94 mm  $\pm 0,61$ ) uygulamalarının üzerinde, ancak fark sınırlıdır. Vezir çeşidinde ise yine erkek bitkilerde BR uygulaması ikinci gelişimsel dönemde 5,10 mm ( $\pm 0,23$ ) gibi nispeten daha yüksek bir sap kalınlığına neden olmuştur. Bu farklılıkların genotipe, cinsiyete ve gelişimsel döneme göre değişkenlik göstermesi, kenevirin karmaşık genetik altyapısı ve çevresel faktörlere duyarlılığı ile uyumludur. Literatürde dışsal BR uygulamasının, bir dizi bitki türünde olduğu gibi, kenevirde de gövde uzaması, yapısal sağlamlık ve potansiyel lif kalitesi üzerinde olumlu etkiler oluşturabileceği öne sürülmekte, BR sinyal iletim yolunun engellenmesini sağlayan BRZ uygulamalarının ise gövde gelişimini kısıtlayarak potansiyel toplam biyokütle azaltabildiği görülmektedir. Kenevir, endüstriyel lif

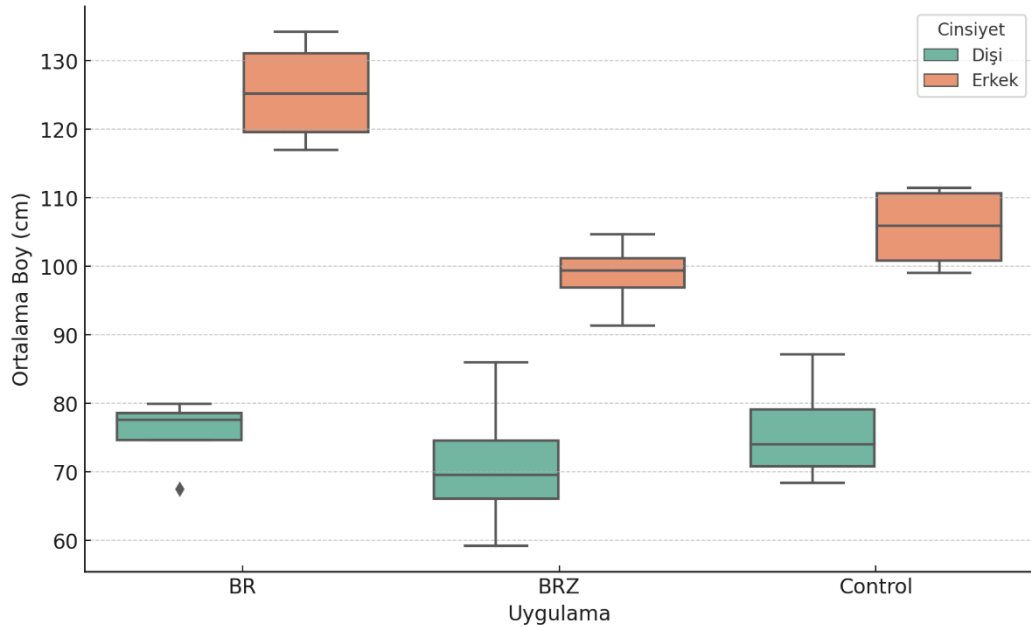
üretimi için değerlendirildiğinde sap uzunluğu ve kalınlığı gibi yapısal özelliklerin büyük önem taşıması, BR uygulaması ile elde edilen artışların lif verimi ve kalite kriterleri açısından önemli bir avantaj sağlayabileceğini düşündürmektedir. Elde edilen sonuçlar aynı zamanda cinsiyet farklılıklarını da ortaya koyarak erkek bitkilerin BR uygulamasına özellikle boy ve sap uzunluğu açısından daha yoğun yanıt verdiğini düşündürmektedir. Bu durum, erkek bitkilerin genetik ve fizyolojik olarak gövde büyümesine daha yatkın oluşuyla ilişkilendirilebilir. Bu çalışma, BR uygulamasının hem Narlı hem de Vezir kenevir çeşitlerinde, özellikle erkek bireylerde bitki boyu ve teknik sap uzunluğunu artırarak potansiyel biyokütle ve lif verimini destekleyebileceğini göstermiş, BRZ uygulamaları ise beklenen şekilde bu parametreleri genellikle azaltarak BR'nin büyümeyi teşvik edici etkisini tersine çevirmiştir. Gelişimsel dönem ilerledikçe gözlenen artışlar ve BR etkisinin birleşmesi, verim optimizasyonu açısından hormon uygulamalarının yetiştirme programlarına dâhil edilebileceğini göstermektedir. Bu veriler, kenevir üretiminde hedeflenen verim bileşenlerinin geliştirilmesinde ve yetiştirme stratejilerinin optimize edilmesinde yol gösterici olabilir.



**Şekil 3.14** Farklı gelişimsel dönemde Narlı ve Vezir çeşitlerinin ortalama boyları

Aynı zamanda bu veriler farklı gelişimsel dönemlerde Narlı ve Vezir çeşitlerinin dişi ve erkek bireylerinde BR, BRZ ve kontrol uygulamalarının bitki boyu, teknik sap uzunluğu ve sap kalınlığı üzerindeki etkilerini ANOVA ve Post-Hoc (Tukey)

analizleriyle de detaylı biçimde ortaya koymaktadır. Sonuçlar, cinsiyet, gelişimsel dönem, çeşit ve uygulama kombinasyonlarının morfolojik parametrelere farklı ölçeklerde etki ettiğini göstermektedir. Gelişimsel dönemlerin boy uzunluğu üzerindeki etkisi belirgindir ve ikinci gelişimsel dönemde genel olarak daha yüksek boy ortalamaları elde edilmiştir. Bu eğilim fenolojik gelişimin ilerlemesiyle ilişkili olmakla birlikte, ANOVA sonuçları her parametrede bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını da göstermektedir. Örneğin 1. ve 2. gelişimsel dönemler arasında ortalama bitki boyu açısından anlamlı bir fark bulunmaması ( $p=0,658$ ), örneklem büyüklüğü, varyasyon ve çevresel koşulların da büyüme dinamiklerinde etkili olduğunu düşündürmektedir. BR, BRZ ve kontrol grupları arasında teknik sapa uzunluğu açısından anlamlı farklılıkların bulunması, ayrıca cinsiyet farkının da bu etkiyi şekillendirmesi, erkek bitkilerin genel olarak daha uzun teknik sapa sahip olması ve BR'nin bu farkı daha da öne çıkarması ile belirginleşmektedir (Şekil 3.15). ANOVA sonuçlarına göre teknik sapa uzunluğunda uygulamalar arasında çok anlamlı bir fark ( $F=32,50$ ;  $p=1 \times 10^{-14}$ ) saptanmıştır. Bu literatürde BR'nin gövde uzamasını teşvik eden rolü ile de örtüşmektedir. BRZ uygulaması ise beklendiği üzere bu uzamayı kısıtlayarak BR'nin etkisini tersine çevirmiştir.



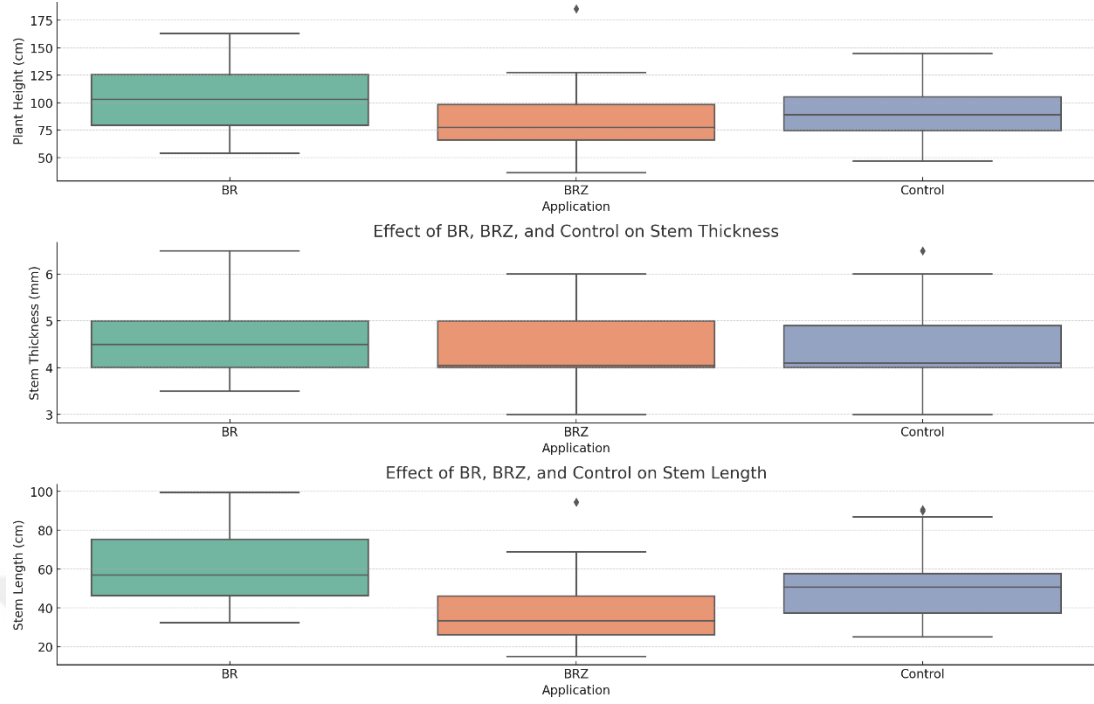
**Şekil 3.15** Cinsiyet ve uygulama etkileşimlerinin ortalama boy üzerine etkileri

Dişi ve erkek bitkilerde sap kalınlığı bakımından da bazı ayrımlar mevcut olsa da ANOVA sonuçları ( $F=2,23$ ;  $p=0,11$ ) uygulamaların sap kalınlığı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki ortaya koyamadığını göstermektedir. Bu durum sap kalınlığının genotipik farklılıklar, cinsiyet, çevresel koşullar ve muhtemelen diğer fizyolojik faktörlerden etkilendiğini düşündürmektedir. Bu bağlamda sap kalınlığının yalnızca hormon uygulamalarına değil, genetik ve çevresel etkileşimlere de bağlı karmaşık bir özellik olduğu söylenebilir. ANOVA ve Post-Hoc analizleri, farklı faktörlerin etkilerini daha ayrıntılı ele almamıza imkân vermiştir. Çeşit (Narlı vs Vezir) ile uygulamalar (BR, BRZ, Kontrol) arasındaki iki yönlü ANOVA sonuçları anlamlı bir fark veya etkileşim göstermemiş ( $p>0,05$ ), buna karşılık cinsiyet (Dişi vs Erkek) x Uygulama (BR, BRZ, Kontrol) analizinde cinsiyet ( $p<0,001$ ), uygulama ( $p=0,003$ ) ve etkileşim ( $p=0,018$ ) anlamlı bulunmuştur. Bu sonuç dişi ve erkek bitkiler arasında uygulamaların etkisine bağlı olarak değişen bir farklılık olduğunu doğrulamaktadır. Gelişimsel dönemler arasında anlamlı bir fark bulunmaması ( $p=0,658$ ) bazı parametrelerin fenolojik evre ilerlemesinden ziyade uygulamalara ve cinsiyete daha duyarlı olduğunu düşündürmektedir. Tek yönlü ANOVA sonuçları da uygulamalar arasında bitki boyu ( $F=11,61$ ;  $p=0,00002$ ) ve teknik sap uzunluğu ( $F=32,50$ ;  $p=0,000000000001$ ) açısından anlamlı farklılıklar olduğunu, sap kalınlığında ise anlamlı bir fark bulunmadığını ( $p=0,11$ ) teyit etmiştir (Şekil 3.16). Tukey Post Hoc testleri, uygulamalar arasındaki farklılıkların ayrıntılarını ortaya koymuş, BR, BRZ ve kontrol gruplarının ortalama değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı ayrımlar saptanmıştır. Cinsiyet x Uygulama etkileşiminin netleştiği grafiksel incelemeler (Şekil 3.11), özellikle BR uygulamasında dişi ve erkek arasındaki farkın diğer uygulamalara göre daha belirgin olduğunu göstermiştir. Bu bulgular literatürde elde edilen güncel sonuçlarla da uyumludur. Brassinosteroid uygulamalarının birçok bitkide büyüme, gelişme ve stres koşullarına tolerans konularında önemli rolleri olduğu bilinmektedir (Bajguz ve Hayat, 2009; Clouse, 2011). Bu çalışma kenevir özelinde de benzer sonuçlar ortaya koyarak BR'nin gövde uzaması ve teknik sap uzunluğu üzerine etkisini açıkça göstermektedir. Tang vd. (2008) ile Vera vd. (2005) tarafından kenevirde genotipik varyasyonların büyüme parametreleri üzerindeki etkisi daha önce rapor edilmiş olup, bu çalışma da cinsiyet ve uygulama kombinasyonlarının etkilerinin altını çizmektedir. Ancak çeşit faktöründe anlamlı bir fark bulunmaması, incelenen iki varyete arasındaki genetik benzerlik veya deney koşullarının çeşit bazındaki

potansiyel farkları maskeleymiş olabileceği olasılığını akla getirmektedir. Daha geniş bir genotipik tarama ile çeşit farklarının da anlamlı hale gelebileceği düşünülmelidir. Burada dikkat çeken bir başka nokta, fenolojik gelişim ilerledikçe ortalama boy ve teknik sap uzunluğunda bir artış eğilimi gözlenirse de bunun istatistiksel olarak her zaman anlamlı olmamasıdır. Bu durum, çevresel koşullar, bitki yoğunluğu, besin elementleri, ışık yoğunluğu ve sıcaklık gibi pek çok faktörün büyüme parametreleri üzerindeki karmaşık etkilerini düşündürmektedir.

BRZ gibi inhibitör uygulamalarının büyümeyi sınırlandırması, BR'nin etkisini doğrulamanın yanı sıra, hedeflenen verim parametrelerine ulaşmak için hormon uygulamalarının seçici biçimde kullanılabilmesini göstermektedir. Bu sayede lif üretiminde optimal morfolojik özelliklerin elde edilmesi mümkün olabilecektir. Literatürde kenevirin lif verimini etkileyen yapısal özelliklerin çevre, genotip ve yönetim uygulamalarının etkileşimiyle şekillendiği bildirilmiştir (Amaducci vd., 2008; Salentijn vd., 2015; Tang vd., 2008; Vera vd., 2005;). Bu çalışmanın sonuçları da elde edilen varyasyonun tek bir faktörle açıklanamayacağını, ancak hormon uygulamaları, cinsiyet farklılığı ve fenolojik ilerleme gibi birden çok faktörün birlikte değerlendirilmesiyle kenevir yetiştiriciliğinde verim ve kalite optimizasyonuna dönük stratejilerin geliştirilebileceğini ortaya koymaktadır. Özellikle BR'nin gövde uzaması üzerindeki olumlu etkisi, lif üretiminde uzun saplı kenevir genotiplerinin desteklenmesinde yararlı olabilir.

Ancak bu etkiyi maksimize ederken cinsiyet farklılıklarını da göz önünde bulundurmak gerekir. Erkek bitkilerin BR'ye daha güçlü yanıt vermesi, ticari anlamda daha çok lif üreten ve işlenebilir biyokütle sağlayan bitki populasyonlarının oluşturulmasında faydalı olabilir. Bunun yanı sıra sap kalınlığının bu uygulamalara daha az duyarlı çıkması, bu özelliğin daha çok genetik faktörler, çevre ve yetiştirme koşullarına bağlı olduğunu düşündürmekte, dolayısıyla lif kalitesini ve verimini iyileştirmede tüm yapısal bileşenlerin aynı ölçüde hormon uygulamalarıyla yönlendirilemeyeceğini göstermektedir. Bu sonuçlar kenevirin karmaşık morfo-fizyolojik yapısına vurgu yaparken, hormon uygulamalarının doğru cinsiyet ve fenolojik dönemde, doğru genotip ile kombinasyonunun lif verimi ve kalitesini artırabileceğini, bunun için ise daha kapsamlı araştırmalara gereksinim duyulduğunu ima etmektedir.



**Şekil 3.16** Uygulamaların bitki boyu, teknik sap uzunluğu ve sap kalınlığı üzerine etkileri.

Bu verilerin geneli, kenevirde BR uygulamasının özellikle erkek bireylerde bitki boyu ve teknik sap uzunluğunu artırarak potansiyel biyokütle ve lif verimini destekleyebileceğini, BRZ uygulamalarının ise genelde bu parametreleri azaltarak BR'nin büyümeyi teşvik edici etkisini baskıladığını ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, gelecekte kenevir yetiştiriciliğinde hormon uygulamalarının dikkatli ve hedefe yönelik şekilde kullanılmasıyla verim artışı sağlanabileceğini, ancak bunun genotip, cinsiyet ve çevre faktörleriyle etkileşim halinde karmaşık bir karar süreci gerektirdiğini göstermektedir. Dolayısıyla bu çalışma, kenevirin verim ve kalite bileşenlerini optimize etmek amacıyla geliştirilecek yetiştirme stratejilerine ışık tutmakta, fenolojik dönemlerin, hormon uygulamalarının ve cinsiyet farklılıklarının bir bütün olarak ele alınmasının önemini vurgulamaktadır. Daha ileri araştırmalar, genetik çeşitliliği artırılmış materyaller ve farklı ekoloji koşulları altında yapılacak kapsamlı analizlerle, hormon uygulamalarının kenevirde verim optimizasyonu için hangi kombinasyonlarda en uygun sonuçları verebileceğini daha net ortaya koyabilir.

#### 4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması, kenevirin (*Cannabis sativa* L.) çok yönlü bir ürün olarak gösterdiği potansiyeli, özellikle de lif verimi ve kalitesi üzerine odaklanarak incelemiştir. Yerel kenevir çeşitleri olan Narlı ve Vezir üzerinde yapılan deneysel uygulamalarla brassinosteroid (BR) hormonunun lif gelişimi, bitki boyu, teknik sap uzunluğu ve sap kalınlığı gibi morfolojik özelliklere etkileri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular, BR uygulamalarının özellikle erkek bitkilerde bitki gövde uzamasını ve teknik sap uzunluğunu belirgin şekilde artırdığını, bunun sonucunda lif verimi ve biyokütle potansiyelinin desteklenebileceğini göstermiştir. BRZ inhibitörü uygulamaları ise beklenen üzere BR'nin etkilerini tersine çevirmiş, büyümeyi sınırlandırmıştır. Genetik ve fizyolojik özellikleri bakımından farklılık gösteren Narlı ve Vezir çeşitleri üzerinde yapılan analizler, genotipik varyasyonun, fenolojik dönemlerin, cinsiyet farklılıklarının ve hormon uygulamalarının birlikte değerlendirilmesinin kenevir yetiştiriciliğinde verim ve kalite optimizasyonu açısından kritik olduğunu ortaya koymuştur.

Aynı zamanda hazırlanan transkripsiyon faktörü (TF) veri tabanı ve yapay zekâ destekli biyoinformatik analizler, *Cannabis sativa*'da lif gelişimi ve metabolik yolları düzenleyen genetik mekanizmaların anlaşılmasına katkı sağlamıştır. Özellikle TF aileleri arasındaki korunmuş motiflerin, yapısal özelliklerin ve protein-protein etkileşim ağlarının belirlenmesi, kenevirin lif kalitesini etkileyen düzenleyici süreçlerin moleküler temelini anlamamızda önemli bir adım olmuştur. Bu bilgiler, gelecekte genom düzenleme, moleküler ıslah ve hassas tarım uygulamaları için yol gösterici niteliktedir.

Sürdürülebilir üretim, yüksek lif kalitesi, hızlı büyüme, düşük çevresel maliyetler ve potansiyel farmasötik uygulamalar keneviri stratejik bir ürün haline getirmektedir. Bu açıdan bakıldığında, BR gibi fitohormon uygulamaları ve TF temelli moleküler araçlar, kenevirin verim ve kalite bileşenlerini hedefe yönelik biçimde düzenleyerek üretim stratejilerine esneklik katabilir.

Bu çalışmada, brassinosteroid (BR) uygulamalarının kenevir lifi gelişimi üzerindeki etkilerini morfolojik düzeyde ele alarak literatürdeki önemli bir eksik giderilmiştir. Özellikle yerel kenevir çeşitlerinin incelenmesi, bu bitki büyüme düzenleyicisinin kenevir gelişimi rolünü daha önce hiç olmadığı kadar ayrıntılı biçimde ortaya koymaktadır. Literatürde BR uygulamalarının pamuk gibi lif bitkilerinde incelendiği bilirse de kenevir özelinde kapsamlı bir morfolojik değerlendirme bugüne dek yapılmamış; ayrıca aynı araştırma kapsamında bir transkripsiyon faktörü (TF) veri tabanı ve derin öğrenme modeli bütünleştirilerek böylesine çok katmanlı bir yaklaşım sunulmamıştır. Bu anlamda çalışma, kenevirde hem BR'nin yol açtığı fenotipik değişimlerin hem de bu değişimlerin moleküler altyapısında rol oynayan TF'lerin tanımlanması yönüyle literatürde ilklerden biri konumundadır. Araştırmanın elde ettiği bulgular, BR uygulamasının bitki boyu ve teknik sap uzunluğu gibi lif verimi için kritik özelliklere anlamlı düzeyde katkı sağladığını, buna karşın BR sentezini engelleyen uygulamalarda (BRZ) bu parametrelerin gerilediğini göstermiştir. Aynı zamanda derin öğrenme modeli kullanılarak oluşturulan TF veri tabanı, kenevirdeki potansiyel düzenleyici genleri ve alt aileleri yüksek doğrulukla sınıflandırmıştır. Elde edilen sonuçlar, lif kalitesi ve verim odaklı yeni ıslah veya genom düzenleme çalışmalarında öncü bilgiler sunacak niteliktedir. Gelecekte kenevir yetiştiriciliğinde BR uygulamalarının tarım pratiklerine dâhil edilmesi, lif üretim verimliliğini artırma potansiyeline sahiptir. Bunun yanı sıra oluşturulan TF veri tabanı ve derin öğrenme tabanlı model, özellikle BR'lerin etki mekanizmalarında görev alan TF'ler de göz önünde bulundurulduğunda, farklı kenevir genotiplerinin hızlı karşılaştırmalı analizlerine de imkân tanıyacak şekilde geliştirilebilir. Böylece çeşitli stres koşullarına (kuraklık, tuzluluk vb.) veya farklı endüstriyel hedeflere (ilaç hammaddesi, kompozit malzeme vb.) yönelik kenevir ıslah programları daha uygulamalarına ek olarak TF'ler aracılığıyla yürütülebilecek ileri biyoteknolojik müdahalelerin, kenevirin çok yönlü kullanım potansiyelini daha da genişleteceğini göstermektedir.

Farklı kenevir çeşitlerinin ve ekotiplerinin, BR uygulamalarına ve çevresel koşullara verdikleri yanıtların detaylı olarak incelenmesi, genetik kaynak çeşitliliğini artırarak daha dayanıklı ve verimli varyetelerin seçilmesine yardımcı olabilir. Lif kalitesi üzerine odaklanacak ileri çalışmalarda, BR uygulamalarının yanı sıra besin elementleri, sulama rejimleri, bitki sıklığı ve hasat zamanlaması gibi agronomik

faktörlerin bir arada değerlendirilmesi, optimum üretim koşullarının belirlenmesini kolaylaştıracaktır. TF veri tabanının genişletilmesi ve yapay zekâ odaklı analizlerin derinleştirilmesi, sadece lif verim ve kalitesini değil, aynı zamanda kannabinoid ve terpen üretimini etkileyen genetik düzenleyici ağların kapsamlı anlaşılmasını sağlayabilir. Bu da tıbbi ve endüstriyel amaçlı kenevir kullanımını destekleyecek yeni ıslah stratejilerine temel oluşturabilir. İklim değişikliği ve çevresel stres faktörlerinin artacağı öngörüsüyle, BR ve benzeri hormon uygulamalarının stres koşullarına dayanıklı genotiplerin seçiminde bir araç olarak kullanılması değerlendirilmeli; kuraklık, tuzluluk ve yüksek sıcaklık gibi zorlu koşullara adaptasyon sağlayan kenevir çeşitlerinin geliştirilmesi hedeflenmelidir. Araştırma bulguları uygulamaya aktarılırken yerel üreticilerin bilgilendirilmesi, demonstrasyon alanlarının kurulması ve tedarik zincirinin iyileştirilmesi önem taşımaktadır. Böylece yerel çeşitlerin (Narlı, Vezir) potansiyeli daha geniş üretim alanlarına yayılabilir, kırsal kalkınmaya ve ekonomik büyümeye katkı sağlanabilir.

Bu öneriler doğrultusunda yürütülecek ileri çalışmalar, kenevir bitkisinin çok yönlü potansiyelinden daha etkin yararlanmayı sağlayarak, tarım, endüstri, sağlık ve çevre alanlarında dengeli ve sürdürülebilir çözümlere katkıda bulunacaktır.

## KAYNAKLAR

- Aasim, M., Katircı, R., Akgur, O., Yildirim, B., Mustafa, Z., Nadeem, M. A., Baloch, F. S., Karakoy, T., ve Yılmaz, G. (2022). Machine learning (ML) algorithms and artificial neural network for optimizing in vitro germination and growth indices of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Industrial Crops and Products*, 181, 114801.
- Abrams, D. I., ve Guzman, M. (2015). Cannabis in cancer care. *Clin Pharmacol Ther*, 97(6), 575-586. <https://doi.org/10.1002/cpt.108>
- Aksoy, D., ve Aytaç, S. (2021). *Samsun ekolojik koşullarında Narlısaray populasyonu ile yabancı orijinli kenevir çeşitlerinin verim ve bazı kalite özelliklerinin araştırılması*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Aliferis, K. A., ve Bernard-Perron, D. (2020). Cannabinomics: application of metabolomics in Cannabis (*Cannabis sativa* L.) research and development. *Front Plant Sci*, 11, 554.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W., ve Lipman, D. J. (1990). Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*, 215(3), 403-410.
- Amaducci, S., Amaducci, M., Benati, R., ve Venturi, G. (2000). Crop yield and quality parameters of four annual fibre crops (hemp, kenaf, maize and sorghum) in the North of Italy. *Industrial Crops and Products*, 11(2-3), 179-186.
- Amaducci, S., Pelatti, F., ve Bonatti, P. M. (2005). Fibre development in hemp (*Cannabis sativa* L.) as affected by agrotechnique: preliminary results of a microscopic study. *Journal of Industrial Hemp*, 10(1), 31-48.
- Amaducci, S., Scordia, D., Liu, F., Zhang, Q., Guo, H., Testa, G., ve Cosentino, S. (2015). Key cultivation techniques for hemp in Europe and China. *Industrial Crops and Products*, 68, 2-16.
- Andre, C. M., Hausman, J.-F., ve Guerriero, G. (2016a). *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules. *Front Plant Sci*, 7, 19.
- Andre, C. M., Hausman, J.-F., ve Guerriero, G. (2016b). *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules. *Front Plant Sci*, 19.
- Appendino, G., Chianese, G., ve Tagliatela-Scafati, O. (2011). Cannabinoids: occurrence and medicinal chemistry. *Current Medicinal Chemistry*, 18(7), 1085-1099.
- Avico, U., Pacifici, R., ve Zuccaro, P. (1985). Variations of tetrahydrocannabinol content in cannabis plants to distinguish the fibre-type from drug-type plants. *Bull Narc*, 37(4), 61-65.

- Bahar, Y. (2022). *Amasya İklim Koşullarında Farklı Dozlarda Uygulanan Azot Gübresinin Yerli Kenevir Çeşidinde (Vezir 55) Verim ve Bazı Özelliklerine Etkisi*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi.
- Bailey, T. L., Boden, M., Buske, F. A., Frith, M., Grant, C. E., Clementi, L., Ren, J., Li, W. W., ve Noble, W. S. (2009). MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic Acids Research*, 37(suppl\_2), W202-W208.
- Bajguz, A., ve Hayat, S. (2009). Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47(1), 1–8.
- Baldi, P., ve Brunak, S. (2001). *Bioinformatics: the machine learning approach*. MIT press.
- Bassolino, L., Buti, M., Fulvio, F., Pennesi, A., Mandolino, G., Milc, J., Francia, E., ve Paris, R. (2020). In silico identification of MYB and bHLH families reveals candidate transcription factors for secondary metabolic pathways in *Cannabis sativa* L. *Plants (Basel)*, 9(11), 1540.
- Begum, Y. (2022). Regulatory role of microRNAs (miRNAs) in the recent development of abiotic stress tolerance of plants. *Gene*, 821, 146283.
- Bernava, A., Reihmane, S., ve Strazds, G. (2015). Influence of pectinase enzyme Beisol PRO on hemp fibres retting. *Proc. Estonian Acad. Sci.*
- Bileschi, M. L., Belanger, D., Bryant, D. H., Sanderson, T., Carter, B., Sculley, D., Bateman, A., DePristo, M. A., ve Colwell, L. J. (2022). Using deep learning to annotate the protein universe. *Nature Biotechnology*, 40(6), 932–937.
- Braich S, Baillie RC, Spangenberg GC, Cogan NOI. A new and improved genome sequence of *Cannabis sativa*. GigaByte. 2020 Dec 23;2020:gigabyte10. doi: 10.46471/gigabyte.10. PMID: 36824593; PMCID: PMC9632002.
- Brzyski, P., ve Fic, S. (2017). The application of raw materials obtained from the cultivation of industrial hemp in various industries. *Economic and Regional Studies*, 10(673-2017-242), 100-113.
- Campbell, B. T., Dever, J. K., Hugie, K. L., ve Kelly, C. M. (2018). Cotton fiber improvement through breeding and biotechnology. In *Cotton fiber: Physics, chemistry and biology* (pp. 193-215).
- Caño-Delgado, A., Yin, Y., Yu, C., Vafeados, D., Mora-García, S., Cheng, J.-C., Nam, K. H., Li, J., ve Chory, J. (2004). BRL1 and BRL3 are novel brassinosteroid receptors that function in vascular differentiation in *Arabidopsis*. *Development*, 131(21), 5341-5351.
- Ceylan, Y., Altunoglu, Y.C. ve Horuz, E. HSF and Hsp Gene Families in sunflower: a comprehensive genome-wide determination survey and expression patterns under abiotic stress conditions. *Protoplasma* 260, 1473–1491 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00709-023-01862-6>

- Chen, J., ve Yin, Y. (2017). WRKY transcription factors are involved in brassinosteroid signaling and mediate the crosstalk between plant growth and drought tolerance. *Plant Signaling ve Behavior*, 12(11), e1365212.
- Chernova, T., Mikshina, P., Salnikov, V., Ibragimova, N., Sautkina, O., ve Gorshkova, T. (2018). Development of distinct cell wall layers both in primary and secondary phloem fibers of hemp (*Cannabis sativa* L.). *Industrial Crops and Products*, 117, 97-109.
- Chory, J., Nagpal, P., ve Peto, C. A. (1991). Phenotypic and genetic analysis of det2, a new mutant that affects light-regulated seedling development in Arabidopsis. *Plant Cell*, 3(5), 445-459.
- Clarke, R. C. (1981). *Marijuana Botany*. Berkeley, California: And/Or Press.
- Clouse, S. D., Langford, M., ve McMorris, T. C. (1996). A brassinosteroid-insensitive mutant in Arabidopsis thaliana exhibits multiple defects in growth and development. *Plant Physiol*, 111(3), 671-678.
- Clouse, S. D., ve Sasse, J. M. (1998). Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. *Annual Review of Plant Biology*, 49(1), 427-451.
- Cromack, H. (1998). The effect of cultivar and seed density on the production and fibre content of *Cannabis sativa* in southern England. *Industrial Crops and Products*, 7(2-3), 205-210.
- Crônier, D., Monties, B., ve Chabbert, B. (2005). Structure and chemical composition of bast fibers isolated from developing hemp stem. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(21), 8279-8289.
- Deguchi, M., Potlakayala, S., Spuhler, Z., George, H., Sheri, V., Agili, R., Patel, A., ve Rudrabhatla, S. (2021). Selection and validation of reference genes for normalization of qRT-PCR data to study the cannabinoid pathway genes in industrial hemp. *PLoS One*, 16(12), e0260660.
- Downer, E. J. (2020). Anti-inflammatory potential of terpenes present in *Cannabis sativa* L. *ACS Chemical Neuroscience*, 11(5), 659-662.
- Dubos, C., Stracke, R., Grotewold, E., Weisshaar, B., Martin, C., ve Lepiniec, L. (2010). MYB transcription factors in Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 15(10), 573-581.
- Dumanoğlu, Z., Ekren, S., Öztürk, G., Gökçöl, A., İlker, E., ve Geren, H. (2021). Farklı Yıllarda Hasat Edilen Kenevir Tohumlarının Bazı Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (27), 17-21.
- Dyson, H. J., ve Wright, P. E. (2005). Intrinsically unstructured proteins and their functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6(3), 197-208.

- Fan, F., Zhou, Z., Qin, H., Tan, J., ve Ding, G. (2021). Exogenous brassinosteroid facilitates xylem development in *Pinus massoniana* seedlings. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14), 7615.
- Faris Abdulkhadum Al-Mamoori, D., Celik Altunoglu, Y., Horuz, E. et al. Investigation of the expansin gene family in sugar beet (*Beta vulgaris*) by the genome-wide level and their expression responses under abiotic stresses. *BIOLOGIA FUTURA* 74, 295–307 (2023). <https://doi.org/10.1007/s42977-023-00176-1>
- Feng, K., Hou, X.-L., Xing, G.-M., Liu, J.-X., Duan, A.-Q., Xu, Z.-S., Li, M.-Y., Zhuang, J., ve Xiong, A.-S. (2020). Advances in AP2/ERF super-family transcription factors in plant. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(6), 750-776.
- Fernandez-Tendero, E., Day, A., Legros, S., Habrant, A., Hawkins, S., ve Chabbert, B. (2017). Changes in hemp secondary fiber production related to technical fiber variability revealed by light microscopy and attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. *PLoS One*, 12(6), e0179794.
- Fragkostefanakis, S., Roeth, S., Schleiff, E., ve SCHARF, K. D. (2015). Prospects of engineering thermotolerance in crops through modulation of heat stress transcription factor and heat shock protein networks. *Plant Cell Environ*, 38(9), 1881-1895.
- Fridman, Y., ve Savaldi-Goldstein, S. (2013). Brassinosteroids in growth control: how, when and where. *Plant Science*, 209, 24-31.
- Friedrichsen, D. M., Joazeiro, C. A., Li, J., Hunter, T., ve Chory, J. (2000). Brassinosteroid-insensitive-1 is a ubiquitously expressed leucine-rich repeat receptor serine/threonine kinase. *Plant Physiol*, 123(4), 1247-1256.
- Furuya, T., Ohashi-Ito, K., ve Kondo, Y. (2024). Multiple roles of brassinosteroid signaling in vascular development. *Plant and Cell Physiology*, pcae037.
- Gabler, F., Nam, S. Z., Till, S., Mirdita, M., Steinegger, M., Söding, J., Lupas, A. N., ve Alva, V. (2020). Protein sequence analysis using the MPI bioinformatics toolkit. *Curr Protoc Bioinformatics*, 72(1), e108.
- Gao, Y., ve Glowacka, D. (2016). Deep Gate Recurrent Neural Network. In *Proceedings of The 8th Asian Conference on Machine Learning* (pp. 350–365).
- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Duvaud, S., Wilkins, M. R., Appel, R. D., ve Bairoch, A. (2005). Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. In *The Proteomics Protocols Handbook* (pp. 571-607). Humana Press.
- Gea, G., Kjell, S., ve Hausman, J.-F. (2013). Integrated-omics: a powerful approach to understanding the heterogeneous lignification of fibre crops. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6), 10958-10978.
- Gendron, J. M., ve Wang, Z.-Y. (2007). Multiple mechanisms modulate brassinosteroid signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(5), 436-441.

- Gillani, S. F. A., Zhuang, Z., Rasheed, A., Haq, I. U., Abbasi, A., Ahmed, S., Wang, Y., Khan, M. T., Sardar, R., ve Peng, Y. (2022). Brassinosteroids induced drought resistance of contrasting drought-responsive genotypes of maize at physiological and transcriptomic levels. *Front Plant Sci*, 13, 961680.
- Gong, M., He, Y., Wang, M., Zhang, Y., ve Ding, C. (2023). Interpretable single-cell transcription factor prediction based on deep learning with attention mechanism. *Computational Biology and Chemistry*, 106, 107923.
- Gonzalez, D. H. (2015). *Plant transcription factors: evolutionary, structural and functional aspects*. Academic Press.
- Gorshkova, T., Brutch, N., Chabbert, B., Deyholos, M., Hayashi, T., Lev-Yadun, S., Mellerowicz, E. J., Morvan, C., Neutelings, G., ve Pilate, G. (2012). Plant fiber formation: state of the art, recent and expected progress, and open questions. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31(3), 201-228.
- Gou, X., Yin, H., He, K., Du, J., Yi, J., Xu, S., Lin, H., Clouse, S. D., ve Li, J. (2012). Genetic evidence for an indispensable role of somatic embryogenesis receptor kinases in brassinosteroid signaling. *PLOS Genetics*, 8(1), e1002452.
- Grassa, C. J., Weiblen, G. D., Wenger, J. P., Dabney, C., Poplawski, S. G., Timothy Motley, S., Michael, T. P., ve Schwartz, C. (2021). A new Cannabis genome assembly associates elevated cannabidiol (CBD) with hemp introgressed into marijuana. *New Phytologist*, 230(4), 1665-1679.
- Gromiha, M. M. (2010). Protein sequence analysis. In *Protein bioinformatics: from sequence to function* (pp. 29-62). Elsevier.
- Grove, M. D., Spencer, G. F., Rohwedder, W. K., Mandava, N., Worley, J. F., Warthen Jr, J. D., Steffens, G. L., Flippen-Anderson, J. L., ve Cook Jr, J. C. (1979). Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from Brassica napus pollen. *Nature*, 281(5728), 216-217.
- Guerrero, G., Behr, M., Legay, S., Mangeot-Peter, L., Zorzan, S., Ghoniem, M., ve Hausman, J.-F. (2017). Transcriptomic profiling of hemp bast fibres at different developmental stages. *Sci Rep*, 7(1), 4961.
- Guerrero, G., Mangeot-Peter, L., Hausman, J.-F., ve Legay, S. (2016). Extraction of High Quality RNA from *Cannabis sativa* Bast Fibres: A Vademecum for Molecular Biologists. *Fibers*, 4(3), 23.
- Guharoy, M., Bhowmick, P., ve Tompa, P. (2016). Design principles involving protein disorder facilitate specific substrate selection and degradation by the ubiquitin-proteasome system. *J Biol Chem*, 291(13), 6723-6731.
- Hartsel, J. A., Eades, J., Hickory, B., ve Makriyannis, A. (2016). *Cannabis sativa* and Hemp. In *Nutraceuticals* (pp. 735-754). Elsevier.
- He, J.-X., Gendron, J. M., Yang, Y., Li, J., ve Wang, Z.-Y. (2002). The GSK3-like kinase BIN2 phosphorylates and destabilizes BZR1, a positive regulator of the

- brassinosteroid signaling pathway in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(15), 10185-10190.
- He, Z., Wang, Z.-Y., Li, J., Zhu, Q., Lamb, C., Ronald, P., ve Chory, J. (2000). Perception of brassinosteroids by the extracellular domain of the receptor kinase BRI1. *Science*, 288(5475), 2360-2363.
- Hernandez, A., Westerhuis, W., ve van Dam, J. E. (2007). Microscopic study on hemp bast fibre formation. *Journal of Natural Fibers*, 3(4), 1-12.
- Hochreiter, S., ve Schmidhuber, J. (1997). Long short-term memory. *Neural Computation*, 9(8), 1735-1780.
- Hogeweg, P. (2011). The roots of bioinformatics in theoretical biology. *PLoS Comput Biol*, 7(3), e1002021.
- Hu, B., Jin, J., Guo, A.-Y., Zhang, H., Luo, J., ve Gao, G. (2015). GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 31(8), 1296-1297.
- Huang, J., Guo, Y., Sun, Q., Zeng, W., Li, J., Li, X., ve Xu, W. (2019). Genome-wide identification of R2R3-MYB transcription factors regulating secondary cell wall thickening in cotton fiber development. *Plant and Cell Physiology*, 60(3), 687-701.
- Husain, R., Weeden, H., Bogush, D., Deguchi, M., Soliman, M., Potlakayala, S., Katam, R., Goldman, S., ve Rudrabhatla, S. (2019). Enhanced tolerance of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) plants on abandoned mine land soil leads to overexpression of cannabinoids. *PLoS One*, 14(8), e0221570.
- Jeong, J. S., Kim, Y. S., Baek, K. H., Jung, H., Ha, S.-H., Do Choi, Y., Kim, M., Reuzeau, C., ve Kim, J.-K. (2010). Root-specific expression of OsNAC10 improves drought tolerance and grain yield in rice under field drought conditions. *Plant Physiol*, 153(1), 185-197.
- Jin, J., Tian, F., Yang, D.-C., Meng, Y.-Q., Kong, L., Luo, J., ve Gao, G. (2016). PlantTFDB 4.0: toward a central hub for transcription factors and regulatory interactions in plants. *Nucleic Acids Research*, gkw982.
- Jing, Y., Yu, Y., Wang, H., Wu, Y., ve Li, C. (2022). Genome-wide identification and expression analysis of the bZIP gene family in silver birch (*Betula pendula* Roth.). *Journal of Forestry Research*, 33(5), 1615-1636.
- John, C., Sahoo, J., Sajan, I. K., Madhavan, M., ve Mathew, O. K. (2024). CNN-BLSTM based deep learning framework for eukaryotic kinome classification: An explainability based approach. *Computational Biology and Chemistry*, 112, 108169.
- Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., Green, T., Figurnov, M., Ronneberger, O., ... ve Hassabis, D. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583-589.

- Junior, A. A., Gana, D., Adukeye, E., ve Ahuchaogu, C. (2023). Unlocking the Socioeconomic Advantages of *Cannabis sativa* L. Legalization in African Countries: An In-Depth Review. *Global Journal of Agricultural Research*, 11(1), 32-52.
- Karche, T. (2019). The application of hemp (*Cannabis sativa* L.) for a green economy: A review. *Turkish Journal of Botany*, 43(6), 710-723.
- Keller, A., Leupin, M., Mediavilla, V., ve Wintermantel, E. (2001). Influence of the growth stage of industrial hemp on chemical and physical properties of the fibres. *Industrial Crops and Products*, 13(1), 35-48.
- Kersey, P. J. (2019). Plant genome sequences: past, present, future. *Current Opinion in Plant Biology*, 48, 1-8.
- Kim, G. B., Gao, Y., Palsson, B. O., ve Lee, S. Y. (2021). DeepTFactor: A deep learning-based tool for the prediction of transcription factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 118(2).
- Kim, T.-W., Guan, S., Burlingame, A. L., ve Wang, Z.-Y. (2011). The CDG1 kinase mediates brassinosteroid signal transduction from BRI1 receptor kinase to BSU1 phosphatase and GSK3-like kinase BIN2. *Mol Cell*, 43(4), 561-571.
- Kim, T.-W., Guan, S., Sun, Y., Deng, Z., Tang, W., Shang, J.-X., Sun, Y., Burlingame, A. L., ve Wang, Z.-Y. (2009). Brassinosteroid signal transduction from cell-surface receptor kinases to nuclear transcription factors. *Nat Cell Biol*, 11(10), 1254-1260.
- Kingma, D. P., ve Ba, J. (2014). Adam: A Method for Stochastic Optimization. *arXiv preprint arXiv:1412.6980*.
- Kinoshita, T., Caño-Delgado, A., Seto, H., Hiranuma, S., Fujioka, S., Yoshida, S., ve Chory, J. (2005). Binding of brassinosteroids to the extracellular domain of plant receptor kinase BRI1. *Nature*, 433(7022), 167-171.
- Koo, P. K., ve Ploenzke, M. (2020). Deep learning for inferring transcription factor binding sites. *Current Opinion in Systems Biology*, 19, 16-23.
- Kostic, M., Pejic, B., ve Skundric, P. (2008). Quality of chemically modified hemp fibers. *Bioresource technology*, 99(1), 94-99.
- Krizhevsky, A., Sutskever, I., ve Hinton, G. E. (2017). ImageNet classification with deep convolutional neural networks. *Communications of the ACM*, 60(6), 84-90.
- Lescot, M., Déhais, P., Thijs, G., Marchal, K., Moreau, Y., Van de Peer, Y., Rouzé, P., ve Rombauts, S. (2002). PlantCARE, a database of plant cis-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Research*, 30(1), 325-327.

- Letunic, I., ve Bork, P. (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W293-W296.
- Li, J., Nagpal, P., Vitart, V., McMorris, T. C., ve Chory, J. (1996). A role for brassinosteroids in light-dependent development of Arabidopsis. *Science*, 272(5260), 398-401.
- Li, J., ve Chory, J. (1997). A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction. *Cell*, 90(5), 929-938.
- Li, Q., Zhang, H., Yang, Y., Tang, K., Yang, Y., Ouyang, W., ve Du, G. (2024). Genome-Wide Identification of NAC Family Genes and Their Expression Analyses in Response to Osmotic Stress in *Cannabis sativa* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(17).
- Li, X., Liu, W., Ren, Z., Wang, X., Liu, J., Yang, Z., Zhao, J., Pei, X., Liu, Y., ve He, K. (2022). Glucose regulates cotton fiber elongation by interacting with brassinosteroid. *Journal of Experimental Botany*, 73(3), 711-726.
- Libbrecht, M. W., ve Noble, W. S. (2015). Machine learning applications in genetics and genomics. *Nature Reviews Genetics*, 16(6), 321-332.
- Liu, L., ve Stewart Jr, C. N. (2016). Plant synthetic promoters and transcription factors. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 36-44.
- Liu, L., Xie, Z., Lu, L., Qanmber, G., Chen, G., Li, S., Guo, M., Sun, Z., Liu, Z., ve Yang, Z. (2021). Identification of BR biosynthesis genes in cotton reveals that GhCPD-3 restores BR biosynthesis and mediates plant growth and development. *Planta*, 254, 1-17.
- Liu, M., Fernando, D., Daniel, G., Madsen, B., Meyer, A. S., Ale, M. T., ve Thygesen, A. (2015). Effect of harvest time and field retting duration on the chemical composition, morphology and mechanical properties of hemp fibers. *Industrial Crops and Products*, 69, 29-39.
- Liu, Y., Zhu, P., Cai, S., Haughn, G., ve Page, J. E. (2021). Three novel transcription factors involved in cannabinoid biosynthesis in *Cannabis sativa* L. *Plant Molecular Biology*, 106, 49-65.
- Liu, Z. H., Chen, Y., Wang, N. N., Chen, Y. H., Wei, N., Lu, R., Li, Y., ve Li, X. B. (2020). A basic helix–loop–helix protein (GhFP1) promotes fibre elongation of cotton (*Gossypium hirsutum*) by modulating brassinosteroid biosynthesis and signalling. *New Phytologist*, 225(6), 2439-2452.
- Livak, K. J., ve Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup> ΔΔCT method. *Methods*, 25(4), 402-408.
- Lu, M., Meng, X.-X., Zhang, Y.-M., Zhu, X.-W., Li, J., Chen, W.-Q., Wan, H.-H., Wang, S.-F., Cao, X., ve Sun, W. (2022). Genome-wide identification and

- expression profiles of bZIP genes in *Cannabis sativa* L. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 7(6), 882-895.
- Lu, R., Li, Y., Zhang, J., Wang, Y., Zhang, J., Li, Y., Zheng, Y., ve Li, X.-B. (2022). The bHLH/HLH transcription factors GhFP2 and GhACE1 antagonistically regulate fiber elongation in cotton. *Plant Physiol*, 189(2), 628-643.
- Lu, S., ve Xiao, F. (2024). Small Peptides: Orchestrators of Plant Growth and Developmental Processes. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(14), 7627.
- Ma, G., Zelman, A. K., Apicella, P. V., ve Berkowitz, G. (2022). Genome-Wide Identification and Expression Analysis of Homeodomain Leucine Zipper Subfamily IV (HD-ZIP IV) Gene Family in *Cannabis sativa* L. *Plants (Basel)*, 11(10), 1307.
- Manzoor, M. A., Manzoor, M. M., Li, G., Abdullah, M., Han, W., Wenlong, H., Shakoor, A., Riaz, M. W., Rehman, S., ve Cai, Y. (2021). Genome-wide identification and characterization of bZIP transcription factors and their expression profile under abiotic stresses in Chinese pear (*Pyrus bretschneideri*). *BMC Plant Biology*, 21, 413.
- Martínez, I. M., ve Chrispeels, M. J. (2003). Genomic analysis of the unfolded protein response in *Arabidopsis* shows its connection to important cellular processes. *Plant Cell*, 15(2), 561-576.
- Mediavilla, V., Leupin, M., ve Keller, A. (2001). Influence of the growth stage of industrial hemp on the yield formation in relation to certain fibre quality traits. *Industrial Crops and Products*, 13(1), 49-56.
- Mikolov, T., Chen, K., Corrado, G., ve Dean, J. (2013). Efficient Estimation of Word Representations in Vector Space. *arXiv preprint arXiv:1301.3781*.
- Mishchenko, S., Mokher, J., Laiko, I., Burbulis, N., Kyrychenko, S., ve Dudukova, S. (2017). Phenological growth stages of hemp (*Cannabis sativa* L.): codification and description according to the BBCH scale. *Žemės ūkio mokslai*, 24(2).
- Mitchell, J., Mandava, N., Worley, J., Plimmer, J., ve Smith, M. (1970). Brassins—a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature*, 225(5237), 1065-1066.
- Musio, S., Müssig, J., ve Amaducci, S. (2018). Optimizing hemp fiber production for high performance composite applications. *Front Plant Sci*, 9, 1702.
- Nam, K. H., ve Li, J. (2002). BRI1/BAK1, a receptor kinase pair mediating brassinosteroid signaling. *Cell*, 110(2), 203-212.
- Naveenkumar, K. S., Mohammed Harun, B. R., Vinayakumar, R., ve Soman, K. P. (2018). Protein Family Classification using Deep Learning. *bioRxiv*, 414128.

- Nechwatal, A., Mieck, K.-P., ve Reußmann, T. (2003). Developments in the characterization of natural fibre properties and in the use of natural fibres for composites. *Composites science and technology*, 63(9), 1273-1279.
- Ng, D. W., Abeysinghe, J. K., ve Kamali, M. (2018). Regulating the regulators: the control of transcription factors in plant defense signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 3737.
- Nolan, T. M., Vukašinović, N., Liu, D., Russinova, E., ve Yin, Y. (2020). Brassinosteroids: multidimensional regulators of plant growth, development, and stress responses. *Plant Cell*, 32(2), 295-318.
- Northey, J. G., Liang, S., Jamshed, M., Deb, S., Foo, E., Reid, J. B., McCourt, P., ve Samuel, M. A. (2016). Farnesylation mediates brassinosteroid biosynthesis to regulate abscisic acid responses. *Nature Plants*, 2(8), 1-7.
- Ofer, D., Brandes, N., ve Linial, M. (2021). The language of proteins: NLP, machine learning ve protein sequences. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 1750–1758.
- Öncül, A. B., ve Çelik, Y. (2023). A hybrid deep learning model for classification of plant transcription factor proteins. *Signal, Image and Video Processing*, 17(5), 2055–2061.
- Pacifico, D., Miselli, F., Micheler, M., Carboni, A., Ranalli, P., ve Mandolino, G. (2006). Genetics and marker-assisted selection of the chemotype in *Cannabis sativa* L. *Molecular Breeding*, 17(3), 257–268.
- Paslı, R. (2021). *Bazı yerli kenevir (Cannabis sativa L.) genotiplerinin verim durumu ile morfolojik, fizyolojik ve kalite özelliklerinin belirlenmesi*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Percio, F., Rubio, L., Amorim-Silva, V., ve Botella, M. A. (2024). Crucial Roles of Brassinosteroids in Cell Wall Composition and Structure Across Species: New Insights and Biotechnological Applications. *Plant Cell Environ.*
- Petit, J., Salentijn, E. M., Paulo, M.-J., Thouminot, C., van Dinter, B. J., Magagnini, G., Gusovius, H.-J., Tang, K., Amaducci, S., ve Wang, S. (2020). Genetic variability of morphological, flowering, and biomass quality traits in hemp (*Cannabis sativa* L.). *Front Plant Sci*, 11, 102.
- Petrey, D., ve Honig, B. (2009). Is protein classification necessary? Toward alternative approaches to function annotation. *Curr Opin Struct Biol*, 19(3), 363-368.
- Phukan, U. J., Jeena, G. S., ve Shukla, R. K. (2016). WRKY transcription factors: molecular regulation and stress responses in plants. *Front Plant Sci*, 7, 760.
- Piatek, A., Ali, Z., Baazim, H., Li, L., Abulfaraj, A., Al-Shareef, S., Aouida, M., ve Mahfouz, M. M. (2015). RNA-guided transcriptional regulation in planta via synthetic dC as9-based transcription factors. *Plant Biotechnology Journal*, 13(4), 578-589.

- Pickering, K. L., Beckermann, G., Alam, S., ve Foreman, N. J. (2007). Optimising industrial hemp fibre for composites. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 38(2), 461-468.
- Placet, V., Cissé, O., ve Boubakar, M. L. (2014). Nonlinear tensile behaviour of elementary hemp fibres. Part I: Investigation of the possible origins using repeated progressive loading with in situ microscopic observations. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 56, 319-327.
- Planas-Riverola, A., Gupta, A., Betegón-Putze, I., Bosch, N., Ibañes, M., ve Caño-Delgado, A. I. (2019). Brassinosteroid signaling in plant development and adaptation to stress. *Development*, 146(5), dev151894.
- Poniatowska, J., Wielgus, K., Szalata, M., Szalata, M., Ozarowski, M., ve Panasiewicz, K. (2019). Contribution of Polish agrotechnical studies on *Cannabis sativa* L. to the global industrial hemp cultivation and processing economy. *Herba Polonica*, 65(2).
- Pramod, S., Anju, M., Rajesh, H., Thulaseedharan, A., ve Rao, K. S. (2021). Effect of exogenously applied 24-epibrassinolide and brassinazole on xylogenesis and microdistribution of cell wall polymers in *Leucaena leucocephala* (Lam) De Wit. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-13.
- Premnath, A., Narayana, M., ve Ramakrishnan, C. (2016). Mapping quantitative trait loci controlling oil content, oleic acid and linoleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus*). *Molecular Breeding*.
- Qin, Y.-M., Hu, C.-Y., Pang, Y., Kastaniotis, A. J., Hiltunen, J. K., ve Zhu, Y.-X. (2007). Saturated very-long-chain fatty acids promote cotton fiber and Arabidopsis cell elongation by activating ethylene biosynthesis. *Plant Cell*, 19(11), 3692-3704.
- Qin, Y.-M., ve Zhu, Y.-X. (2011). How cotton fibers elongate: a tale of linear cell-growth mode. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(1), 106-111.
- Rachel Jacob, S., Mishra, A., Kumari, M., Bhatt, K., Gupta, V., ve Singh, K. (2022). A quick viability test protocol for hemp (*Cannabis sativa* L.) seeds. *Journal of Natural Fibers*, 19(4), 1281-1286.
- Rajkumar, A. P., Qvist, P., Lazarus, R., Lescai, F., Ju, J., Nyegaard, M., Mors, O., Børglum, A. D., Li, Q., ve Christensen, J. H. (2015). Experimental validation of methods for differential gene expression analysis and sample pooling in RNA-seq. *BMC Genomics*, 16(1), 1-8.
- Rangwala, S. H., Kuznetsov, A., Ananiev, V., Asztalos, A., Borodin, E., Evgeniev, V., Joukov, V., Lotov, V., Pannu, R., ve Rudnev, D. (2021). Accessing NCBI data using the NCBI sequence viewer and genome data viewer (GDV). *Genome Res*, 31(1), 159-169.

- Rizzon, C., Ponger, L., ve Gaut, B. S. (2006). Striking similarities in the genomic distribution of tandemly arrayed genes in Arabidopsis and rice. *PLoS Comput Biol*, 2(9), e115.
- Sabir, I. A., Manzoor, M. A., Shah, I. H., Liu, X., Zahid, M. S., Jiu, S., Wang, J., Abdullah, M., ve Zhang, C. (2022). MYB transcription factor family in sweet cherry (*Prunus avium* L.): genome-wide investigation, evolution, structure, characterization and expression patterns. *BMC Plant Biology*, 22, 1-20.
- Saini, S., Sharma, I., ve Pati, P. K. (2015). Versatile roles of brassinosteroid in plants in the context of its homeostasis, signaling and crosstalks. *Front Plant Sci*, 6, 950.
- Saint-André, V. (2021). Computational biology approaches for mapping transcriptional regulatory networks. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 4884-4895.
- Salentijn, E. M. J., Petit, J., ve Trindade, L. M. (2015). New developments in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) breeding. *Industrial Crops and Products*, 68, 32-41.
- Salentijn, E. M. J., Petit, J., ve Trindade, L. M. (2019). The complex interactions between flowering behavior and fiber quality in hemp. *Front Plant Sci*, 10, 614.
- Sankari, H. S. (2000). Comparison of bast fibre yield and mechanical fibre properties of hemp (*Cannabis sativa* L.) cultivars. *Industrial Crops and Products*, 11(1), 73-84.
- Sauer, M., Robert, S., ve Kleine-Vehn, J. (2013). Auxin: simply complicated. *Journal of Experimental Botany*, 64(9), 2565-2577.
- Sawler, J., Stout, J. M., Gardner, K. M., Hudson, D., Vidmar, J., Butler, L., Page, J. E., ve Myles, S. (2015). The genetic structure of marijuana and hemp. *PLoS One*, 10(8), e0133292.
- Schluttenhofer, C., ve Yuan, L. (2017). Challenges towards revitalizing hemp: A multifaceted crop. *Trends in Plant Science*, 22(11), 917-929.
- Shahnejat-Bushehri, S., Mueller-Roeber, B., ve Balazadeh, S. (2012). Arabidopsis NAC transcription factor JUNGBRUNNEN1 affects thermomemory-associated genes and enhances heat stress tolerance in primed and unprimed conditions. *Plant Signaling ve Behavior*, 7(12), 1518-1521.
- Shang, X., Cheng, C., Ding, J., ve Guo, W. (2016). Identification of candidate genes from the SAD gene family in cotton for determination of cottonseed oil composition. *Molecular Genetics and Genomics*, 292(1), 173-186.
- Shi, Y.-H., Zhu, S.-W., Mao, X.-Z., Feng, J.-X., Qin, Y.-M., Zhang, L., Cheng, J., Wei, L.-P., Wang, Z.-Y., ve Zhu, Y.-X. (2006). Transcriptome profiling, molecular biological, and physiological studies reveal a major role for ethylene in cotton fiber cell elongation. *Plant Cell*, 18(3), 651-664.

- Singh, A. P., ve Savaldi-Goldstein, S. (2015). Growth control: brassinosteroid activity gets context. *Journal of Experimental Botany*, 66(4), 1123-1132.
- Small, E. (2015). Evolution and Classification of *Cannabis sativa* (Marijuana, Hemp) in Relation to Human Utilization. *The Botanical Review*, 81(3), 189-294.
- Snegireva, A., Chernova, T., Ageeva, M., Lev-Yadun, S., ve Gorshkova, T. (2015). Intrusive growth of primary and secondary phloem fibres in hemp stem determines fibre-bundle formation and structure. *AoB Plants*, 7, plv061.
- Soussi, A., Zero, E., Sacile, R., Trincherro, D., ve Fossa, M. (2024). Smart Sensors and Smart Data for Precision Agriculture: A Review. *Sensors*, 24(8), 2647.
- Spitz, F., ve Furlong, E. E. (2012). Transcription factors: from enhancer binding to developmental control. *Nature Reviews Genetics*, 13(9), 613-626.
- Srivastava, N., Hinton, G., Krizhevsky, A., Sutskever, I., ve Salakhutdinov, R. (2014). Dropout: A Simple Way to Prevent Neural Networks from Overfitting. *Journal of Machine Learning Research*, 15(56), 1929–1958.
- Strodthoff, N., Wagner, P., Wenzel, M., ve Samek, W. (2020). UDSMProt: universal deep sequence models for protein classification. *Bioinformatics*, 36(8), 2401-2409.
- Struik, P., Amaducci, S., Bullard, M., Stutterheim, N., Venturi, G., ve Cromack, H. (2000). Agronomy of fibre hemp (*Cannabis sativa* L.) in Europe. *Industrial Crops and Products*, 11(2-3), 107-118.
- Sudan, P., Sudan, S., Behl, T., Sharma, M., ve Misri, R. W. (2014). A critical insight into the intricate role of plant hormones in growth and development phase. *PharmaTutor*, 2(4), 87-89.
- Sun, L., Yang, Z. T., Song, Z. T., Wang, M. J., Sun, L., Lu, S. J., ve Liu, J. X. (2013). The plant-specific transcription factor gene NAC 103 is induced by b ZIP 60 through a new cis-regulatory element to modulate the unfolded protein response in A rabidopsis. *The Plant Journal*, 76(2), 274-286.
- Sun, Q., Huang, J., Guo, Y., Yang, M., Guo, Y., Li, J., Zhang, J., ve Xu, W. (2020). A cotton NAC domain transcription factor, GhFSN5, negatively regulates secondary cell wall biosynthesis and anther development in transgenic Arabidopsis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 146, 303-314.
- Sun, Y., Veerabomma, S., Abdel-Mageed, H. A., Fokar, M., Asami, T., Yoshida, S., ve Allen, R. D. (2005). Brassinosteroid regulates fiber development on cultured cotton ovules. *Plant and Cell Physiology*, 46(8), 1384-1391.
- Sun, Y., Veerabomma, S., Fokar, M., Abidi, N., Hequet, E., Payton, P., ve Allen, R. D. (2015). Brassinosteroid signaling affects secondary cell wall deposition in cotton fibers. *Industrial Crops and Products*, 65, 334-342.

- Szekeres, M., Németh, K., Koncz-Kálmán, Z., Mathur, J., Kauschmann, A., Altmann, T., Rédei, G. P., Nagy, F., Schell, J., ve Koncz, C. (1996). Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in Arabidopsis. *Cell*, 85(2), 171-182.
- Tang, W., Tu, L., Yang, X., Tan, J., Deng, F., Hao, J., Guo, K., Lindsey, K., ve Zhang, X. (2014). The calcium sensor GhCaM7 promotes cotton fiber elongation by modulating reactive oxygen species (ROS) production. *New Phytologist*, 202(2), 509-520.
- Tang, W., Yuan, M., Wang, R., Yang, Y., Wang, C., Osés-Prieto, J. A., Kim, T.-W., Zhou, H.-W., Deng, Z., ve Gampala, S. S. (2011). PP2A activates brassinosteroid-responsive gene expression and plant growth by dephosphorylating BZR1. *Nat Cell Biol*, 13(2), 124-131.
- Tedeschi, A., Volpe, M. G., Polimeno, F., Siano, F., Maglione, G., Di Tommasi, P., Vasca, E., Magliulo, V., ve Vitale, L. (2020). Soil fertilization with urea has little effect on seed quality but reduces soil N<sub>2</sub>O emissions from a hemp cultivation. *Agriculture*, 10(6), 240.
- Todd, J., Song, H., ve Acker, R. (2022). Does pollination alter the cannabinoid composition and yield of extracts from hemp (*Cannabis sativa* L. cv. Finola) flowers? *Industrial Crops and Products*, 183, 114989.
- Tsaliki, E., Kalivas, A., Jankauskiene, Z., Irakli, M., Cook, C., Grigoriadis, I., Panoras, I., Vasilakoglou, I., ve Dhima, K. (2021). Fibre and seed productivity of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) varieties under mediterranean conditions. *Agronomy*, 11(1), 171.
- URL-1. Gene Structure Display Server, <http://gsds.gao-lab.org/>, Erişim tarihi: 22.10.2024
- URL-2. Expasy PROTPARAM, [web.expasy.org/protparam](http://web.expasy.org/protparam), Erişim tarihi: 22.10.2024
- URL-3. Multiple Em for Motif Elicitation, <https://meme-suite.org/meme/>, Erişim tarihi: 22.10.2024
- URL-4. AlphaFold, <https://alphafold.ebi.ac.uk/>, Erişim tarihi: 22.10.2024
- URL-5. STRING, <https://string-db.org/>, Erişim tarihi: 22.10.2024
- Van Bakel, H., Stout, J. M., Cote, A. G., Tallon, C. M., Sharpe, A. G., Hughes, T. R., ve Page, J. E. (2011). The draft genome and transcriptome of *Cannabis sativa*. *Genome Biology*, 12, 1-18.
- Vardhini, B. V., ve Anjum, N. A. (2015). Brassinosteroids make plant life easier under abiotic stresses mainly by modulating major components of antioxidant defense system. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 67.

- Vaswani, A., Shazeer, N., Parmar, N., Uszkoreit, J., Jones, L., Gomez, A. N., Kaiser, L., ve Polosukhin, I. (2017). Attention Is All You Need. *arXiv preprint arXiv:1706.03762*.
- Vera, C. L., Maloney, R., ve Rowland, G. G. (2005). Evaluation of hemp (*Cannabis sativa* L.) genotypes for agronomic performance and stem quality. *Industrial Crops and Products*, 21(1), 3–7.
- Vierstra, R. D. (2009). The ubiquitin–26S proteasome system at the nexus of plant biology. *Nature reviews Molecular cell biology*, 10(6), 385-397.
- Vogel, C., ve Chothia, C. (2006). Protein family expansions and biological complexity. *PLoS computational biology*, 2(5), e48.
- Wang, H., Avci, U., Nakashima, J., Hahn, M. G., Chen, F., ve Dixon, R. A. (2010). Mutation of WRKY transcription factors initiates pith secondary wall formation and increases stem biomass in dicotyledonous plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(51), 22338-22343.
- Wang, H., Cimen, E., Singh, N., ve Buckler, E. (2020). Deep learning for plant genomics and crop improvement. *Current Opinion in Plant Biology*, 54, 34-41.
- Wang, X., Zhang, J., Yuan, M., Ehrhardt, D. W., Wang, Z., ve Mao, T. (2012). Arabidopsis microtubule destabilizing protein40 is involved in brassinosteroid regulation of hypocotyl elongation. *Plant Cell*, 24(10), 4012-4025.
- Wang, Y., Chantreau, M., Sibout, R., ve Hawkins, S. (2013). Plant cell wall lignification and monolignol metabolism. *Front Plant Sci*, 4, 220.
- Wang, Y., Zhuang, Z., Rasheed, A., Haq, I. U., Abbasi, A., Ahmed, S., Wang, Y., Khan, M. T., Sardar, R., ve Peng, Y. (2010). Nitric oxide mediates brassinosteroid-induced ABA biosynthesis involved in oxidative stress tolerance in maize leaves. *Plant and Cell Physiology*, 52(1), 181-192.
- Wei, S., Li, X., Lu, Z., Zhang, H., Ye, X., Zhou, Y., Li, J., Yan, Y., Pei, H., ve Duan, F. (2022). A transcriptional regulator that boosts grain yields and shortens the growth duration of rice. *Science*, 377(6604), eabi8455.
- Weijers, D., ve Wagner, D. (2016). Transcriptional responses to the auxin hormone. *Annual Review of Plant Biology*, 67(1), 539-574.
- Werf, H. v. d., Mathussen, E., ve Haverkort, A. (1996). The potential of hemp (*Cannabis sativa* L.) for sustainable fibre production: a crop physiological appraisal. *Annals of Applied Biology*, 129(1), 109-123.
- Westerhuis, W., Amaducci, S., Struik, P., Zatta, A., Van Dam, J., ve Stomph, T. (2009). Sowing density and harvest time affect fibre content in hemp (*Cannabis sativa*) through their effects on stem weight. *Annals of Applied Biology*, 155(2), 225-244.

- Wiese, A. J., Steinbachová, L., Timofejeva, L., Čermák, V., Klodová, B., Ganji, R. S., Limones-Mendez, M., Bokvaj, P., Hafidh, S., ve Potěšil, D. (2021). Arabidopsis bZIP18 and bZIP52 accumulate in nuclei following heat stress where they regulate the expression of a similar set of genes. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 530.
- Xie, L., Yang, C., ve Wang, X. (2011). Brassinosteroids can regulate cellulose biosynthesis by controlling the expression of CESA genes in Arabidopsis. *Journal of Experimental Botany*, 62(13), 4495-4506.
- Xiong, Z., Cui, Y., Liu, Z., Zhao, Y., Hu, M., ve Hu, J. (2020). Evaluating explorative prediction power of machine learning algorithms for materials discovery using k-fold forward cross-validation. *Computational Materials Science*, 171, 109203.
- Yang, Z., Liu, Z., Ge, X., Lu, L., Qin, W., Qanmber, G., Liu, L., Wang, Z., ve Li, F. (2023). Brassinosteroids regulate cotton fiber elongation by modulating very-long-chain fatty acid biosynthesis. *Plant Cell*, 35(6), 2114-2131.
- Yang, Z., Qanmber, G., Wang, Z., Yang, Z., ve Li, F. (2020). Gossypium genomics: trends, scope, and utilization for cotton improvement. *Trends in Plant Science*, 25(5), 488-500.
- Yang, Z., Zhang, C., Yang, X., Liu, K., Wu, Z., Zhang, X., Zheng, W., Xun, Q., Liu, C., ve Lu, L. (2014). PAG1, a cotton brassinosteroid catabolism gene, modulates fiber elongation. *New Phytologist*, 203(2), 437-448.
- Ye, H., Li, L., Guo, H., ve Yin, Y. (2012). MYBL2 is a substrate of GSK3-like kinase BIN2 and acts as a corepressor of BES1 in brassinosteroid signaling pathway in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(49), 20142-20147.
- Ye, Q., Zhu, W., Li, L., Zhang, S., Yin, Y., Ma, H., ve Wang, X. (2010). Brassinosteroids control male fertility by regulating the expression of key genes involved in Arabidopsis anther and pollen development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(13), 6100-6105.
- Yin, Y., Vafeados, D., Tao, Y., Yoshida, S., Asami, T., ve Chory, J. (2005). A new class of transcription factors mediates brassinosteroid-regulated gene expression in Arabidopsis. *Cell*, 120(2), 249-259.
- Yin, Y., Wang, Z.-Y., Mora-Garcia, S., Li, J., Yoshida, S., Asami, T., ve Chory, J. (2002). BES1 accumulates in the nucleus in response to brassinosteroids to regulate gene expression and promote stem elongation. *Cell*, 109(2), 181-191.
- Yu, X., Li, L., Li, L., Guo, M., Chory, J., ve Yin, Y. (2008). Modulation of brassinosteroid-regulated gene expression by Jumonji domain-containing proteins ELF6 and REF6 in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(21), 7618-7623.
- Yu, X., Li, L., Zola, J., Aluru, M., Ye, H., Foudree, A., Guo, H., Anderson, S., Aluru, S., ve Liu, P. (2011). A brassinosteroid transcriptional network revealed by

- genome-wide identification of BES1 target genes in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 65(4), 634-646.
- Zampori, L., Dotelli, G., ve Vernelli, V. (2013). Life cycle assessment of hemp cultivation and use of hemp-based thermal insulator materials in buildings. *Environmental Science ve Technology*, 47(13), 7413-7420.
- Zhang, A., Zhang, J., Zhang, J., Ye, N., Zhang, H., Tan, M., ve Jiang, M. (2011). Nitric oxide mediates brassinosteroid-induced ABA biosynthesis involved in oxidative stress tolerance in maize leaves. *Plant and Cell Physiology*, 52(1), 181-192.
- Zhang, G., Li, M., Tang, Q., Meng, F., Feng, P., ve Chen, W. (2024). MulCNN-HSP: A multi-scale convolutional neural networks-based deep learning method for classification of heat shock proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 257, 128802.
- Zhang, Y., Mo, Q., Xue, L., ve Luo, J. (2021). Evaluation of deep learning approaches for modeling transcription factor sequence specificity. *Genomics*, 113(6), 3774-3781.
- Zhang, Y., Yu, H., Yang, X., Li, Q., Ling, J., Wang, H., Gu, X., Huang, S., ve Jiang, W. (2016). CsWRKY46, a WRKY transcription factor from cucumber, confers cold resistance in transgenic-plant by regulating a set of cold-stress responsive genes in an ABA-dependent manner. *Plant Physiol Biochem*, 108, 478-487.
- Zhao, B., Cao, J. F., Hu, G. J., Chen, Z. W., Wang, L. Y., Shangguan, X. X., Wang, L. J., Mao, Y. B., Zhang, T. Z., ve Wendel, J. F. (2018). Core cis-element variation confers subgenome-biased expression of a transcription factor that functions in cotton fiber elongation. *New Phytologist*, 218(3), 1061-1075.
- Zhao, J., Peng, P., Schmitz, R. J., Decker, A. D., Tax, F. E., ve Li, J. (2002). Two putative BIN2 substrates are nuclear components of brassinosteroid signaling. *Plant Physiol*, 130(3), 1221-1229.
- Zhen, W., Yao-Lei, M., Xiang-Xiao, M., Hui-Hua, W., Ai-Jia, J., Wei, S., ve Wei, M. (2020). Genome-wide analysis of LBD (lateral organ boundaries domain) gene family in *Cannabis sativa* of traditional Chinese medicine hemp seed. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo Zhongyao Zazhi= China Journal of Chinese Materia Medica*, 45(22), 5477-5486.
- Zhong, R., ve Ye, Z.-H. (2009). Transcriptional regulation of lignin biosynthesis. *Plant Signaling ve Behavior*, 4(11), 1028-1034.
- Zhou, J., Lee, C., Zhong, R., ve Ye, Z.-H. (2009). MYB58 and MYB63 are transcriptional activators of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 21(1), 248-266.
- Zhou, Y., Zhang, Z. T., Li, M., Wei, X. Z., Li, X. J., Li, B. Y., ve Li, X. B. (2015). Cotton (*Gossypium hirsutum*) 14-3-3 proteins participate in regulation of fibre initiation and elongation by modulating brassinosteroid signalling. *Plant Biotechnology Journal*, 13(2), 269-280.

Zhu, Y., Guo, J., Feng, R., Jia, J., Han, W., ve Gong, H. (2016). The regulatory role of silicon on carbohydrate metabolism in *Cucumis sativus* L. under salt stress. *Plant and Soil*, 406(1-2), 231-249.

Žugić, A., Martinović, M., Tadić, V., Rajković, M., Racić, G., Nešić, I., ve Koren, A. (2024). Comprehensive Insight into Cutaneous Application of Hemp. *Pharmaceutics*, 16(6), 748.





# **EKLER**

## EK 1. Kenevir Yetiştirme İzni



T.C.  
KASTAMONU VALİLİĞİ  
İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

10 Ek-1  
T.C. TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI

Sayı : E-25224248-105.10-12884069

22.01.2024

Konu : Kenevir Ekimi İzin Belgesi (Araştırma  
Amaçlı Kastamonu Üniversitesi)

VALİLİK MAKAMINA

Ek-4/B

<b>T.C. Kastamonu Valiliği İl Tarım ve Orman Müdürlüğü Bilimsel Araştırma Amacıyla Kenevir Yetiştiriciliği İzin Belgesi</b>	
<b>Araştırma Projesinin Yürütüldüğü Kurum</b>	
Araştırma Kurumunun Adı	Kastamonu Üniversitesi Tel No :036628008-05383757626
Adresi	Kuzeykent Mahallesi Org. Atilla ATEŞ Paşa Caddesi Kapı No:15 B Kastamonu Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Merkez/KASTAMONU
Araştırma Projesinin Adı	Brassinosteroidlerle Kenevir Lif Gelişiminin Aydınlatılması: Yerli Kenevir Çeşitlerinde Transkriptomik ve Morfolojik Yaklaşım
<b>Araştırma Projesinin Yürütüleceği Yer</b>	
İli	Kastamonu
İlçesi	Merkez
Köyü/	Göl Emirler
Mevkii	Kastamonu Üniversite Kampüsü mühendislik ve Mimarlık Fakültesi laboratuvarı
Ada/ Parsel No	160 ADA 8 PARSEL (Üniversite Laboratuvarı)
Yetiştiricilik Alanının Yüzölçümü	602,607Da (8,00 m2 izin verilen)
Yukarıda belirtilen kurumun "Brassinosteroidlerle Kenevir Lif Gelişiminin Aydınlatılması: Yerli Kenevir Çeşitlerinde Transkriptomik ve Morfolojik Yaklaşım" adlı projesi kapsamında, bilimsel araştırma amacıyla yukarıda belirtilen yerde kenevir yetiştiriciliği yapmasına izin verilmiştir.	

Özcan GAZİOĞLU  
İl Müdürü V.

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu: 36B2DF8D-7BC0-4E52-9051-76EFE86B39D8

Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/tarim-ebys>

Kastamonu İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

Tel: (0366) 214 31 44

Fax: (0366) 214 31 44

KEP Adresi : [tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr](mailto:tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr)

Bilgi için: Cemal ÖZDEMİR  
Tekniker



## EK 1'in devamı

Ek-1

Uygun görüŖle arz ederim.  
Ahmet ATILKAN  
Vali Yardımcısı

OLUR  
Meftun DALLI  
Vali

Ek:

- 1 - Başvuru ve proje (16 Sayfa)
- 2 - Arazi Kontrol Tutanağı (1 Sayfa)
- 3 - Cumhuriyet Başsavcılığı Gelen yazı (1 Sayfa)

Dağıtım:

Kastamonu Valiliğine  
(Kastamonu İl Tarım ve Orman Müdürlüğü)

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu: 36B2DF8D-7BC0-4E52-9051-76EFE86B39D8

Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/tarim-ebys>

Kastamonu İl Tarım ve Orman Müdürlüğü

Tel: (0366) 214 31 44

Fax: (0366) 214 31 44

KEP Adresi : [tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr](mailto:tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr)

Bilgi için: Cemal ÖZDEMİR  
Tekniker

