

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI İLERİ ÇIKMIŞ FASULYE HATLARINDA, HALE YANIKLIĞI (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) ve ADI YAPRAK YANIKLIĞI (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) HASTALIKLARINA KARŞI DAYANIKLILIK GENLERİNİN
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MESUT TOPAL

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. İSMAİL POYRAZ

BİLECİK, 2023

10528570

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**BAZI İLERİ ÇIKMIŞ FASULYE HATLARINDA, HALE YANIKLIĞI (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) ve ADI YAPRAK YANIKLIĞI (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) HASTALIKLARINA KARŞI DAYANIKLILIK GENLERİNİN
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MESUT TOPAL

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. İSMAİL POYRAZ

BİLECİK, 2023

10528570

BEYAN

“Bazı ileri çıkmış fasulye hatlarında, hale yanıklığı (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) ve adi yaprak yanıklığı (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) hastalıklarına karşı dayanıklılık genlerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi” adlı yüksek lisans yeterlik tezi projesinin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu çalışmanın, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte, ETİK KURUL onayı alınması durumunda ise ETİK KURUL tarih karar ve sayı bilgilerinin beyan edilmesi gerekmektedir.	
DESTEK ALINMIŞTIR	X
DESTEK ALINMAMIŞTIR	
Destek alındı ise;	
Destekleyen kurum; Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü	
Desteğin Türü	Proje Numarası
1- BAP (Bilimsel Araştırma Projesi)	E-62430653-903.99-5544600
2- TÜBİTAK	
Diğer; Enstitü Araştırma Projesi	
ETİK KURUL onayı varise;	
ETİK KURUL karar tarih/sayı:	/.....

Mesut TOPAL

.../.../2023

İmza

ÖN SÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana destek olan, bilgilerini aktaran ve her daim yanımda olan danışman hocam sayın Doç. Dr. İsmail POYRAZ'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisansa başlamam konusunda beni yüreklendiren ve desteğini esirgemeyen Enstitü müdürümüz Dr. Sabri ÇAKIR'a, bölüm başkanım Dr. Evren ATMACA'ya ve Abdullah Taner KILINÇ'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Laboratuvar analizlerimin, Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ndeki ayağında bana yardımcı olan Özcan YORGANCILAR'a, Zeynep SİREL YEŞİLDAĞ'a, Çağrı OVAYURT'a, Nermin KALIN'a ve Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Biyoteknoloji laboratuvarındaki çalışmalarımda yardımcı olan Burcu BOZ ÖZMEN'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Okul hayatım boyunca hep yanımda olan, beni her koşulda destekleyen ve sabreden eşim Endam TOPAL'a ve çocuklarıma teşekkürlerimi sunarım.

Mesut TOPAL

2023

ÖZET

BAZI İLERİ ÇIKMIŞ FASULYE HATLARINDA, HALE YANIKLIĞI (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) ve ADI YAPRAK YANIKLIĞI (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) HASTALIKLARINA KARŞI DAYANIKLILIK GENLERİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Yemeklik tane baklagiller önemli protein kaynağı olmaları sebebiyle özellikle gelişmekte olan ülkeler için ayrıcalıklı yere sahiptirler. Baklagiller familyasından fasulyenin taneleri, zengin karbonhidrat ve protein içeriği ile verdikleri yüksek kalorinin yanı sıra, çok lezzetli olmaları sebebiyle dünyada ve ülkemizde yoğun olarak tüketilmektedir. Bakteriyel fasulye hastalıkları, hem düşük verime hem de ekonomik olmayan kimyasal tarım ilacı kullanımına sebep olmaktadır. Hastalıklarla mücadelede dirençli fasulye çeşitlerinin geliştirilmesi için markör destekli seleksiyonun (MAS) kullanıldığı ıslah çalışmaları alternatif bir yöntemdir. Bu çalışmada, Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü (GKTAEM) melezleme çalışmalarındaki fasulyelerde (*Phaseolus vulgaris* L.), hale yanıklığı (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) ve adi yaprak yanıklığı (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) hastalıklarına karşı direnç gen profillerinin özgül moleküler markörler ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Melezleme yolu ile geliştirilen fasulye varyetelerine ait sırik ve bodur genotiplerini içeren yetmiş iki ileri çıkmış hat kullanılmıştır. Fasulye örneklerinden DNA izolasyonları ticari kit kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) çoğaltımları, hale yanıklığı (HY) hastalığına karşı dört adet ve adi yaprak yanıklığına (AYY) hastalığına karşı yedi adet SCAR (diziye karakterize çoğaltılmış bölge) markörü kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR ürünleri, etidyum bromür içeren agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve görüntülenmiştir. Direnç gen profil analizleri sonucunda 20-SBD-25, 20-SBarBD-12 ve 20-SD-10 fasulye hatları, diğerlerinden daha fazla gen içererek öne çıkmıştır. Çalışma sonucunda yetmiş iki fasulye hattının direnç gen profillerine ait veriler MAS kapsamında doğrudan kullanılabilir niteliktedir. Bu çalışma, ülkemizde fasulye bakteriyel hastalıklarına dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesine yönelik ıslah çalışmalarının ebeveyn seleksiyonuna katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Fasulye, Hale Yanıklığı, Adi Yaprak Yanıklığı, MAS, SCAR Markörler.

ABSTRACT

DETERMINATION OF RESISTANCE GENES AGAINST HALO BLIGHT (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) AND COMMON LEAF BLIGHT (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) IN SOME ADVANCED BEAN LINES USING MOLECULAR METHODS

Since legumes are an essential source of protein, they have a privileged place, especially in developing countries. Bean grains from the legumes family are consumed extensively in the world and in our country, due to their rich carbohydrate and protein content, as well as their high calories, as well as being deliciousness. Bacterial bean diseases cause both low yield and uneconomical use of chemical pesticides. Breeding studies using marker-assisted selection (MAS) is an alternative method for developing resistant bean varieties in the fight against diseases. In this study, it was aimed that determine of resistance gene profiles against halo blight (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) and common leaf blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) diseases in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in GKTAEM (Eskişehir Transitional Zone Agricultural Research Institute) crossbreeding studies, using specific molecular markers. Seventy-two advanced lines including pole and dwarf genotypes of bean varieties developed by crossbreeding were used. DNA isolations from bean samples were performed using a commercial kit. PZR (polymerase chain reaction) amplifications were performed using four SCAR (sequence characterized amplified region) markers against halo blight (HB: HY) and seven SCAR markers against common leaf blight (CLB: AYY). PZR products were run and visualized in agarose gel electrophoresis with ethidium bromide. Results of the resistance gene profile analysis showed that the 20-SBD-25, 20-SBarBD-12, and 20-SD-10 bean lines containing more genes than the others stood out. As a result of the study, the data of the resistance gene profiles of seventy-two bean lines can be used directly within the scope of MAS. This study will contribute to the parental selection of breeding studies for the development of bean bacterial diseases resistant varieties in our country.

Keywords: Bean, Halo Blight, Common Leaf Blight, MAS, SCAR Markers.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No_Toc128041935

ÖN SÖZ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Türkiye’de Baklagiller	1
1.2. Fasulye	2
1.2.1. Fasulyenin Önemi	3
1.3. Fasulyede Bakteriyel Hastalıklar	4
1.3.1 Fasulye Adi Yaprak Yanıklığı (<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i>).....	4
1.3.2. Fasulye Hale Yanıklığı (<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>)	5
1.4. Bakteriyel Hastalıklarla Mücadele Yöntemleri:.....	6
1.4.1. Kültürel Önlemler.....	6
1.4.2. Kimyasal Kontrol.....	7
1.5. Fasulyede Hastalık Direnci.....	7
1.5.1. Bakteriyel Hastalıklara Direnç	8
1.6. Markör Destekli Seleksiyon	8
1.6.1. Moleküler Markörler.....	9
1.6.1.1. SCAR Markörler	9
1.7. Fasulyede Bakteriyel Hastalıklar Üzerine Yapılan Çalışmalar	9
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
2.1. Materyal	11
2.2. Yöntem.....	12

2.2.1. Tohumların Çimlendirilmesi ve Yaprak Örneklerinin Alınması.....	12
2.2.2. DNA İzolasyonu, Nanodrop UV-Spektrofotometre ile Miktar ve Kalite Tayini	12
2.2.3. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Analizleri	15
2.2.4. PZR Ürünlerinin Agaroza Jel Elektroferezinde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi.....	18
3. BULGULAR	19
4. SONUÇ	34
KAYNAKÇA	39

TABLÖLER LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1.1. Türkiye’de son 10 yılda dekara baklagil verimleri	2
Tablo 1.2. Türkiye’de son 10 yılda kuru fasulye ekim alanları.....	3
Tablo 2.1. İleri çıkmış kuru kasulye hatlarının listesi	11
Tablo 2.2. Örneklerin nükleik asit konsantrasyonu ve kalite miktarları	14
Tablo 2.3. Çalışmada kullanılan SCAR primerlerin hastalık tipi, dizi ve literatür kaynak bilgileri.	15
Tablo 2.4. SCAR Primerlerin oturma ısıları (T _m °C) ve PZR ürün boyutları (bç).	16
Tablo 2.5. PZR Bileşenleri protokolü,1X ve 72X için kullanım miktarları	17
Tablo 3.1. 1-72 Fasulye örnekleri ve direnç gen durumları. ✓:Direnç geni var, - : Direnç geni yok	30
Tablo 3.2. PZR ürünlerinin hastalık ve verim denemelerine göre dağılımı	33

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Fasulye bitkisi	3
Şekil 1.2. Yapraklarda fasulye adi yaprak yanıklığı	5
Şekil 1.3. Yapraklarda hale yanıklığı	6
Şekil 2.1. Fasulye yapraklarının sıvı azotta öğütülmesi	12
Şekil 2.2. Nanodrop UV-Spektrofotometre ile DNA'nın kalite ölçümü	13
Şekil 2.3. 100 Bç DNA ladder.	18
Şekil 2.4. Elektroforezde örneklerin yürütülmesi.	18
Şekil 3.1. SR13 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1150 bç.	19
Şekil 3.2. SR13 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1150 bç.	20
Şekil 3.3. ST8 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1350bç.	20
Şekil 3.4. ST8 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1350bç.	21
Şekil 3.5. SH11 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 800bç	21
Şekil 3.6. SH11 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 800bç	22
Şekil 3.7. SB10 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100 bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 525bç	22
Şekil 3.8. SB10 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 525bç	23
Şekil 3.9. SAP6 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 820bç	23

ŞEKİLLER LİSTESİ (Devam Ediyor)

Şekil 3.10. SAP6 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 820bç	24
Şekil 3.11. BAC6 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1250bç	24
Şekil 3.12. BAC6 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M:100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1250bç	25
Şekil 3.13. SU91 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 700bç	25
Şekil 3.14. SU91 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M:100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 700bç	26
Şekil 3.15. BC420 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 900bç	26
Şekil 3.16. BC420 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 900bç.....	27
Şekil 3.17. R7313 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 700bç	27
Şekil 3.18. R7313 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 700bç	28
Şekil 3.19. R4865 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 950bç	28
Şekil 3.20. R4865 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 950bç	29
Şekil 3.21. NPP primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 956bç	29
Şekil 3.22. NPP primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 956bç	30
Şekil 4.1. Fasulye hatlarının direnç gen profillerine göre benzerlik dendrogramı	37

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

A.Y.Y.	: Adi Yaprak Yanıklığı
AFLP	: Çoğaltılmış fragman uzunluğu polimorfizmi
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
BBarBD	: Bodur Barbunya Bölge Denemesi
BBD	: Bodur Bölge Denemesi
bç	: Baz Çifti
BD	: Bodur Denemesi
BÜGEM	: Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü
dk.	: Dakika
dH₂O	: Deiyonize su
DNA	: Deoksiribo nükleik Asit
dNTP	: DNA nükleotit bazları
EDTA	: Etilendiamin-Tetra Asetik Asit
F	: Forward
g	: Gram
H.Y.	: Hale Yanıklığı
ISSR	: Inter simple sequence repeat
Kg	: Kilogram
mA	: Miliamper
MAS	: Markör destekli seleksiyon
mg	: Miligram
MgCl₂	: Magnezyum klorür
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
ng	: Nanogram

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ (Devam Ediyor)

P.	: <i>Phaseolus</i> - Fasulye
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
R	: Reverse
RAPİD	: Rastgele Arttırılmış Polimofik DNA
RPM	: Dakikadaki Dönme Sayısı
SBarBD	: Sırik Barbunya Bölge Denemesi
SBD	: Sırik Bölge Denemesi
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Regions - Diziye Karakterize Çoğaltılmış Bölgeler
SD	: Sırik Denemesi
SSR	: Basit Dizi Tekrarları
TAGEM	: Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TBE	: Tris / Borik asit / EDTA
Tm°C	: Primer oturma ısısı
TÜBİTAK	:Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
Ü.B.	: Ürün Boyutu
%	: Yüzde
°C	: Santigrat

1. GİRİŞ

Yemeklik tane baklagiller önemli protein kaynağı olmaları sebebiyle özellikle gelişmekte olan ülkeler için ayrıcalıklı yere sahiptirler. Dünyada insan beslenmesindeki bitkisel karbonhidratların %7'si, proteinlerin %22'si; hayvan beslenmesindeki karbonhidratların %5'i ve proteinlerin %38'i yemeklik tane baklagillerden sağlanmaktadır. Bileşiminde %18-31,6 oranında protein içeren yemeklik tane baklagiller, beslenme sorununun çözümünde ve beslenmedeki protein açığının giderilmesinde ekonomik ve etkin ürün grubunu oluşturmaktadırlar (Adak vd., 2010).

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), insan beslenmesinde yeri ve önemi her geçen gün artan bir kültür bitkisidir. Fasulye taneleri, zengin karbonhidrat ve protein içeriği ile verdikleri yüksek kaloringin yanı sıra, çok lezzetli olmaları sebebiyle Dünyada ve ülkemizde yoğun olarak tüketilmektedir (Özkaya, 2013).

Başlıca protein kaynaklarımız, bitkisel ve hayvansal ürünlerdir. Bitkisel ürünlerden baklagillerin kuru taneleri cins, tür, çeşit, yetiştirme tekniklerine ve çevre koşullarına göre değişiklik göstermektedir (Çakır vd., 2016). Çeşitli nedenlerle hayvansal proteinlerden yeterince yarar sağlanamadığı durumlarda, bitkisel protein kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu noksanlığın giderilmesinde de yemeklik tane baklagiller oldukça önem arz etmektedir (Adak, 2014).

Gerek iklim koşulları gerek ülkelerin çevresel yönetim planlarına bakliyatların en uygun ürünler olması, gerekse de bakliyat ürünlerinin insan tüketimi haricinde balık yemi, hayvan yemi ve ihracat dahil olmak üzere çeşitli pazarlar için kullanılabilir hale gelmesi baklagil ekim alanlarını arttıracaktır. Ancak konteyner sıkıntısı ve artan navlun fiyatlarından dolayı, limanlarda oluşan tıkanıklar nedeni ile ülkelerin kuru fasulye teminlerinde ve tarladan işleme merkezlerine ürün nakliyesinde sıkıntılar mevcuttur (BÜGEM, 2022).

1.1. Türkiye’de Baklagiller

Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde yetiştirilen yemeklik tane baklagiller Türk mutfağının ve özellikle dar gelirli ailelerin protein kaynağını oluşturmaktadır. Baklagiller, ihracat potansiyelleri, istihdama olan katkıları, ekim nöbetine kolayca girebilmeleri, nadas alanlarının azaltılmasında etkili olmaları, besin değeri yönünden zengin olmaları nedeniyle üretim ve tüketimde önemli bir ürün grubudur. Baklagiller, havanın serbest azotunu toprağa bağlayarak toprak verimliliğini artırmaları nedeniyle tarımsal üretimin sürdürülebilirliği ve çevre koruma açısından da önemlidirler. Bitkisel üretim içerisinde ekim alanı ve üretim

yönünden büyük bir paya sahip olan tahıllar ve yemeklik tane baklagiller ülkemizin ekolojik özelliklerine en iyi uyum gösteren bitkilerdir (TAGEM, 2019).

Türkiye’de tarla bitkileri üretimi yapılan toplam alanın yaklaşık %74’ünü oluşturan tahıllar birinci, %8,3 nü oluşturan yemeklik tane baklagiller ise ikinci sırada yer almaktadır. Ülkemizde yemeklik tane baklagil üretimi yapılan bu alanın %47,1’ne nohut, %40,4’üne mercimek, %10,4’üne kuru fasulye ve %1,3’ne ise bakla ekilmekte olup, toplam yemeklik tane baklagiller üretimimizin %43,3’ünü nohut, %40,5’ini mercimek, %12,6’sını kuru fasulye ve %2,7’sini ise bakla oluşturmaktadır (Özkaya, 2013).

1.2. Fasulye

Fasulye olarak bilinen *Phaseolus vulgaris* L., protein ve mikro besinler açısından zengin olan olgunlaşmamış baklaları ve kuru tohumları nedeniyle dünya çapında yetiştirilen en önemli dane baklagillerden biridir. Fasulye, dünyadaki gıda kıtlığını ve yetersiz beslenmeyi iyileştirmek için ucuz bir protein ve gıda kaynağı sunar (Ugвуanyı vd., 2022).

Yemeklik dane baklagiller familyası Rhizobium bakterisiyle havanın serbest azotunu bitkiye kazandırması ile simbiyotik ortaklık içerisindedir. Köklerde yer alan bakteriyle ekim sonrası toprağa azot ve organik madde kazandırdığından, baklagiller iyi bir ekim nöbeti bitkisi durumuna gelmektedir (Türkmen vd., 2016).

Ülkemizde son yıllarda yapılan ıslah çalışmaları ile fasulyenin dekara verimi daha çok artmıştır. TÜİK verilerine göz atıldığında 2021 yılında fasulye üretimi dekara 283 kg olurken bezelye 266 kg ve bakla 252 kg’la onu takip etmiştir (Tablo 1.1.).

Tablo 1.1. Türkiye’de son 10 yılda dekara baklagil verimleri

Kuru baklagiller, 2012-2021 -Verim (Kg / Dekar)						
	Bakla	Bezelye	Nohut	Kuru Fasulye	Kırmızı Mercimek	Yeşil Mercimek
2012	216	220	124	215	191	123
2013	252	256	119	230	152	106
2014	253	260	116	236	140	117
2015	256	281	128	251	164	122
2016	274	268	127	262	147	119
2017	278	284	119	266	149	129
2018	277	287	122	259	128	126
2019	285	281	121	253	128	110
2020	262	279	123	271	157	112
2021	252	266	97	283	88	73

Kaynak: (TÜİK, 2022a.)

1.2.1. Fasulyenin Önemi

İnsan en gelişmiş birey olduğu halde proteinlerin yapı taşları olan amino asitleri sentezleme yeteneğine sahip değildir. Aminoasitlerin sekiz tanesi (izolösin, lösin, valin, lizin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan) insanların günlük besinleriyle mutlaka karşılanmalıdır. İnsan beslenmesinde bitkisel proteinlere göre hayvansal proteinler daha uygun olmasına rağmen, baklagiller protein ve aminoasit kapsamı yönünden hayvansal kaynaklarla boy ölçüşebilir durumdadır. Baklagil türlerinin birim alandan temel amino asit üretimleri arasında farklılıklar vardır. Fakat baklagil olmayan bitkiler ve hayvansal ürünlere oranla daha fazla amino asit ürettikleri de saptanmıştır. Bundan dolayı beslenmede protein açığının giderilmesi yönünden fasulye, ekonomik ve daha etkin bitki grubunu oluşturmaktadır (Şehirali, 1988).



Şekil 1.1.Fasulye bitkisi

Tablo 1.2. Türkiye’de son 10 yılda fasulye ekim alanları

Yıl	Toplam Alan (Dekar)
2012	931740
2013	847630
2014	911103
2015	935840
2016	898197
2017	897221
2018	848045
2019	889385
2020	1029857
2021	1077964

Kaynak: (TÜİK, 2022b)

Birim alandan elde edilen maksimum tane verimine tohumluk olarak kullanılan fasulye çeşidinin genetik performansı etki ettiği gibi çevre şartları ve buna bağlı olarak da ortaya çıkan çeşitli hastalıklar da etki etmektedir. Fasulye tane verimi üzerine önemli derecede etki eden ve iklime bağlı olarak ortaya çıkan hastalıkları etmenlerine göre 3 grupta toplayabiliriz. Bunlar:

1-Bakteriyel hastalıklar 2- Fungal (mantar) hastalıkları 3- Viral (virüs) hastalıkları

1.3. Fasulyede Bakteriyel Hastalıklar

Bakteriyel hastalık etmenleri bitkilerde, sürgünlerde ve yapraklarda lekeler, bazı bitki organlarında yumuşak çürüklükler, sürgünlerde kurumalar, solgunluk ve bitkinin çeşitli organlarında ur şeklinde ortaya çıkan belirtiler yapmaktadırlar. Bitkilerde hastalık yapan bakteriler bitki dokusuna ya doğal açıklıklardan ya da çeşitli yaralardan girmektedirler. Bulaşık topraktaki bakteriler, hastalıklı bitki artıklarında, toprakta hatta bulaştığı üretim aletlerinde 1-3 yıl arası canlı kalabilirler. Bakteri tarlaya bulaşmış ise bu alanlarda ekim nöbeti uygulanmalı ve aynı bitkinin bu süreler içinde tarımından vazgeçilmelidir. Hastalıkla bulaşık sürgünler ve dallar temizlendikten sonra mutlaka yakılması gereklidir. İlaçlı mücadelesi mümkün olan bakteri türlerinin en duyarlı oldukları ilaçlar Bordo bulamacı ve hazır Bakır'lı preparatlarıdır. Bakterilerin çoğu 37°C, bir bölümü ise 45°C'nin üzerinde seyreden sıcaklık şartlarında yaşayamaz ve ölürler (Erman vd., 2009).

1.3.1 Fasulye Adi Yaprak Yanıklığı (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*)

Adi yaprak yanıklığı sıcak hava hastalığıdır ve bitkilere en büyük hasar sıcaklık 28-32°C olduğunda ortaya çıkar. Bu koşullar, bitki büyümesinin erken çiçeklenme döneminden ve geç vejetatif döneminde yaygın olarak görülür. Sıcak ve nemli havalarda uzun süre yüksek oranda yıkıcı olabilir, bu da verim ve tohum kalitesinde azalmaya neden olur. Hastalık kontamine tohumla ortaya çıkabilir; ürün döküntülerinde bakteri kışlar ve hastalık sıcak havalarla birlikte en fazla nemli, yağışlı hava koşullarında yayılır (Harveson ve Schwartz, 2007).

Bazı yağışlar yoğun sis veya uzun yağmurlama sulamadan sonra, bakla üzerindeki lezyonlar bakterilerle kaplanır. Fasulye tohumlarında, tohum kabuğu boyunca sarı veya kahverengi lekeler görülebilir. Tohumlar ciddi şekilde enfekte olduğunda küçülürler ve ekildiklerinde uygun şekilde çimlenmezler veya çimlenenler zayıf görünür (Muedi ve Fourie, 2014).



Şekil 1.2. Yapraklarda fasulye adi yaprak yanıklığı

1.3.2. Fasulye Hale Yanıklığı (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*)

Hale yanıklığı belirtileri ilk önce yaprakların alt yüzeylerinde köşeli, küçük, suyla ıslanmış noktalar (neredeyse küçük iğne batmalarını andıran) olarak ortaya çıkar. Bu lekeler büyüyüp kahverengiye döndükçe, noktaların etrafında karakteristik açık yeşil ila sarı bir hale belirir. Bu hale, bakteri tarafından üretilen bir toksinin etkisinden kaynaklanır ve hastalığın tanısıl bir semptomudur. Şiddetli enfeksiyonlarda bitkilerin yaprakları ve üst kısımları sararır. Kabuklarda, küçük, suyla ıslanmış, iğne deliği büyüklüğünde noktalar gelişir ve bunlar batık noktalara dönüşür ve kırmızımsı kahverengiye döner. Bazen bu lekelerin içinde kremi beyaz bir sızıntı görülebilir. Yaygın bakteriyel yanıklık ve hale yanıklık hastalıklarının bakla semptomları neredeyse ayırt edilemez. Kapsül enfeksiyonları, içindeki tohumlara bulaşarak buruşmalarına, renklerinin bozulmasına veya normal boyutlarından daha küçük olmalarına neden olabilir (Anonim, 2018).



Şekil 1.3. Yapraklarda hale yanıklığı

1.4. Bakteriyel Hastalıklarla Mücadele Yöntemleri:

1.4.1. Kültürel Önlemler

Enfekte fasulye tohumu hale yanıklığı bakterisinin en önemli kaynağıdır. Fasulye tohumunda 4 yıldan fazla canlı kalabilen patojen, uygun hava koşullarında 16.000'de tek bir kontamine tohum ciddi bir salgına neden olmak için yeterlidir. Patojen ayrıca önceki sezonlardan kalan fasulye artıklarında da yaşayabilir (Dillard ve Legard, 1991).

Her fasulye üreticisinin ilk amacı tohumdan bulaşan bu hastalıklarla mücadelede birincil adım olarak hastalıktan arı dayanıklı sertifikalı tohum ekmektir. Bununla birlikte, bakteriler yine de ürününüze başka yollarla ulaşmanın yolunu bulabilir. Bu nedenle, bakteri kontrolünde etkili bir yöntem olduğu için, bu bakterilere dirençli fasulye çeşitlerinin ekilmesi önerilir. Daha önce bakteri bulaşmış fasulye sapları toprakta hala bulunabileceğinden, aynı toprak parçasına en az iki yıl fasulye ekilmemelidir. Patojen ayrıca önceki mevsimlerdeki fasulye kalıntılarında da hayatta kalabilir. Bakteriyel hastalıklar ekipman, yağmur, yağmurlama sulama veya insanlar ve hayvanlar tarafından yayılabilir. Hastalık 15°C ila 28°C arasında hızlı bir şekilde gelişebilse de, 28°C'nin üzerindeki sıcaklıklar karakteristik sarı halelerin ve sistemik klorozun gelişimini engeller (Mc Grath, 2021).

1.4.2. Kimyasal Kontrol

Bakır bazlı bakterisitler, fasulye yaprakları üzerindeki patojen bakteri popülasyonlarını etkili bir şekilde azaltır ve bu patojenlerin enfekteli mahsullerde yayılmasını engeller. Bakteriyel hastalıkları önleyici bir programla hastalıkta bir miktar azalma sağlanabilmesine rağmen, bakır sprey programları ile etkili bir şekilde kontrol edilememektedir. Bu koruyucuları mevsimin başlarında, soğuktan sıcağa, nemli havalarda yedi ila on günde bir uygulama yapmak, bakteriyel patojenlerin oluşumunu azaltabilir (Schwartz, 2022)

Ülkemizde fasulye üretimi yapılan alanlarda gerek bakteriyel gerekse fungal etmenlere karşı yoğun olarak bakırlı preparatlar tercih edilmektedir. İç Anadolu Bölgesinde yapılan çalışmada genel olarak fasulye ekim tarihi yağışlara ve iklim şartlarına göre değişmekte olup, en uygun zaman Mayıs ayının 1 ila 15'i arasındadır. Bu dönemde yapılan fasulye ekimlerinde ise hastalık etmeni Haziran sonu kısmen bazı yerlerde görülmekte, Temmuz aylarında ise yoğun olarak görülmektedir. Bu nedenledir ki hastalık etmenin görüldüğü üretim alanlarında bitkinin erken döneminde yapılacak olan kimyasal mücadelede, iki kez bakır hidroksit veya bakır oksiklorür uygulamaları ile etmenin bakır dayanıklılığı azalırken hastalık da önemli oranda engellenebilecektir (Balçık ve Baştaş, 2021).

1.5. Fasulyede Hastalık Direnci

Modern bitki ıslahının dikkate değer bir başarısı, kuşkusuz nematodlara, patojenlere ve böcek zararlılarına karşı dirençli gelişmiş çeşitlerin ve hibritlerin geliştirilmesidir. Dirençli mahsul çeşitlerinin yaygın kullanımı haşere salgınlarını ve patojeni engeller. Böylece insan yapımı bir ortamda biyolojik dengenin korunmasına yardımcı olur. Dirençli çeşitlerin kullanımı, pas ve bazı nematodlar gibi oldukça özel parazitlerin olduğu birçok durumda uygulanabilir tek kontrol yöntemidir. Bu nedenle, zararlılara ve patojenlere dayanıklı ürünler, modern tarım ve bahçecilik uygulamalarında önemli bir yer edinmiştir (Leppik, 1970).

Bununla birlikte, bitki ıslahçıları için yüksek kaliteli çeşitlerde ve hibritlerde çoklu direnç geliştirmek kolay değildir. Birincil endişeleri, üstün çeşitlerin geliştirilebileceği tüm genotipik direnç kaynaklarını bir araya getirmektir. Bu muazzam görev, erişilebilir tüm bitki kaynaklarının dünya çapında keşfedilmesini ve kullanılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle kültür bitkilerinin ve bunların vahşi atalarının gen merkezleri ve tür çeşitliliği alanları bilinmesi gereklidir (Maddock ve Ingram, 1981).

1.5.1. Bakteriyel Hastalıklara Direnç

Fasulye çeşitleri arası geçişler ve işaretçi destekli gamet seçme yönteminin, başlıca bakteriyel fasulye hastalıklarına karşı genleri hastalık direnci için piramitlemede etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bir genotipte hastalık direnci için genleri piramitlemek, hastalıkları kontrol etmek için daha dayanıklı ve sürdürülebilir bir stratejidir (Sing, 2001).

Niceliksel ve niteliksel olarak kalıtsal çoklu hastalık dirençlerinin, yüksek verimli, yüksek kaliteli ve geniş çapta uyarlanmış çeşitlere hem geleneksel hem de modern moleküler işaretleyici destekli teknikler kullanılarak eş zamanlı geliştirilen çeşitler bakteriyel hastalıklara karşı direnç sağlar. Tohum verimi, bitki tipi veya büyüme alışkanlığı için erken nesillerde (F2'den F5'e) tekrarlanan geriye dönük melezlemeler kullanılarak F1'den türetilmiş ailelerdeki seçimle birleştirilmiş çok ebeveynli melezlemelerde F1'deki baskın ve ortak baskın direnç alelleri için gamet seçimi yapılmasına olanak sunar (Singh, 1994).

1.6. Markör Destekli Seleksiyon

Fasulye yetiştiricileri, ekonomik öneme sahip özellikleri seçmek için genotiplerin görsel olarak taranmasına güvenirdi. Bununla birlikte, bu yöntemin başarılı bir şekilde uygulanması, özelliğin kalıtsallığına ve tekrarlanabilirliğine bağlıdır. Bu nedenle, fasulye ıslah programlarında moleküler belirteçlerin kullanılması, gerçekleştirilecek çaprazlamaların doğruluğunu artırır (Kelly ve Miklas, 1998).

MAS'ı (Markör destekli seleksiyon) ıslah programlarına entegre etmenin temel başarısı, markörlerin geleneksel ve klasik ıslah yöntemlerine göre gerçek avantajlar sunduğu veya onları yeni bir şekilde tamamladığı uygulamaların belirlenmesinde yatmaktadır. MAS, fenotipik taramanın pahalı, zor veya imkansız olduğu veya özelliklerin düşük kalıtım derecesine sahip olduğu veya seçilen özelliğin bitki gelişiminde geç ifade edildiği durumlarda önemli avantajlar sunar (Xuand ve Crouch, 2008).

MAS'ın başarısı, belirteçler ile hedef gen arasındaki mesafeye, aktarılacak hedef genlerin sayısına, özelliğin genetik temeline, analiz edilebilecek bireylerin sayısına ve hedef genin sahip olduğu genetik arka plana bağlıdır. Aktarılacak olan hedef genler, kullanılan moleküler belirteçlerin türü ve spesifik teknik olanakların mevcudiyetine bağlıdır (Babu vd., 2004).

1.6.1. Moleküler Markörler

Fasulye ıslahında moleküler markörler; tohumculukta safiyet analizlerinde, genetik kaynağın yapısını anlamada, duplike olan genotiplerin belirlenmesinde, genetik kaynağın tekrar organizasyonunda, gen kaynaklarının karakterizasyonunda ve ıslah programına seçilecek ebeveynlerin belirlenmesinde kullanılırlar. Ayrıca moleküler markör teknolojisi, çeşitli stres etmenleri ile ilişkili genom bölgelerinin belirlenmesi ve genom yapısı hakkında bilgi edinildiği çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Yorgancılar vd., 2015).

SCAR belirteçlerinin yüksek özgüllüğü, DNA parmak izi için önemli bir arayüz aracı haline gelebilir. Endüstriyel öneme sahip hibrit suşların seçimi, bitkilerde cinsiyet tayini etkili bir şekilde yapılabilir. Saha değerlendirmesini, zamanı ve işçilik maliyetini azaltmak için erken bir aşamada yapılır. SCAR belirteçlerinin güvenilirliği, kimlik doğrulama karşısında DNA parmak izi alma ve özelliğe özgü karakterizasyon için mevcut en iyi seçenek olarak görünmektedir. Önemli özelliklerin ayırt edilmesi için çeşitli biyolojik sistemlerde daha fazla sayıda SCAR markörünün gelişmesi gereklidir (Bhagyawant, 2015).

1.6.1.1. SCAR Markörler

SCAR markörleri, çoğaltılmış bölge içinde dağınık genomik diziler ve yüksek kopya sayısı içerebilir. Bu nedenle gen klonlama, harita tabanlı ve işaretleyici destekli tarama gibi büyük ölçekli ve bölgeye özgü uygulamalarda değerlidirler. SSR, AFLP ve ISSR gibi diğer PZR tabanlı ve PZR tabanlı olmayan yöntemler, RAPD belirteçlerinden daha tekrarlanabilir amplifikasyon modellerine sahiptir. Türler arasında boyut olarak farklılık gösteren polimorfik bölgelerden üretilen bir SCAR markörü, SCAR boyut kaymalarına dayalı olarak örnek kimlik doğrulamasına izin vermektedir. Bu yüzden SCAR markörler, bitki türlerinin kimlik doğrulaması için en iyi markör teknolojisi olarak ortaya çıkmıştır (Kiran vd., 2010). Fasulyede hastalık direnci için markör destekli seçim, ıslahçılara geleneksel ıslah yöntemleriyle mümkün olmayan fırsatlar sunmaktadır (Kelly ve Miklas, 1998).

SCAR belirteçleri, doğada baskın olduğundan, özellikle hastalığın baskın gen tarafından kontrol edildiği durumlarda, hastalık direnci için ıslahta yaygın olarak kullanılmaktadır. Pek çok yaygın fasulye hastalığına direnç genleriyle bağlantılı farklı SCAR belirteçleri tanımlanmıştır (Miklas vd., 2009).

1.7. Fasulyede Bakteriyel Hastalıklar Üzerine Yapılan Çalışmalar

Mutlu ve diğerleri (2005), moleküler markörler yardımıyla geri melezleme yaparak elde ettikleri bireylerde adi yaprak yanıklığı hastalığına karşı dayanıklılık durumlarını

belirlemişlerdir. Araştırmacılar, aynı zamanda SU91 ve SAP6 dayanıklılık moleküler markörlerini kullanarak dayanıklı Chase ve hassas Othello çeşitlerinin çaprazlanmasıyla adi yaprak yanıklığı hastalığına karşı daha fazla dayanıklılık gösteren ABCP-8 genotipini geliştirmiştir.

Palacıoğlu ve diğerleri (2021), Türkiye’de yetiştirilen 40 adet fasulye çeşidini, pas (*Uromyces appendiculatus*) ve adi yaprak yanıklığı (*X. axonopodis* pv. *phaseoli*) hastalıklarına karşı dayanıklılık kaynakları açısından değerlendirmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarla, yaygın olarak yetiştirilen fasulye çeşitlerindeki dayanıklılık kaynaklarının belirlenmesinde moleküler markörlerin etkinliğini ortaya koymuşlardır. Türkiye’de köy popülasyonlarının ve diğer çeşitlerin dayanıklılık kaynaklarının hızlı ve etkin bir şekilde belirlenmesinde bu moleküler markörlerin kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca fasulye bitkisinde adi yaprak yanıklığı ve pasa karşı dayanıklılık genleri içeren bu çeşitlerin ıslah çalışmalarında önemli birer genetik kaynak sağlayacağını tavsiye etmişlerdir.

Muhamba ve diğerleri (2013), moleküler markörlerin klasik ıslah yöntemlerinin yerine geçmemesini, ancak fasulye ıslah programlarında her ikisinin de faydalarından dolayı kullanılmasını istemişlerdir. Hastalıklara karşı çeşit geliştirmede mevcut direnç kaynakları ve MAS'ın uygun şekilde kullanılmasının ıslah programlarının geliştirilmesi için önemli olduğunu söylemişlerdir.

Haliloğlu ve diğerleri (2022), klasik ıslah çalışmaları birçok bitki türü ve çeşidinde istenilen orana ulaşmış olsa da moleküler markörler genotip geliştirme çalışmalarında ıslah programlarında çok önemli bilgiler sağlamaktadır. Ayrıca çeşitler arası uzaklık ve yakınlık koşullarının genetik analizler yapılarak belirlenmesi yeni popülasyonların oluşturulmasına ve yüksek verimli heterosisli çeşitlerin elde edilmesine katkı sağlamaktadır.

O’Boyle ve diğerleri (2007), MAS kullanımı, fasulyede bakteriyel hastalıklara dirençli hatlar için doğrudan fenotipik seçim ihtiyacını tamamen ortadan kaldırmayacak olsa da, MAS doğrudan tarama gerektiren hatların sayısını azaltmak için kullanılabilir. Bu moleküler markörlerin kantitatif özellik lokusuna katkısı, uygun yetiştirme tekniğine sahip üreme popülasyonunda doğrulanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, bakteriyel hastalıklara dirençli, yüksek verimli fasulye hatlarının tanımlanmasını sağlayan direnç genlerinin etkisini göstermiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan ileri çıkmış fasulye hatları Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından klasik ıslah metodu ile geliştirilmiş hatlardır. Bunlar, fasulye sırik bölge denemesinden (SBD) 26 hat, fasulye bodur bölge denemesinden (BBD) 10 hat, fasulye sırik barbunya bölge denemesinden (SBarBD) 13 hat, fasulye bodur barbunya bölge denemesinden (BBarBD) 14 hat, fasulye sırik denemesinden (SD) 4 hat ve fasulye bodur denemesinden (BD) 5 hat'dır.

Tablo 2.1. İleri çıkmış fasulye hatlarının listesi

Sıra No	İSİM	Sıra No	İSİM	Sıra No	İSİM
1	20-SBD-1	25	20-SBD-25	49	20-SBarBD-13
2	20-SBD-2	26	20-SBD-26	50	20-BBarBD-1
3	20-SBD-3	27	20-BBD-1	51	20-BBarBD-2
4	20-SBD-4	28	20-BBD-2	52	20-BBarBD-3
5	20-SBD-5	29	20-BBD-3	53	20-BBarBD-4
6	20-SBD-6	30	20-BBD-4	54	20-BBarBD-5
7	20-SBD-7	31	20-BBD-5	55	20-BBarBD-6
8	20-SBD-8	32	20-BBD-6	56	20-BBarBD-7
9	20-SBD-9	33	20-BBD-7	57	20-BBarBD-8
10	20-SBD-10	34	20-BBD-8	58	20-BBarBD-9
11	20-SBD-11	35	20-BBD-9	59	20-BBarBD-10
12	20-SBD-12	36	20-BBD-10	60	20-BBarBD-11
13	20-SBD-13	37	20-SBarBD-1	61	20-BBarBD-12
14	20-SBD-14	38	20-SBarBD-2	62	20-BBarBD-13
15	20-SBD-15	39	20-SBarBD-3	63	20-BBarBD-14
16	20-SBD-16	40	20-SBarBD-4	64	20-SD-3
17	20-SBD-17	41	20-SBarBD-5	65	20-SD-4
18	20-SBD-18	42	20-SBarBD-6	66	20-SD-6
19	20-SBD-19	43	20-SBarBD-7	67	20-SD-10
20	20-SBD-20	44	20-SBarBD-8	68	20-BD-1
21	20-SBD-21	45	20-SBarBD-9	69	20-BD-2
22	20-SBD-22	46	20-SBarBD-10	70	20-BD-3
23	20-SBD-23	47	20-SBarBD-11	71	20-BD-5
24	20-SBD-24	48	20-SBarBD-12	72	20-BD-7

2.2. Yöntem

2.2.1. Tohumların Çimlendirilmesi ve Yaprak Örneklerinin Alınması

Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü laboratuvarında plastik petrilere çimlendirilen fasulye tohumları, içerisinde torf bulunan 1 litrelik plastik saksılara alınmış ve 15 gün boyunca bitki büyütme kabininde 28 °C, %42 nemde büyütülmüştür. Daha sonra fasulye bitki yapraklarının izolasyonu yapılmak üzere her genotipten ayrı ayrı olarak steril bistüri yardımıyla bitkinin üst kısımlarından sağlıklı ve genç yapraklarından (0,20 - 0,25g) DNA izolasyonu için yaprak örneği alınmış ve buz içinde muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1.Fasulye yapraklarının sıvı azotta öğütülmesi

2.2.2. DNA İzolasyonu, Nanodrop UV-Spektrofotometre ile Miktar ve Kalite Tayini

Fasulye örneklerinin yaprakları sıvı nitrojen ile öğütülmüş ve 2 ml eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Toplam bitki genomik DNA'sı, ticari bir DNA İzolasyon Kiti kullanılarak (Plant&Fungi DNA Purification Kit, EURx Moleküler Biyoloji Ürünleri, Polonya) yaprak örneklerinden izole edilmiştir.

DNA izolasyon kiti protokolüne göre, ilk aşamada spin kolonuna 40 µl aktivasyon tamponu (Buffer P) eklenmiş ve spin kolonuna lizat karışımı eklenene kadar oda ısısında tutulmuştur. 100 mg ıslak öğütülmüş (un haline getirilmiş) fasulye yaprak materyalini 2 ml eppendorf tüpüne eklenip, materyalin dipte toplanması için kısa bir santrifüj yapılmıştır. Tüpe 400 µl Lyse P eklenmiştir ve materyali tampon içinde homojen olarak dağılacak şekilde yavaşça

alt üst edilmiştir. 3 µl RNase A ve 10 µl Proteinase K eklendikten sonra 65°C su banyosunda örnekleri 30 dk. inkübe edilip, inkübasyon sırasında tüpleri 5 dakika (dk.) aralıklarla yavaşça alt üst yapılarak karıştırılmıştır. 130 µl Buffer AC ekleyip, yavaşça alt üst ettikten sonra 5 dk. buzda bekletilmiştir.

2 ml'lik tüpler içindeki lizat 10 dk. 15000 RPM'de santrifüjlenmiş ve 400 µl süpernatant yeni bir tüpe dikkatlice aktarılmıştır. 350 µl Buffer Sol P eklendikten sonra %96'lık etanolden 250 µl eklenip tüpler birkaç kez alt üst yapılarak karıştırılmıştır. Sonrasında 1 dk. 14000 RPM'de santrifüjlenmiştir. Süpernatantın 600 µl'si toplama tüpünün içindeki spin kolonuna eklenmiş ve 1 dk. 14000 RPM'de santrifüjlenmiştir.

Spin kolonu alıp toplama tüpündeki sıvıyı boşalttıktan sonra tekrar spin kolonunu toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Kalan süpernatantı da spin kolonuna ekleyerek 1 dk. 14000 RPM'de santrifüjlenmiştir. Spin kolonunu alıp toplama tüpündeki sıvıyı boşalttıktan sonra tekrar spin kolonunu toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Spin kolonuna 500 µl Buffer Wash PX eklenmiş ve 1 dk. 14000 RPM'de santrifüjlenmiştir. Spin kolonunu alıp toplama tüpündeki sıvıyı boşalttıktan sonra tekrar spin kolonunu toplama tüpüne yerleştirilmiştir. Spin kolonuna 500 µl Buffer Wash PX eklendikten sonra 2 dk. 14000 RPM'de santrifüjlenmiştir.

Santrifüj sonrasında spin kolonu alınıp 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiştir. 150 µl Elution Buffer kolonun tam ortasına eklenmiştir. Oda ısısında 2-3 dk. inkübe edilip, 1 dk. 14000 RPM'de santrifüjlenmiştir.

Kolon atılıp toplama tüpündeki DNA'nın miktarı ve kalitesi, Nanodrop UV-Spektrofotometre kullanılarak tespit edilmiştir. Daha sonra DNA lar -18 °C'de saklanmıştır.



Şekil 2.2. Nanodrop UV-Spektrofotometre ile DNA'nın kalite ölçümü

Tablo 2.2. Örneklerin nükleik asit konsantrasyonu ve kalite miktarları

Sıra No	Örnek No	Nükleik Asit Konsantrasyonu	260/280	Sıra No	Örnek No	Nükleik Asit Konsantrasyonu	260/280
1	20-SBD-1	27,3	1,72	37	20-SBarBD-1	42,7	1,7
2	20-SBD-2	18,1	1,77	38	20-SBarBD-2	39	1,74
3	20-SBD-3	21,4	1,75	39	20-SBarBD-3	29,7	1,6
4	20-SBD-4	24,6	1,58	40	20-SBarBD-4	21,3	1,91
5	20-SBD-5	32,8	1,79	41	20-SBarBD-5	37	1,75
6	20-SBD-6	56,4	1,82	42	20-SBarBD-6	91,7	1,6
7	20-SBD-7	49,1	1,78	43	20-SBarBD-7	141,6	1,51
8	20-SBD-8	67	1,66	44	20-SBarBD-8	65,2	1,55
9	20-SBD-9	180,4	1,55	45	20-SBarBD-9	54,8	1,78
10	20-SBD-10	44,1	1,86	46	20-SBarBD-10	69,2	1,67
11	20-SBD-11	57,8	1,8	47	20-SBarBD-11	129,5	1,51
12	20-SBD-12	41,8	1,78	48	20-SBarBD-12	64,1	1,6
13	20-SBD-13	52,1	1,85	49	20-SBarBD-13	97,8	1,59
14	20-SBD-14	31	1,83	50	20-BBarBD-1	34,8	1,86
15	20-SBD-15	74,3	1,88	51	20-BBarBD-2	62,8	1,73
16	20-SBD-16	47,1	1,87	52	20-BBarBD-3	76,7	1,88
17	20-SBD-17	47	1,79	53	20-BBarBD-4	72,6	1,67
18	20-SBD-18	32,5	1,91	54	20-BBarBD-5	35,4	2,02
19	20-SBD-19	105,7	1,84	55	20-BBarBD-6	53,3	1,82
20	20-SBD-20	70,6	1,69	56	20-BBarBD-7	76,9	1,62
21	20-SBD-21	64,8	1,67	57	20-BBarBD-8	69,8	1,62
22	20-SBD-22	72,2	1,6	58	20-BBarBD-9	119,6	1,56
23	20-SBD-23	55,8	1,79	59	20-BBarBD-10	62,8	1,82
24	20-SBD-24	63	1,53	60	20-BBarBD-11	61,6	1,75
25	20-SBD-25	52,1	1,52	61	20-BBarBD-12	34,9	1,83
26	20-SBD-26	98,5	1,53	62	20-BBarBD-13	32,2	1,76
27	20-BBD-1	50,3	1,63	63	20-BBarBD-14	23,6	1,83
28	20-BBD-2	29,7	1,76	64	20-SD-3	51,6	1,88
29	20-BBD-3	93,2	1,55	65	20-SD-4	36,7	1,86
30	20-BBD-4	69,4	1,5	66	20-SD-6	48,6	1,64
31	20-BBD-5	49,9	1,65	67	20-SD-10	52,2	1,88
32	20-BBD-6	69,2	1,56	68	20-BD-1	42,5	1,87
33	20-BBD-7	66,6	1,56	69	20-BD-2	34,3	1,9
34	20-BBD-8	135,5	1,49	70	20-BD-3	37,1	1,84
35	20-BBD-9	66,5	1,62	71	20-BD-5	109,8	1,94
36	20-BBD-10	36,1	1,78	72	20-BD-7	54,8	1,77

2.2.3. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Analizleri

Daha önce DNA ızalasyonu tamamlanan örnekler, PZR analizi için nükleik asit konsantrasyonlarına göre toplam 200 µl olacak şekilde steril deiyonize su ile 2 ng/µl'ye seyreltilerek çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

Tablo 2.3. Çalışmada kullanılan SCAR primerlerin hastalık tipi, dizi ve literatür kaynak bilgileri.

Primer Adı	Hastalık	Forword (F) ve Reverse (R) Primer	Literatür Kaynağı
SR13	Hale Yanıklığı	F: GGACGACAAGGAACATATTCA R: GGACGACAAGGCTGCAAGAAC CAT	Miklas vd., 2009
ST8	Hale Yanıklığı	F: AACGGCGACATCAGTGTAAGG R: AACGGCGACAACCGACCATGTTTTAC	Miklas vd., 2009
SH11	Hale Yanıklığı	F: CTTCCGCAGTCGAGAGAT R: CTTCCGCAGTAGCACC	Miklas vd., 2009
SB10	Hale Yanıklığı	F: CTGCTGGGACAATCACCAAGTC R: CTGCTGGGACTCTCTTAC	Fourie vd., 2004
SAP6	Adi Yaprak Yanıklığı	F: GTCACGTCTCCTTAATAGTA R: GTCACGTCTCAATAGGCAAA	Miklas vd., 2010a Miklas vd., 2010b
BAC6	Adi Yaprak Yanıklığı	F: TAGGCGGCGGCGCACGTTTTG R: TAGGCGGCGGAAGTGGCGGTG	Jung vd., 1999
SU91	Adi Yaprak Yanıklığı	F: CCACATCGGTAAACATGAGT R CCACATCGGTGTCAACGTGA	Pedraza vd., 1997
BC420	Adi Yaprak Yanıklığı	F: GCAGGGTTCGAAGACACACTGG R: GCAGGGTTCGCCCAATAACG	Yu vd., 2000
R7313	Adi Yaprak Yanıklığı	F: ATTGTTATCGTCGACACG R: AATATTTCTGATCACACGAG	Bai vd., 1997 Beattie vd., 1998
R4865	Adi Yaprak Yanıklığı	F TCCAAAGCCATTCTAGTT R: CAGCTACTTTCAAAC	Bai vd., 1997 Beattie vd., 1998
NPP	Adi Yaprak Yanıklığı	F: GCTTCTGTTGGTAGTTTGCAT R: ATAGGAATCTCGTGGAAGAGC	Morneau, 2019

PZR işleminde kullanılan SCAR primer dizileri literatür bilgilerinden temin edilmiştir. DNA kalıplarının doğruluğu için ISSR-847 primeri (CACACACACACACARC) ile bir PZR taraması yapılmıştır. SCAR primerinin PZR sonuçları, her bir primer için özgül ürün büyüklüğü (bp) gözlenerek değerlendirilmiştir.

SCAR primerler BM Yazılım Danışmanlık ve Laboratuvar Sistemleri Limited Şirketinden alınmış üretimleri Metabion International AG (Almanya) firmasınca yapılmıştır. Liyofilize olarak gelen 22 adet (11 Adet Forward + 11 Adet Reverse) primerin beraberinde gelen raporlarda belirtilen ve 100µM solüsyon elde etmek için gerekli olan miktarlarda deiyonize su eklenip 20-25 dk. kadar buzda bekletilmiştir. Daha sonra 10-15 sn vortekslenmiştir. PZR çalışmalarında kullanılmak üzere stok primer hazırlamak için üzerine primer isimleri yazılan boş 22 adet ependorf tüpe 195 µl deiyonize su ve 5 µl primer ilave edilip 5-10 sn vortekslenmiştir. Daha sonra -18 °C muhafazaya alınmıştır.

Tablo 2.4. SCAR Primerlerin oturma ısıları (Tm°C) ve PZR ürün boyutları (bp).

Primer Adı	Hastalık	Tm°C	PZR Ürün Boyutu (bp)
SR13	Hale Yanıklığı	62 °C	1150
ST8	Hale Yanıklığı	61 °C	1350
SH11	Hale Yanıklığı	52 °C	800
SB10	Hale Yanıklığı	55 °C	525
SAP6	Adi Yaprak Yanıklığı	53 °C	820
BAC6	Adi Yaprak Yanıklığı	63 °C	1250
SU91	Adi Yaprak Yanıklığı	55 °C	700
BC420	Adi Yaprak Yanıklığı	62 °C	900
R7313	Adi Yaprak Yanıklığı	50 °C	700
R4865	Adi Yaprak Yanıklığı	50 °C	950
NPP	Adi Yaprak Yanıklığı	58 °C	956 - Dayanıklı 535 - Hassas

Bitki genomik DNA'sından SCAR markörleriyle elde edilen fragment (ürün) amplifikasyonu, 11,8 µl deiyonize su, 2,5 µl 10XTaq Buffer, 1,5 µl MgCl₂, 2 µl dNTP, 2,5 µl primer, 2 µl şablon DNA ve 0,2 µl Taq polimeraz (Solis BioDyne, Estonya) içeren 25 µl'lik bir reaksiyon hacminde gerçekleştirilmiştir.

Bu işlemler yapılırken işleri hızlandırmak için önce PZR tüpleri numaralandırılmış (kullandığınız primer ve örnek numarası yazılmıştır, örnek SR13-1 gibi), her tüp içine numarasına karşılık aynı numara şablon DNA'sı çalışma solüsyonundan 2 µl koyulmuş ve hazırlanan tüpler mix hazır oluncaya kadar buzda muhafaza edilmiştir. 72 örnek için bir tüpte mix şeklinde tablo 2.5.'de hesaplanan miktarlara göre (72X) PZR bileşenleri hazırlanmıştır. DNA örneklerimizin üzerine hazırlanan mixten 23 µl eklenerek toplam PZR örnek miktarı 25 µl'ye tamamlanmıştır. Daha sonra yaklaşık 30 sn vortekslenmiştir. Vortekslenen PZR örnek tüplerinde hava kabarcığı olmayacak şekilde kontrol edilerek PZR cihazına yerleştirilmiştir.

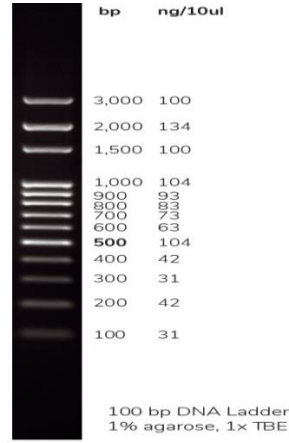
Tablo 2.5. PZR Bileşenleri protokolü, 1X ve 72X için kullanım miktarları

Bileşen	1 Örnek İçin Miktar (X)	72 Örnek İçin (72X)
dH ₂ O	11,8 µl	849,6 µl
10X Taq Buffer	2,5 µl	180 µl
MgCl ₂	1,5 µl	108 µl
dNTP	2 µl	144 µl
F. Primer	2,5 µl	180 µl F.Primer
R. Primer	2,5 µl	180 µl R.Primer
Taq Polimeraz	0,2 µl	14,4 µl
Kalıp DNA	2 µl	PZR tüplerine önceden koyulmuştur.
Toplam	25 µl	1476 µl

Amplifikasyon işlemi termal döngüleyici (Thermo Arktik; Thermo Scientific, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir: 95 °C'de 4 dk. ve 40 döngü: her biri 94 °C'de 45 sn, SCAR primer amplifikasyonu için 50-63 °C'de 50 sn (primer çeşidine bağlı olarak oturma ısıları) ve 72 °C'de 1,5 dk. ve 72 °C'de 7 dk. boyunca final uzama aşaması. PZR işlemi tamamlanan ürünler agoroz jel işlemi için -18 °C muhafazaya alınmıştır.

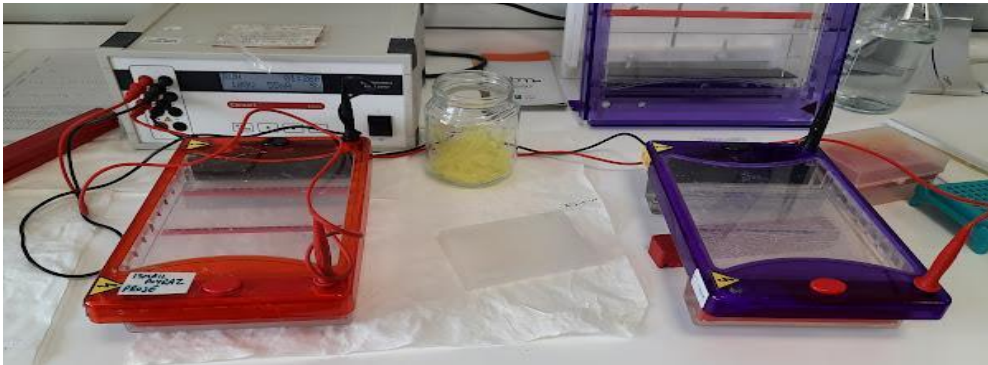
2.2.4. PZR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi

Elektroforez tankı için 5X TBE'den 100 ml alınıp üzerine 900 ml dH₂O eklenmiş ve 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Bu şekilde 0,5'lik TBE hazırlanmıştır. Bir erlenin içerisine jel için 5X'lik TBE tampon solüsyonundan 100 ml koyulmuş ve üzerine 1,3 g agaroz tartılıp eklenmiştir. Mikrodalga fırında kaynatılmış, agaroz jel ısısı yaklaşık 70 °C indiğinde 5 µl EtBr eklenmiştir. Elektroforez tankında jel tarak düzeneği kurulmuş, hazırlanan agaroz jel yavaşça hava kabarcığı kalmayacak şekilde yatay jel tablasına dökülmüştür. 30 dk. jelin donması beklendikten sonra jelin donmasının ardından taraklar yavaşça jeli zedelemekten tabladan çıkarılmıştır. Jelde her sıranın sol baştan ilk kuyucuğuna 100 bç plus DNA ladderdan 3 µl yüklenmiştir. Daha sonra 1 µl Loading Dye, 6 µl PZR ürünü pipetajla karıştırılarak toplamda 7 µl PZR ürünü jel kuyucukları içerisine sırasıyla yüklenmiştir.



Şekil 2.3. 100 Bç DNA ladder.

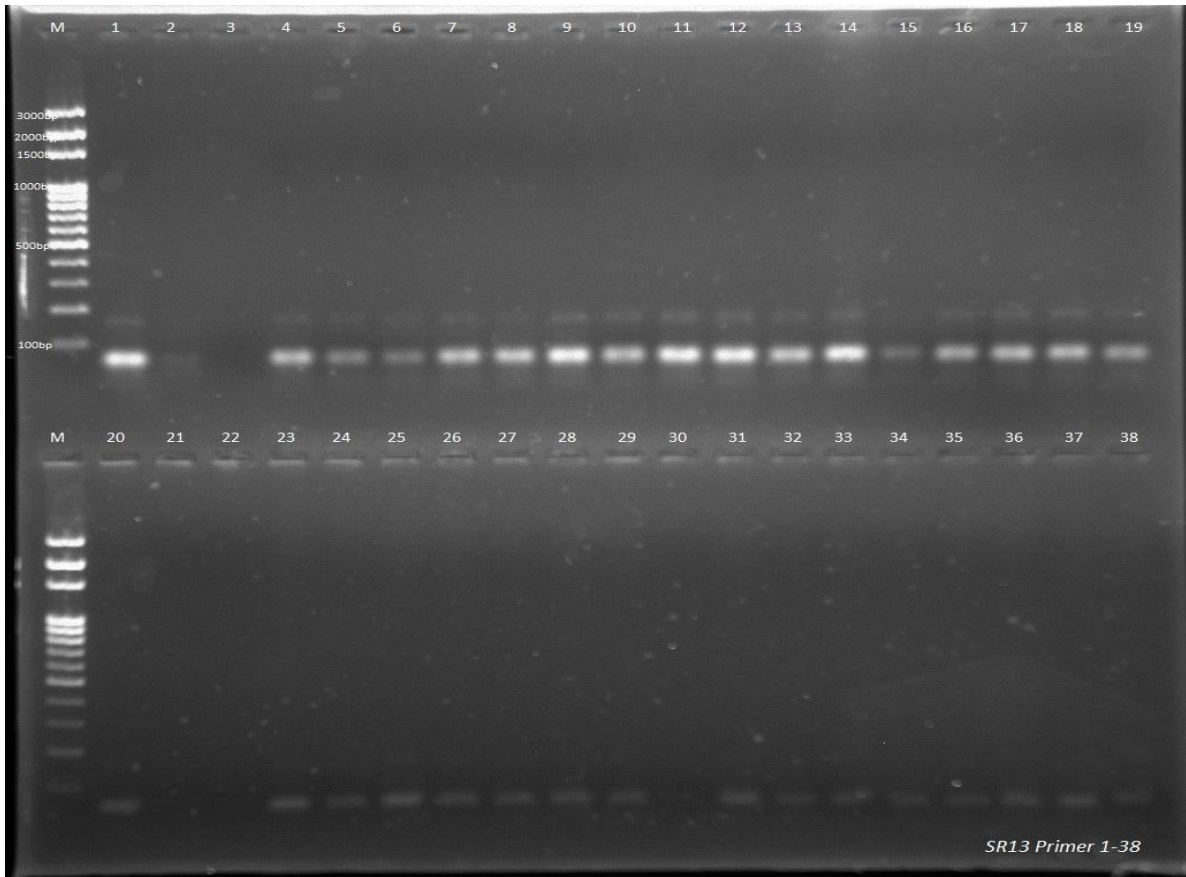
Fasulye DNA PZR ürünleri yatay jel elektroforezi kullanılarak 90 volt, 300mA de 90 dk. yürütülmüştür (Şekil 2.4.). Daha sonra elde edilen jel ürünleri UV transilüminatör altında incelenerek görüntü fotoğrafları alınmıştır (Şekil 3.1.- 3.22.).



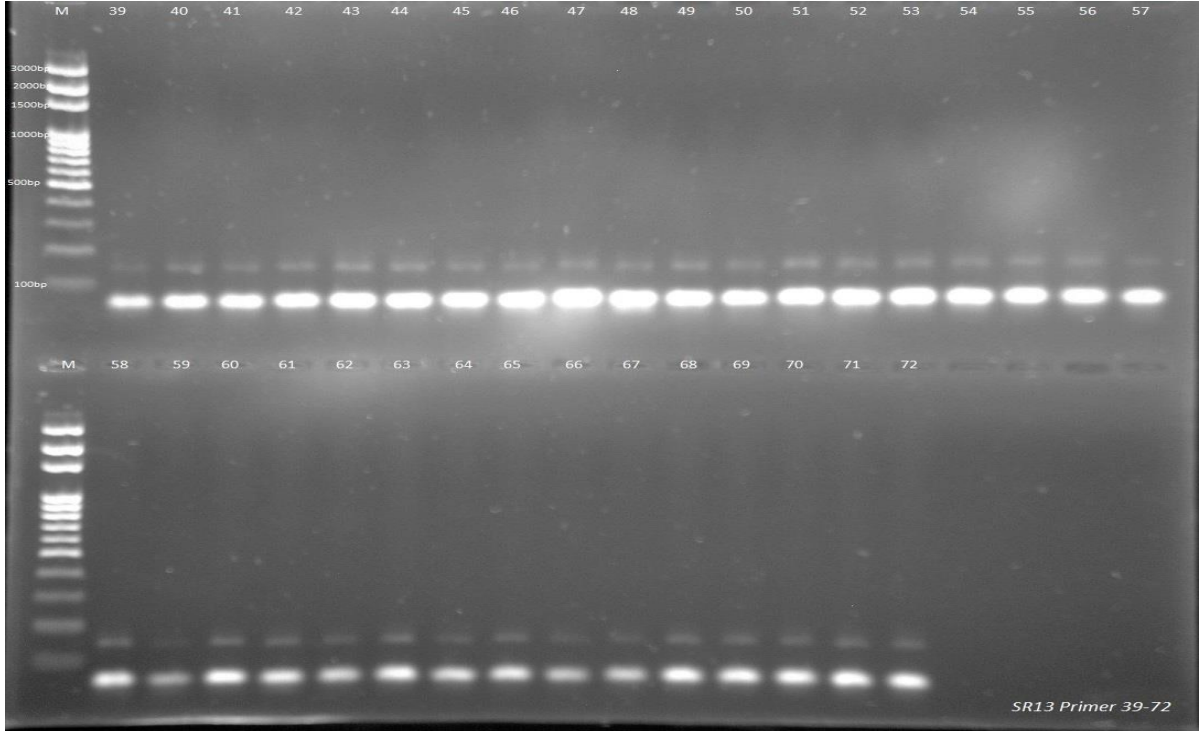
Şekil 2.4. Elektroforezde örneklerin yürütülmesi.

3. BULGULAR

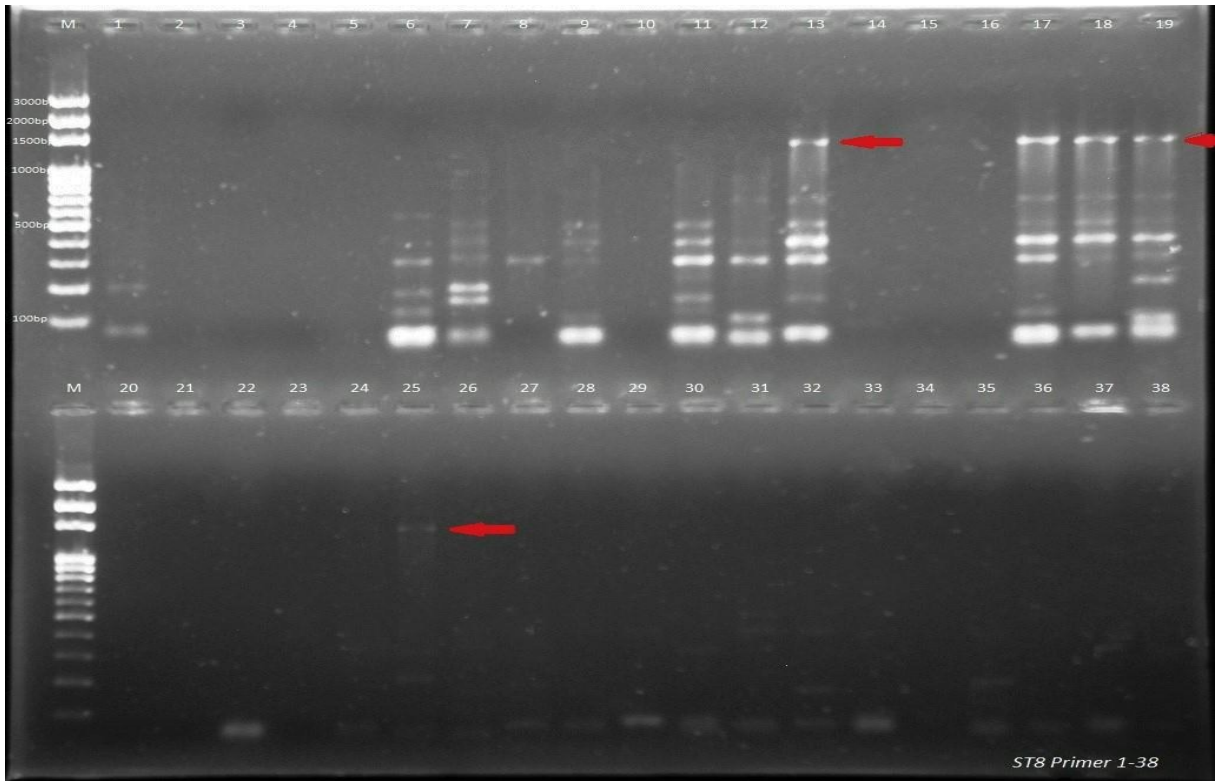
Eskişehir Geçit Kuşığı Tarımsal Araştırma Enstitüsü (GKTAEM) tarafından klasik ıslah metodu ile geliştirilmiş ileri çıkmış fasulye hatlarında adi yaprak yanıklığı ve hale yanıklığına karşı dayanıklılık genlerinin tespiti için SCAR primerleri ile gerçekleştirilen PZR ürünleri, %1,3'lük agaroz jelde yürütölüp görölntölönmölştür. Şekil 3.1. ila Şekil 3.22. deki görölntölöler PZR sonucu elde edilen jel görölntölöleridir. Her bir primere öölzgöl bantlar kontrol edilerek dayanıklılık genlerinin varlık-yokluk durumlarının tespiti yapılmölş ve tablo halinde aölşğıda gösterilmölştür (Tablo 3.1).



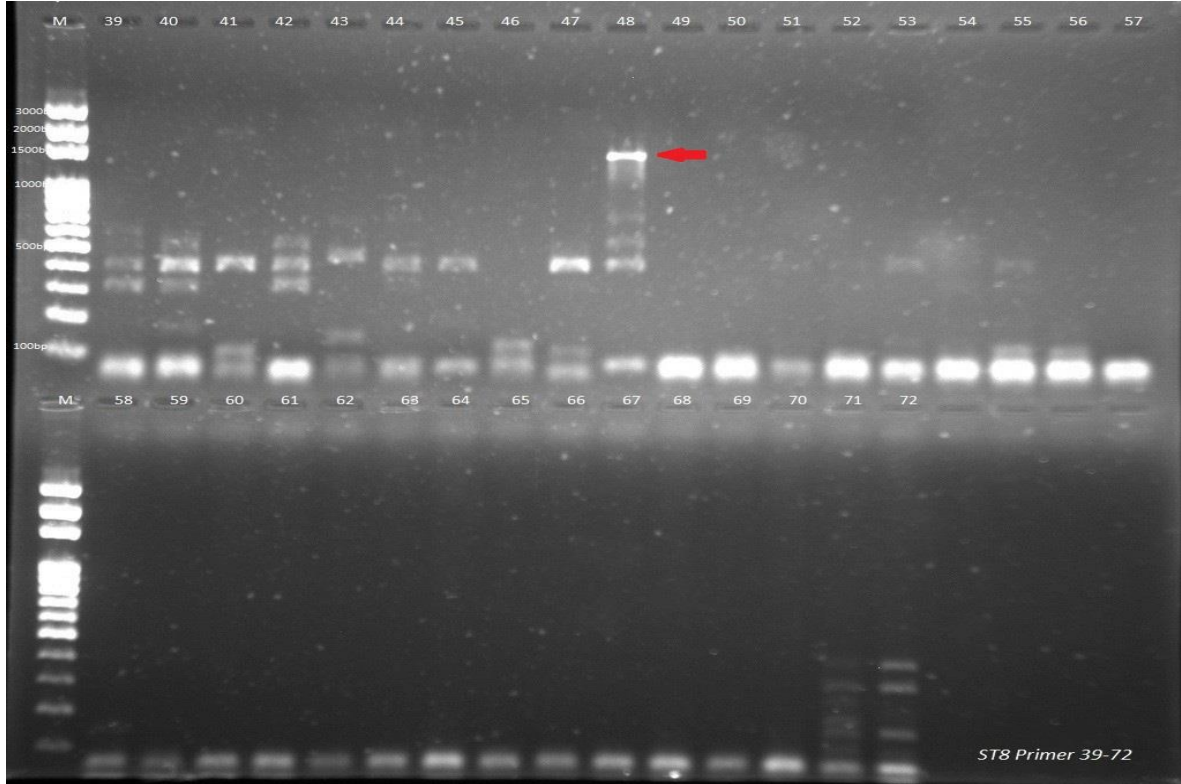
Şekil 3.1. SR13 primeriyle PZR agaroz jel görölntölösü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1150bç. Ürün alınamamölştür.



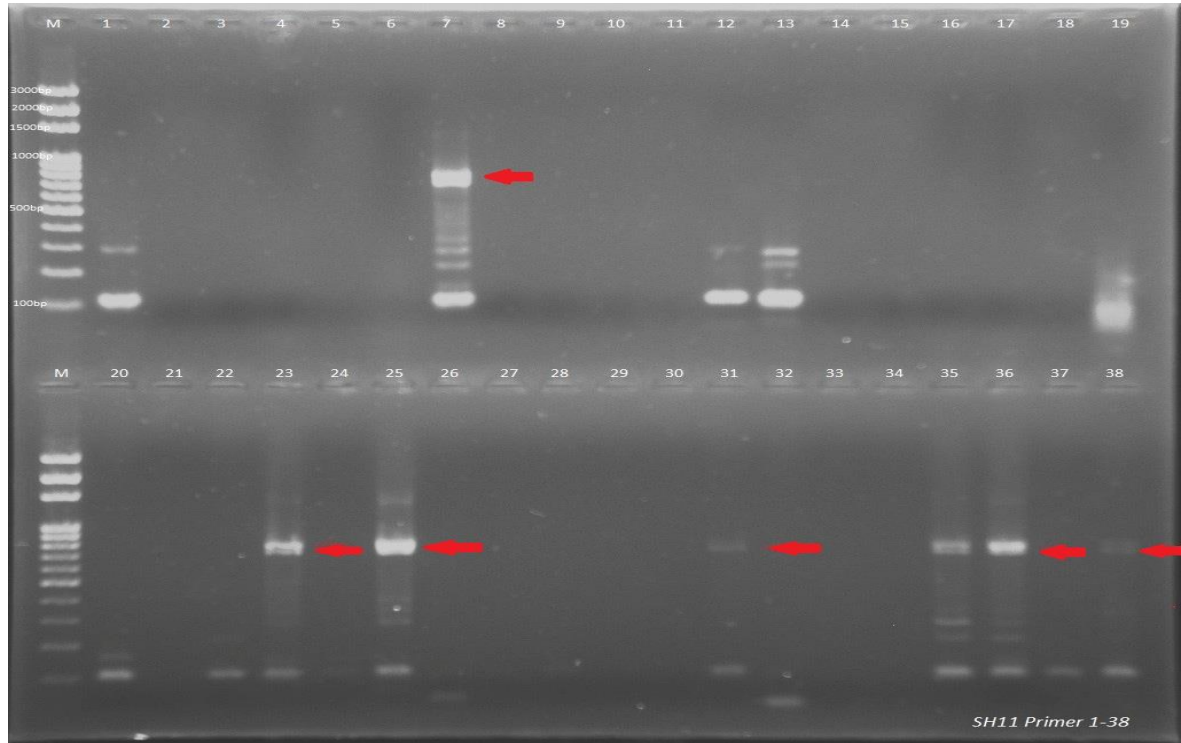
Şekil 3.2. SR13 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1150 bç. Ürün alınamamıştır.



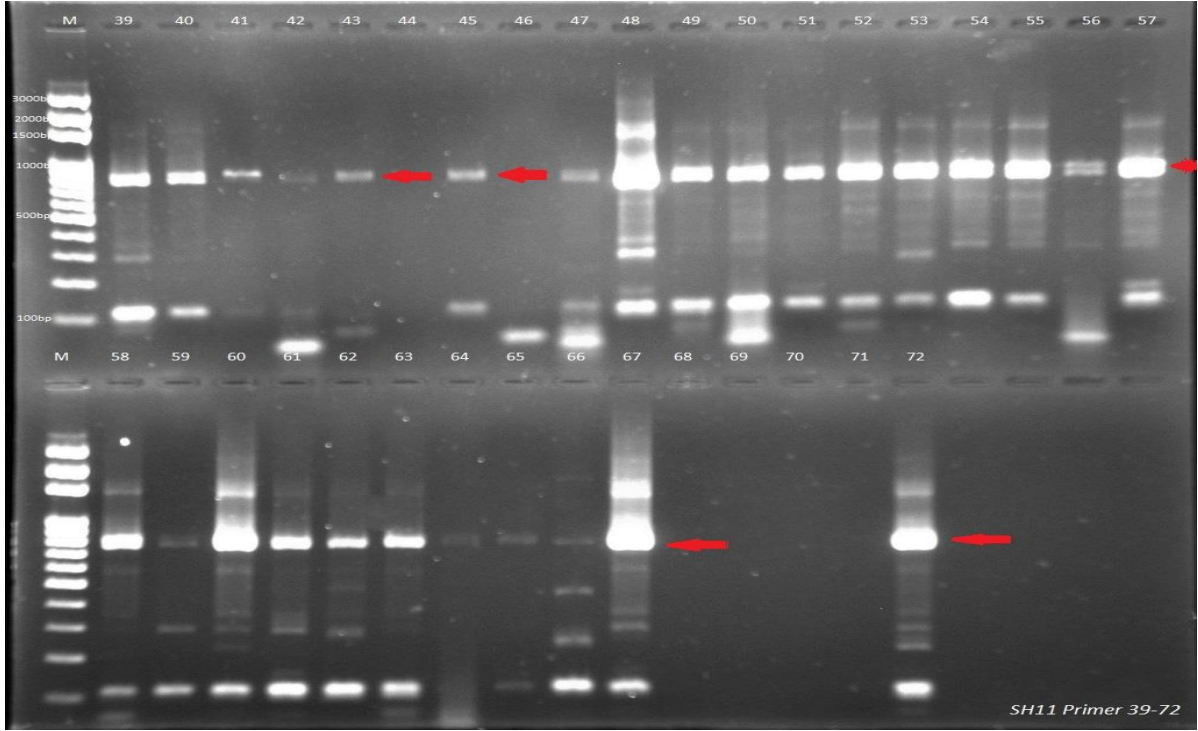
Şekil 3.3. ST8 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1350bç. Ürün veren hatlar: 13,17,18,19 ve 25 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



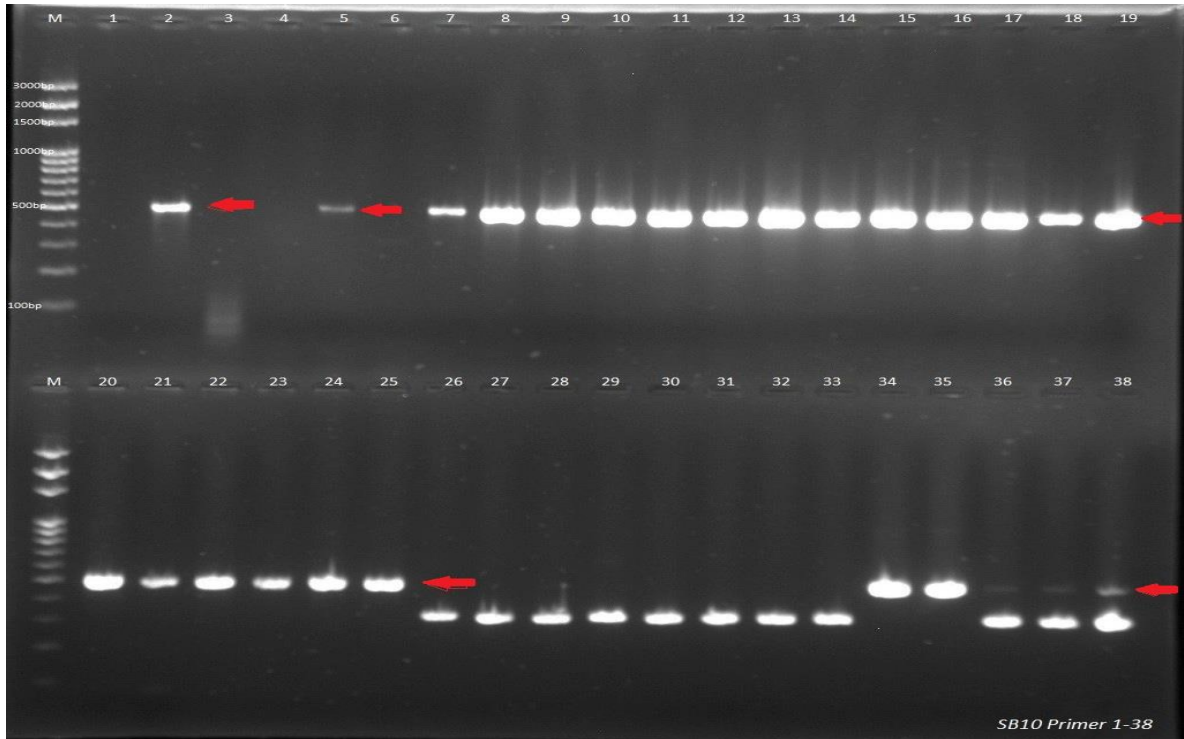
Şekil 3.4. ST8 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1350bç. Ürün veren hatlar: 48 nolu hattan ürün alınmıştır.



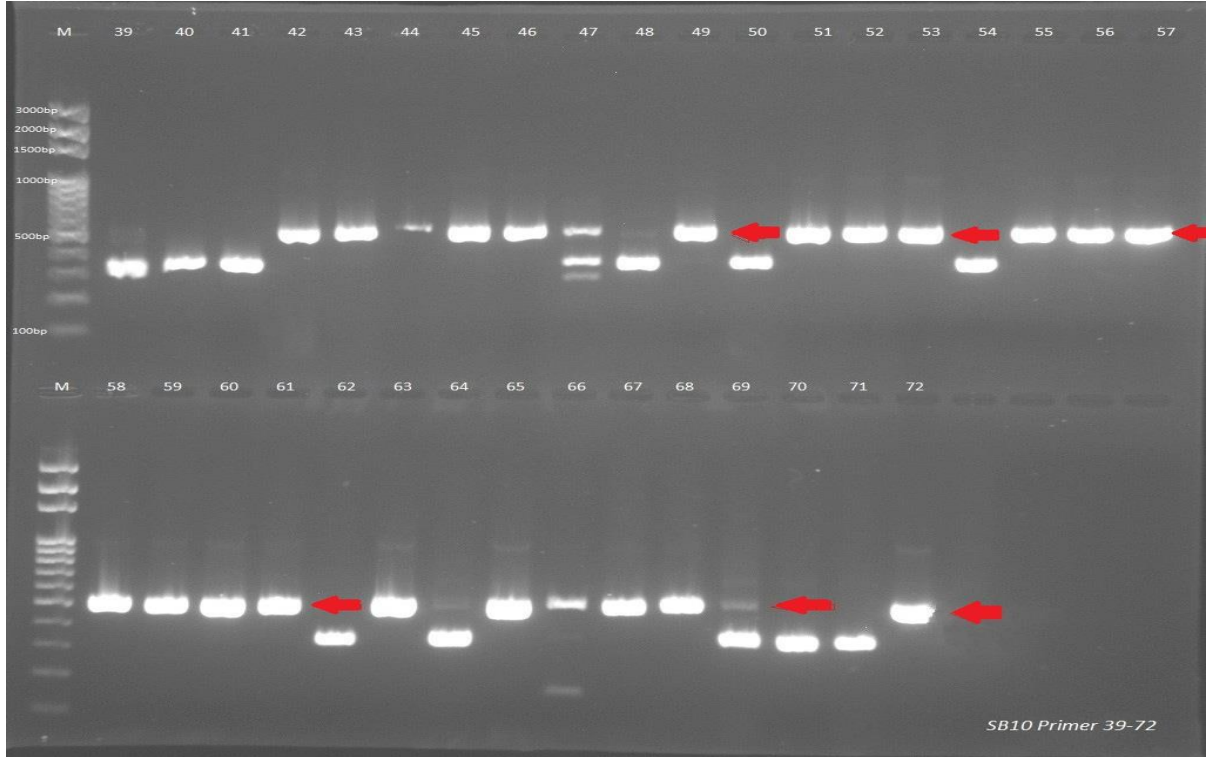
Şekil 3.5. SH11 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 800bç. Ürün veren hatlar: 7,23,25,31,35,36 ve 38 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



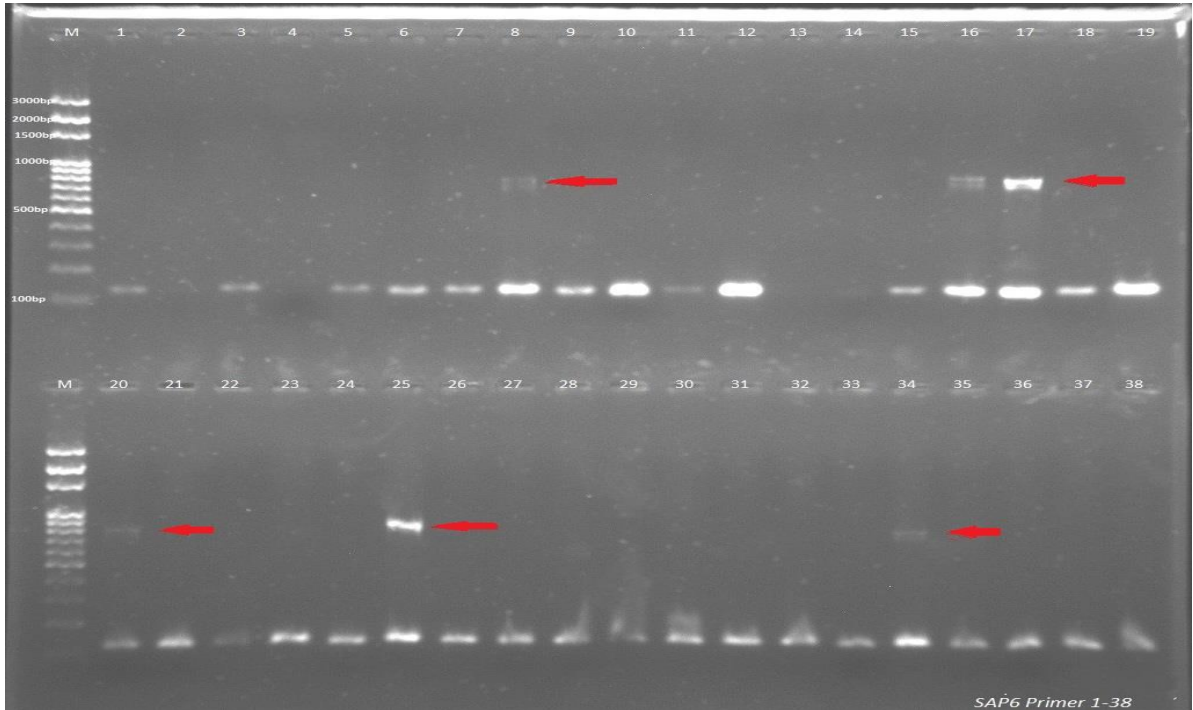
Şekil 3.6. SH11 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 800bç. Ürün veren hatlar: 39,40,41,42,43,45,47,48,49,50,51,52,53,54 55, 56,57,58,59,60, 61,62, 63,64,65,66,67 ve 72 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



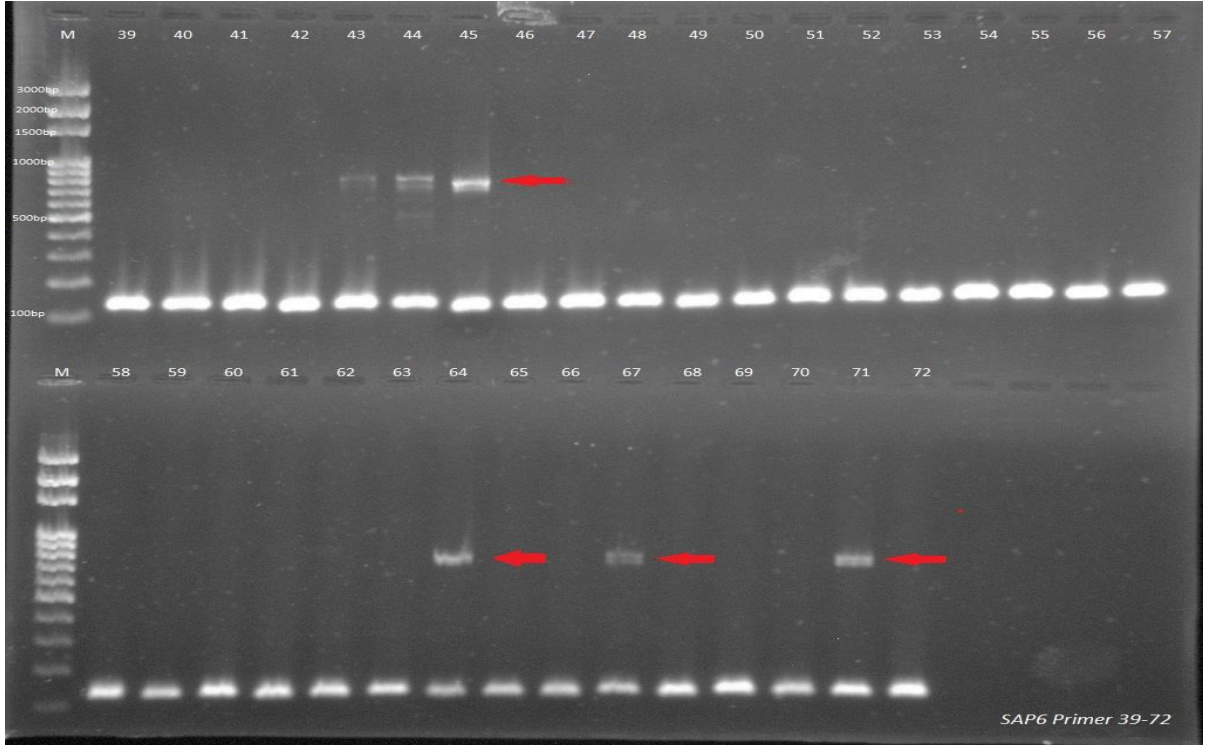
Şekil 3.7. SB10 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 525bç. Ürün veren hatlar: 2,5,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20 21,22,23,24,25,34,35,36,37 ve 38 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



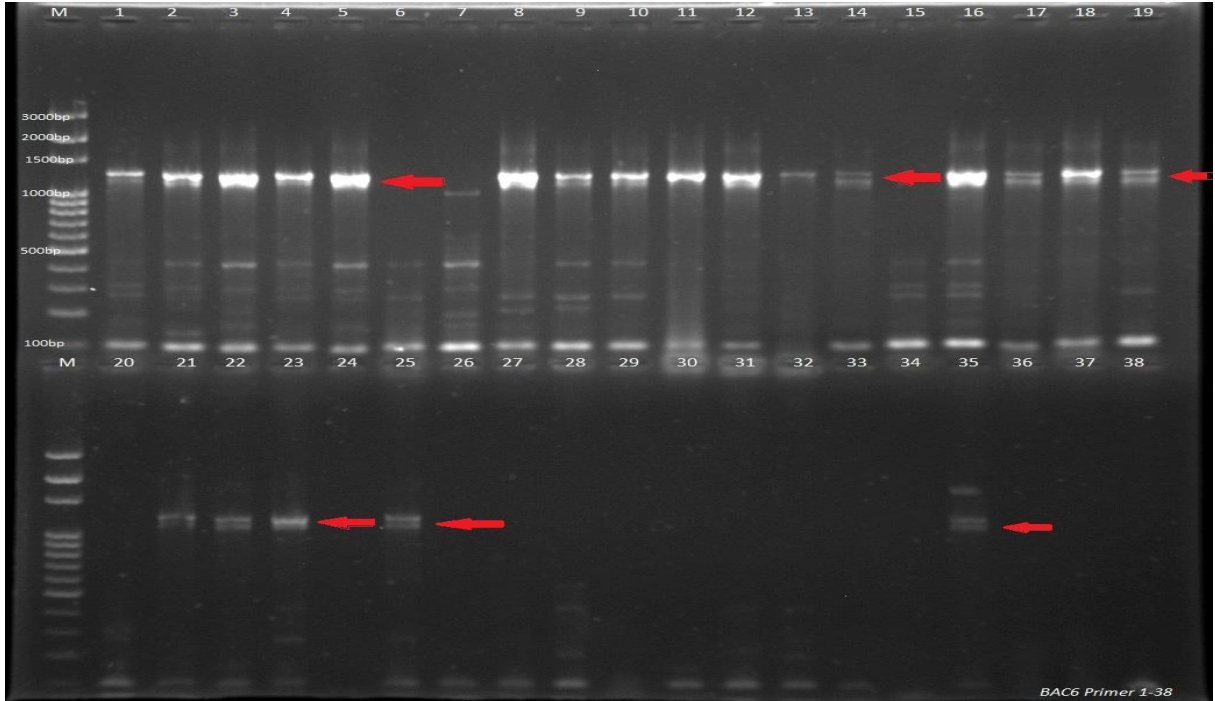
Şekil 3.8. SB10 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 525bç. Ürün veren hatlar: 42,43,44,45,46,47,49,51,52,53,55,56,57,58, 59,60,61,63,65,66,67,68,69 ve 72 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



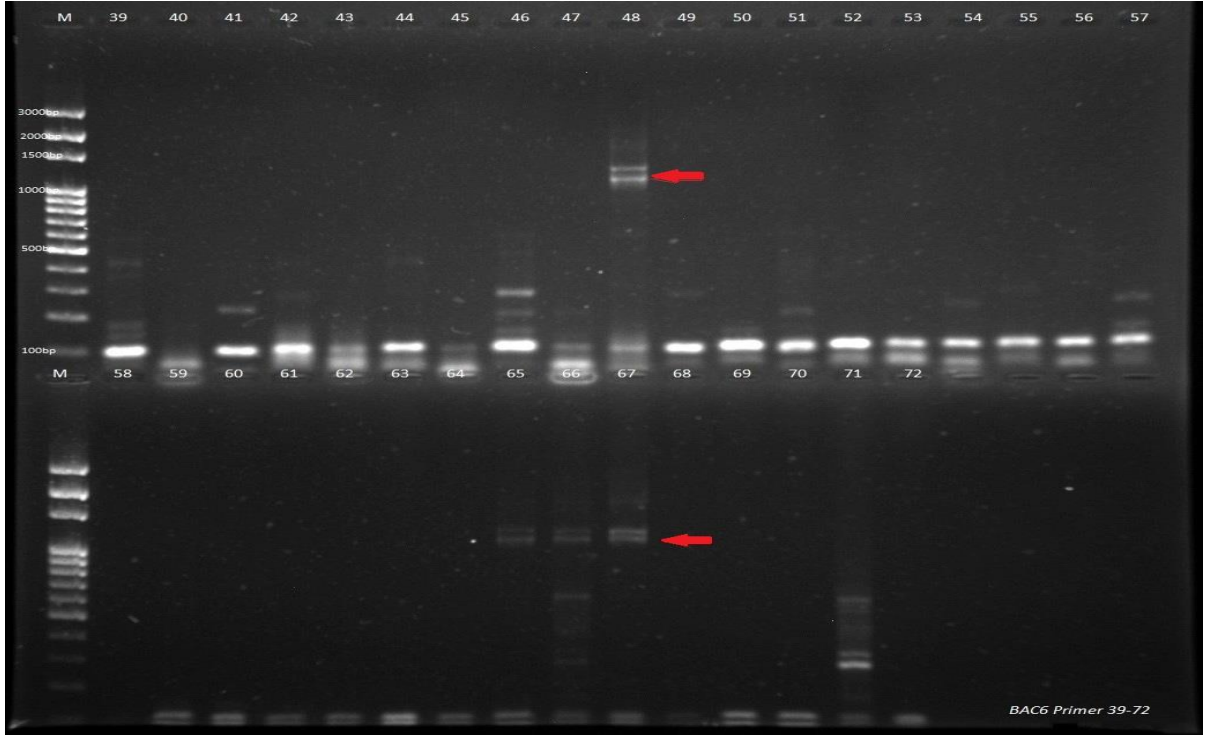
Şekil 3.9. SAP6 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 820bç. Ürün veren hatlar: 8,16,17,20,25 ve 34 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



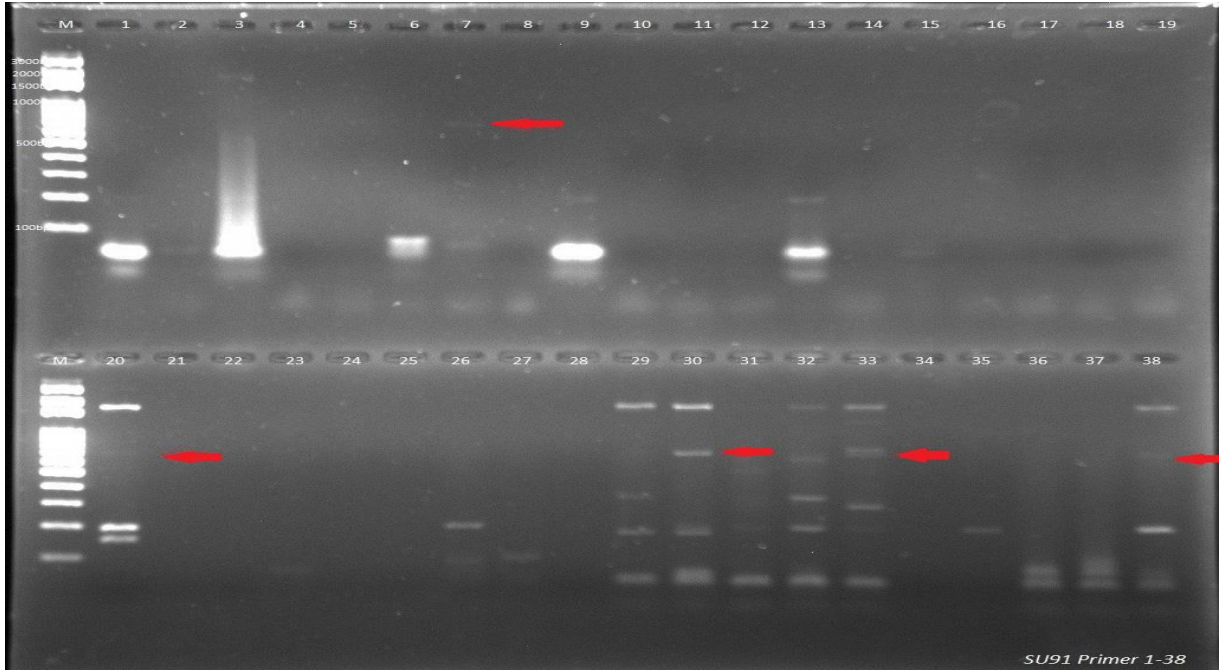
Şekil 3.10. SAP6 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M:100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 820bç. Ürün veren hatlar: 43,44,45,64,67 ve 71 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



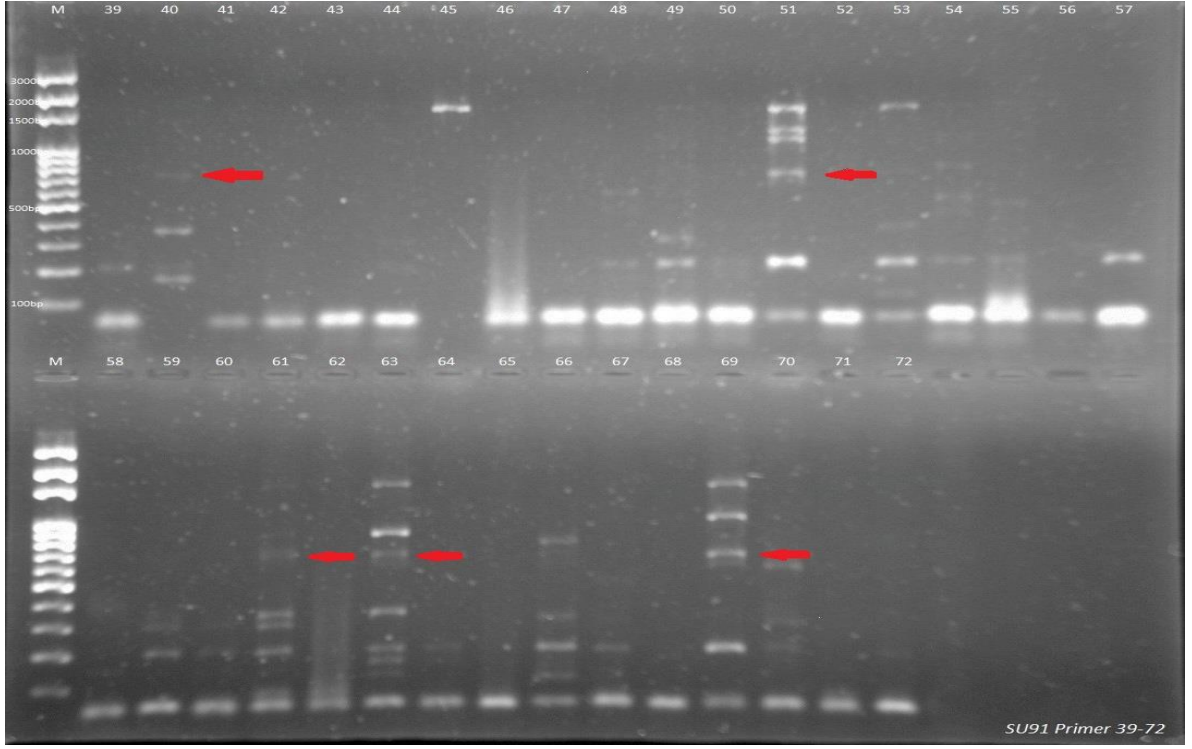
Şekil 3.11. BAC6 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1250bç. Ürün veren hatlar: 1,2,3,4,5,8,9,10,11,12,13,14,16,17,18,19 21, 22 23,25 ve 35 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



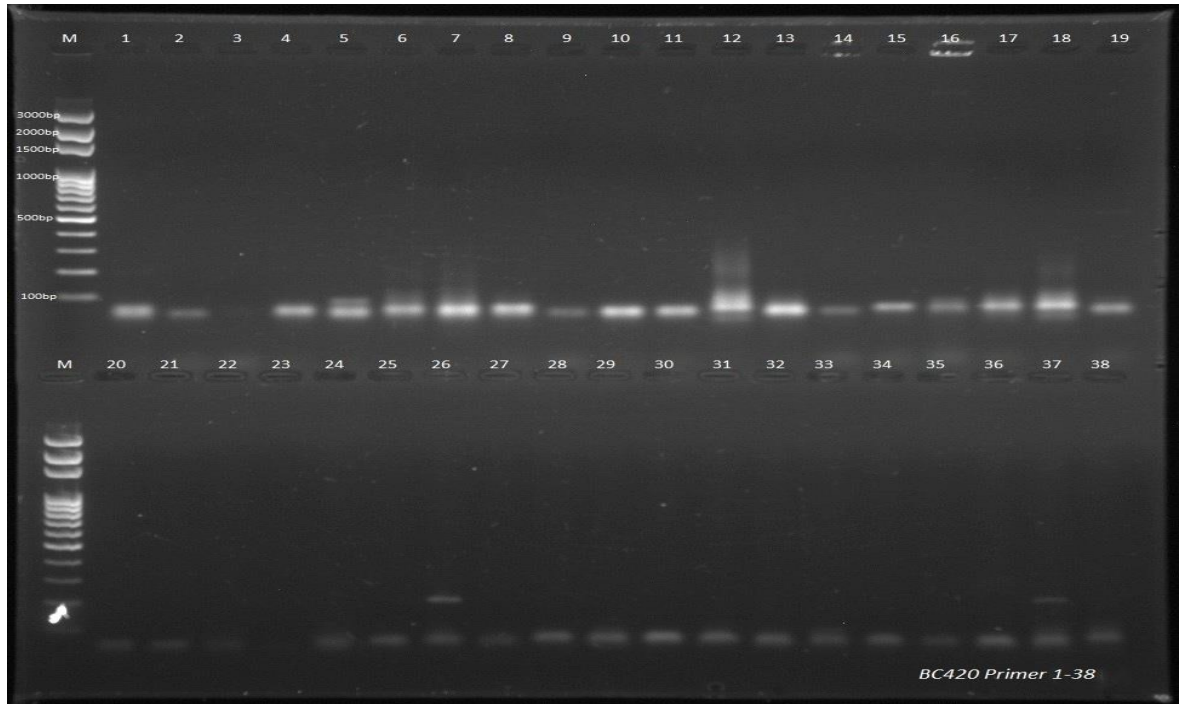
Şekil 3.12. BAC6 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M:100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 1250bç. Ürün veren hatlar: 48,65,66 ve 67 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



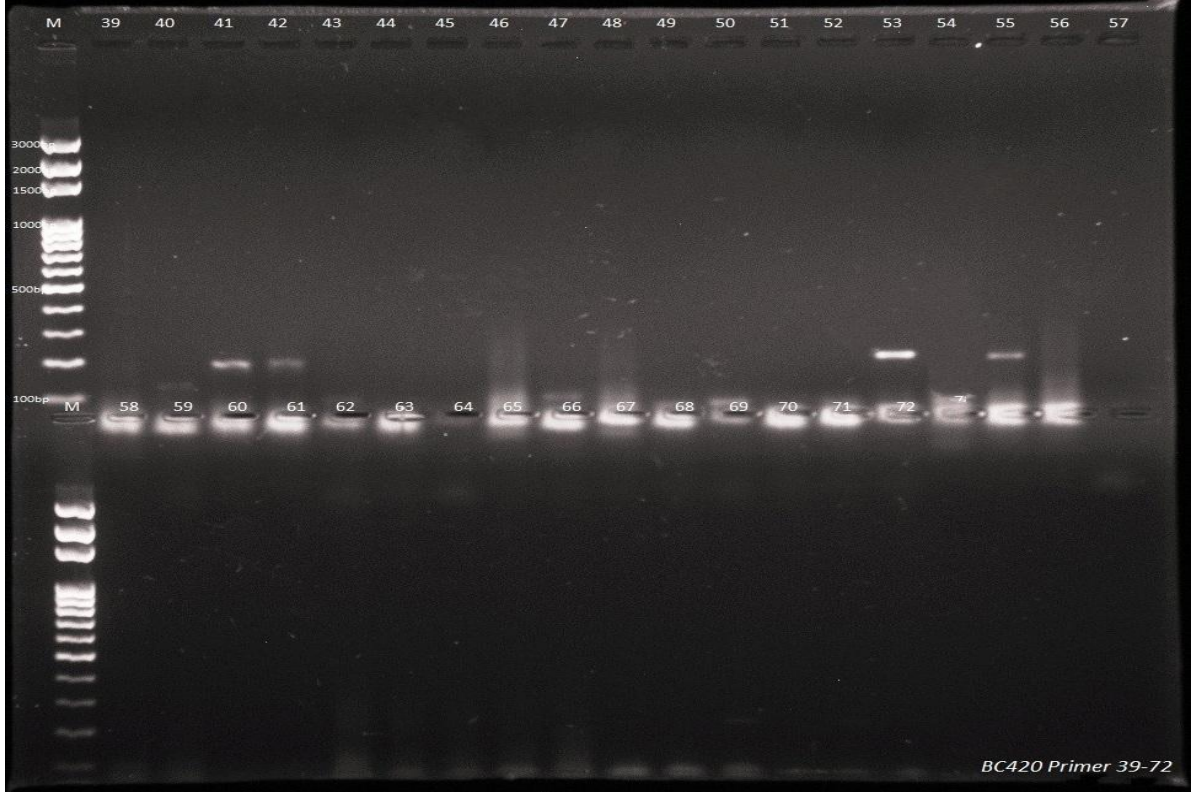
Şekil 3.13. SU91 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 700bç. Ürün veren hatlar: 7,20,30,33 ve 38 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



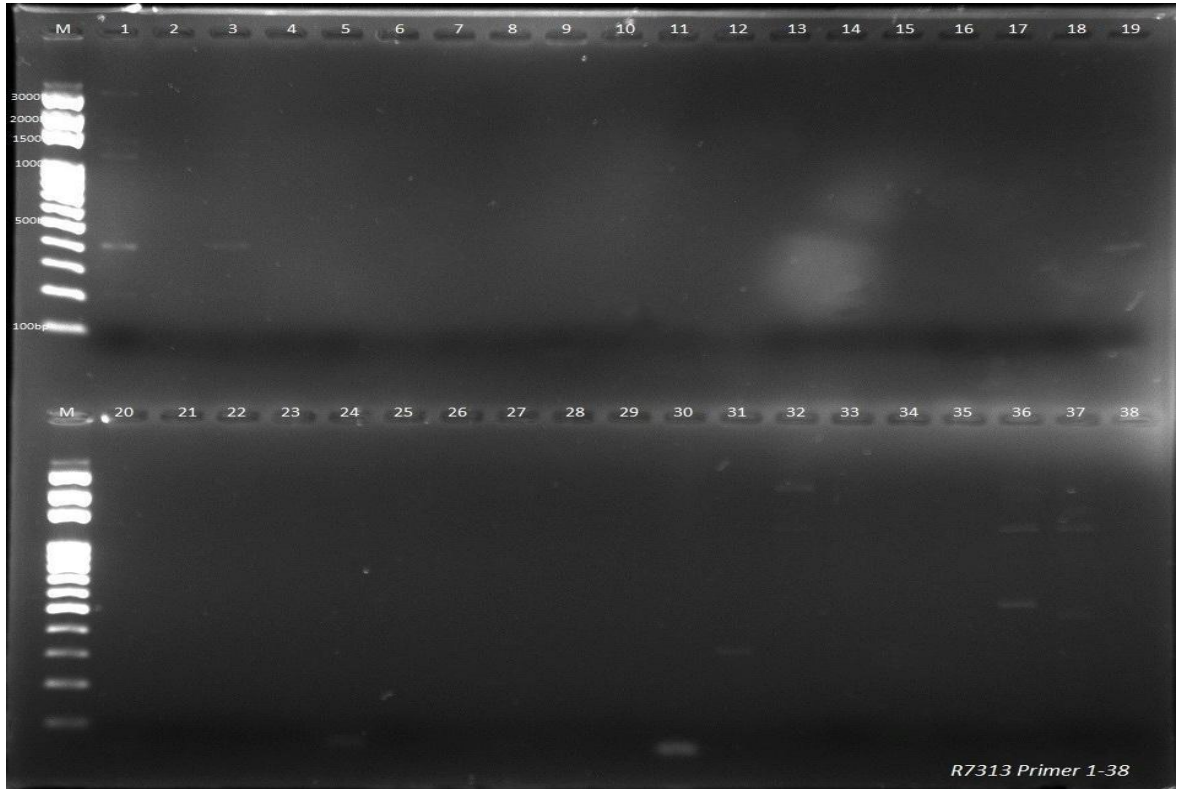
Şekil 3.14. SU91 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M:100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 700bç. Ürün veren hatlar: 40,51,61,63 ve 69 hatlardan ürün alınmıştır.



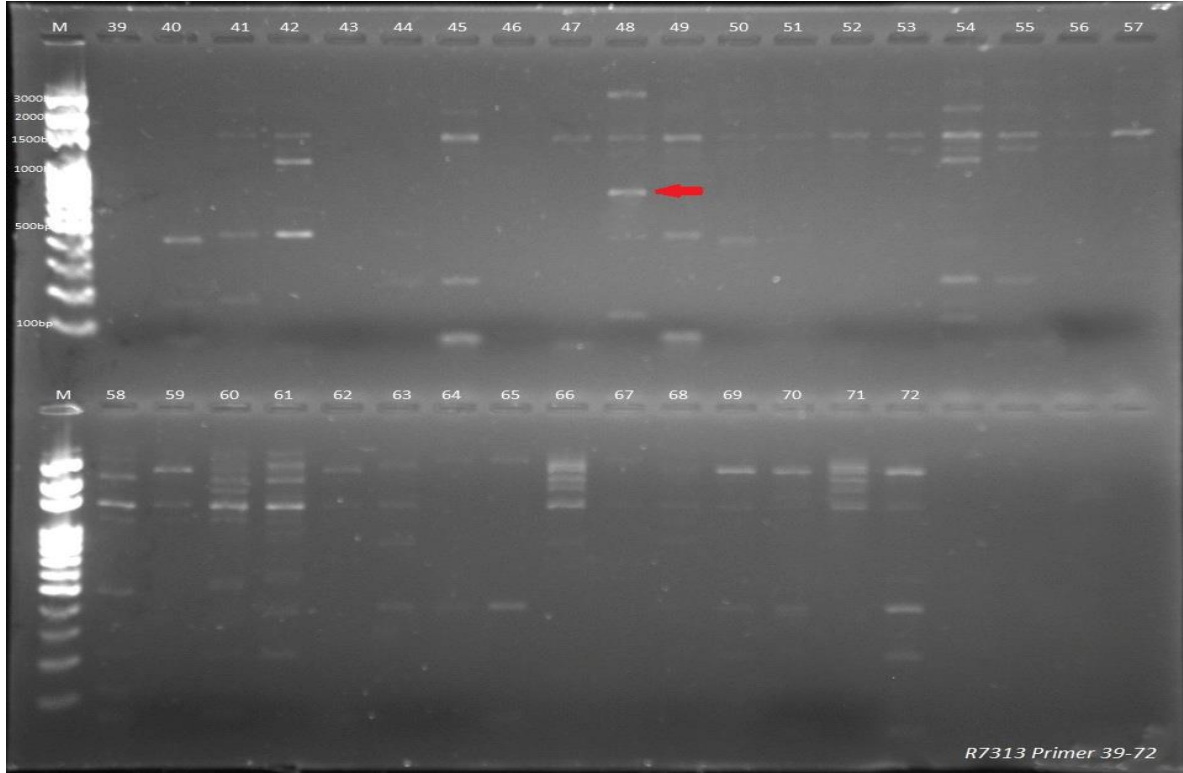
Şekil 3.15. BC420 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 900bç. Ürün alınamamıştır.



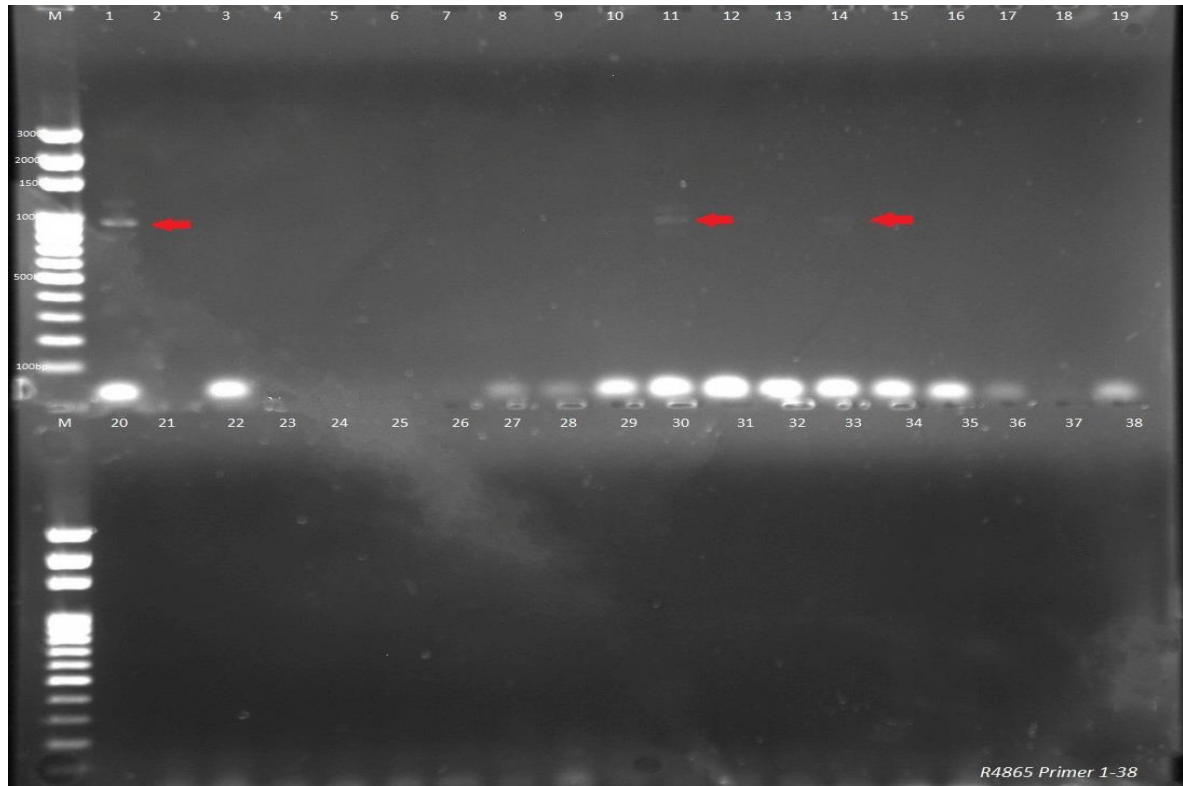
Şekil 3.16. BC420 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 900bç. Ürün alınamamıştır.



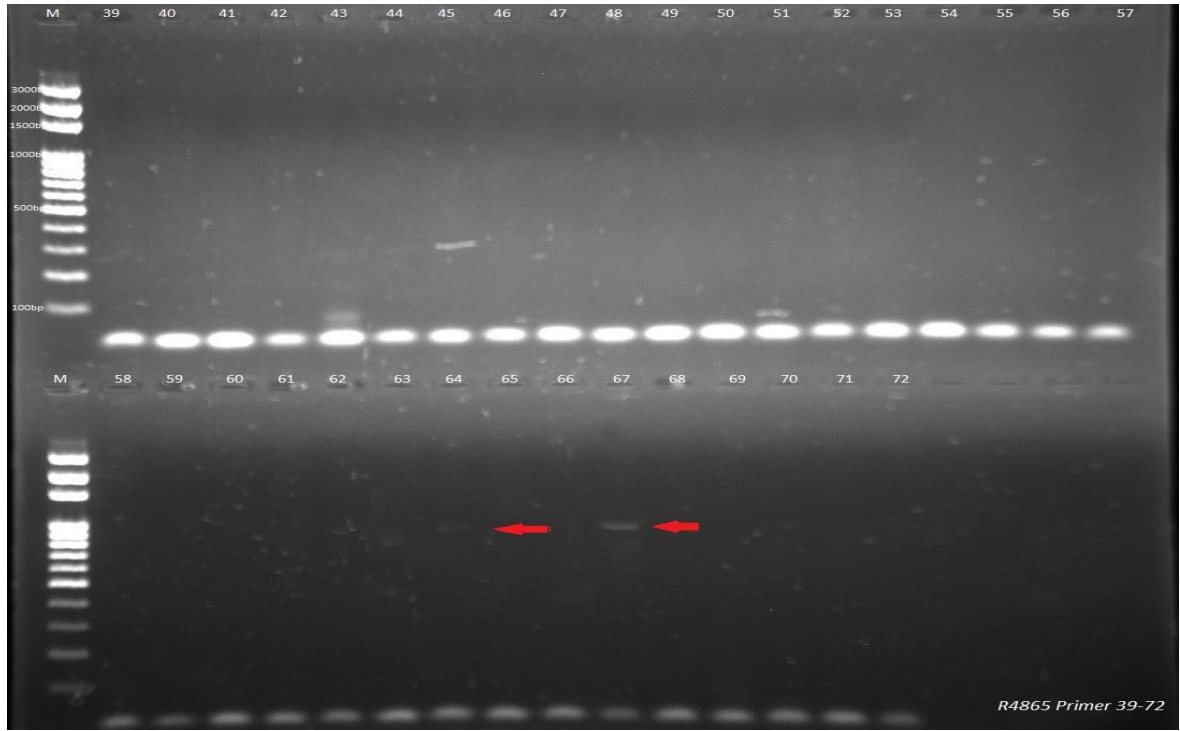
Şekil 3.17. R7313 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 700bç. Ürün alınamamıştır.



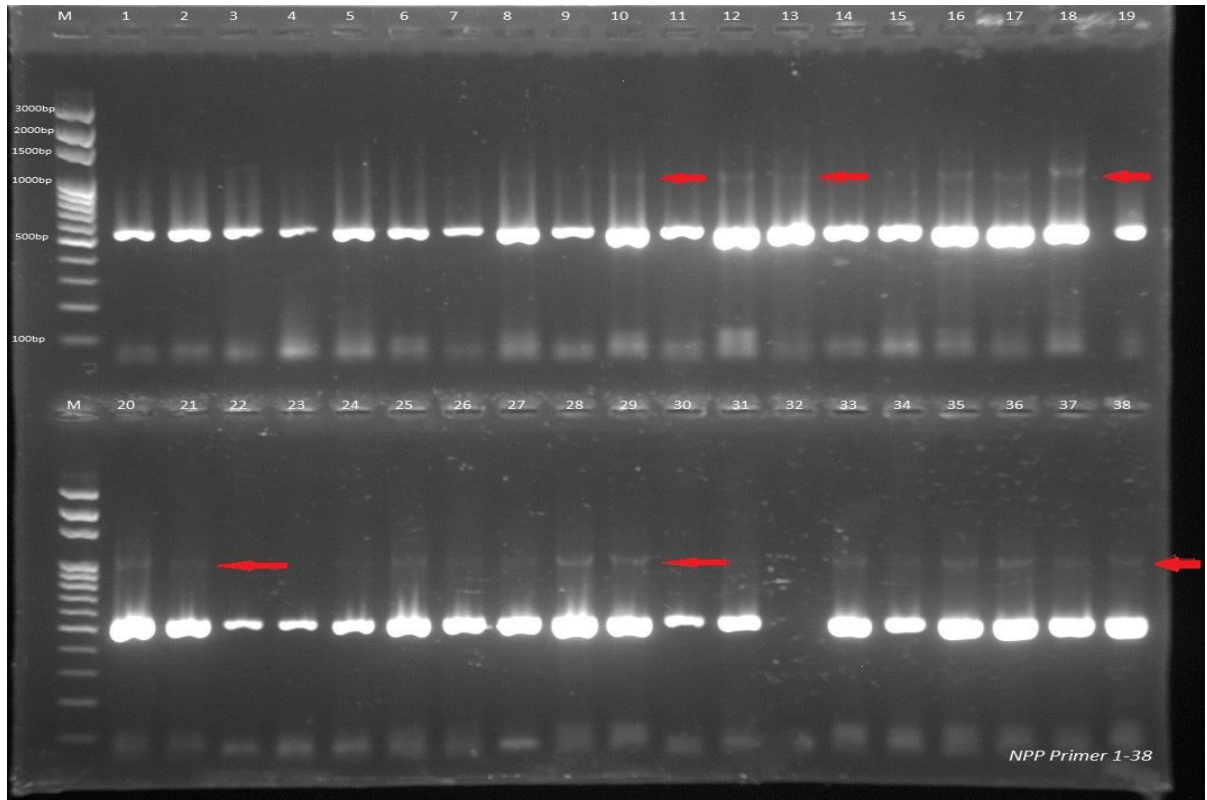
Şekil 3.18. R7313 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 700bç. Ürün veren hatlar: 48 nolu hattın ürün alınmıştır.



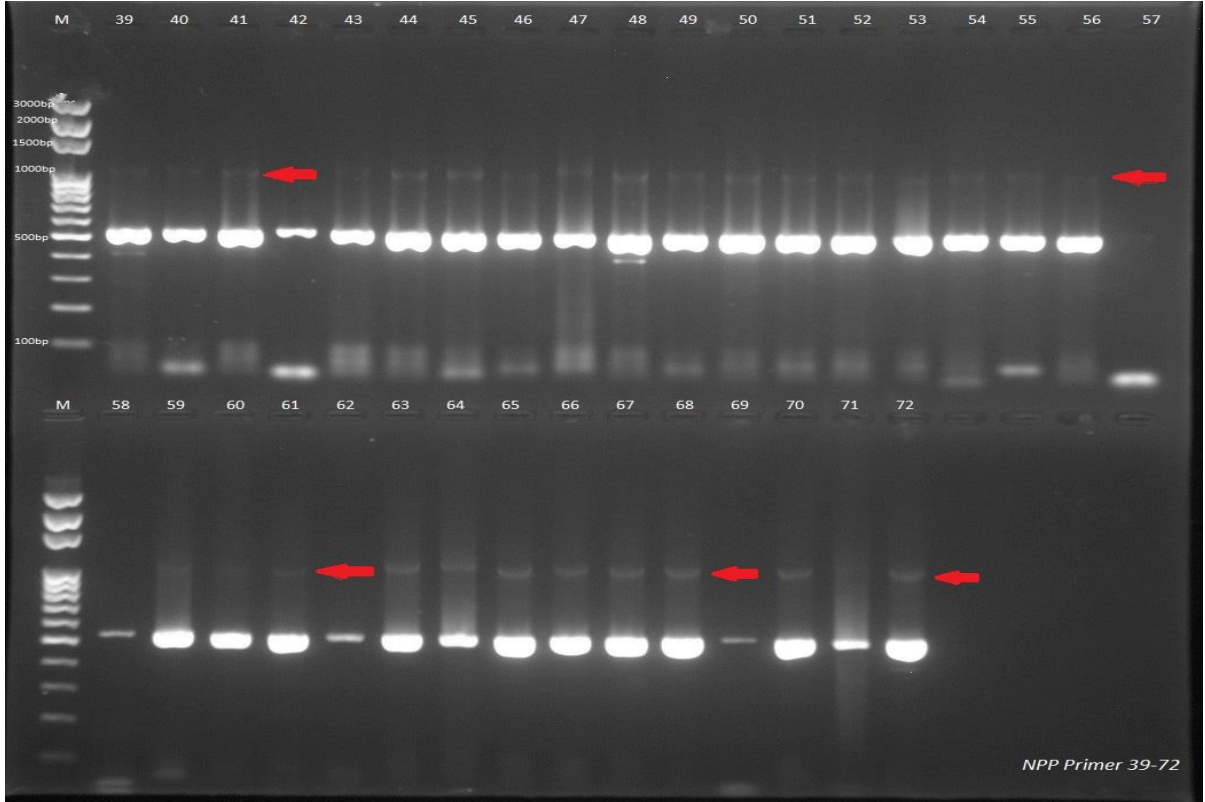
Şekil 3.19. R4865 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 950bç. Ürün veren hatlar: 1,11 ve 14 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



Şekil 3.20. R4865 primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 950bç. Ürün veren hatlar: 64 ve 67 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



Şekil 3.21. NPP primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M: 100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 956bç. Ürün veren hatlar: 10,12,13,16,17,18,20,21, 24,25,26,27,28,29,33,34,35,36,37 ve 38 nolu hatlardan ürün alınmıştır.



Şekil 3.22.NPP primeriyle PZR agaroz jel görüntüsü. M:100bç DNA Ladder, 39-72: Fasulye örnekleri, Ürün boyutu: 956bç. Ürün veren hatlar: 39,40,41,43,44,45,46,47,48,49,50,51,51,52 53,54,55,56,59,60,61,63,64,65,66,67,68,70,71 ve 72 nolu hatlardan ürün alınmıştır.

Tablo 3.1. 1-72 Fasulye örnekleri ve direnç gen durumları. ✓:Direnç geni var, - : Direnç geni yok

Örnek No:	2020 Orjin	Hale Yanıklığı Markörleri (H.Y.)				Adi Yaprak Yanıklığı Markörleri (A.Y.Y.)						
		SR 13	ST8	SH 11	SB 10	SAP 6	BAC 6	SU 91	BC 420	R7313	R4865	NPP
1	20-SBD-1	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	✓	-
2	20-SBD-2	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-
3	20-SBD-3	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-
4	20-SBD-4	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-
5	20-SBD-5	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-
6	20-SBD-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	20-SBD-7	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	-
8	20-SBD-8	-	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	-
9	20-SBD-9	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-
10	20-SBD-10	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	✓
11	20-SBD-11	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	✓	-
12	20-SBD-12	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	✓
13	20-SBD-13	-	✓	-	✓	-	✓	-	-	-	-	✓
14	20-SBD-14	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	✓	-
15	20-SBD-15	-	-	-	✓	-		-	-	-	-	-
16	20-SBD-16	-	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓
17	20-SBD-17	-	✓	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓
18	20-SBD-18	-	✓	-	✓	-	✓	-	-	-	-	✓
19	20-SBD-19	-	✓	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-
20	20-SBD-20	-	-	-	✓	✓	-	✓	-	-	-	✓
21	20-SBD-21	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	✓
22	20-SBD-22	-	-	-	✓	-	✓	-	-	-	-	-
23	20-SBD-23	-	-	✓	✓	-	✓	-	-	-	-	-
24	20-SBD-24	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	✓
25	20-SBD-25	-	✓	✓	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓
26	20-SBD-26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
27	20-BBD-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
28	20-BBD-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
29	20-BBD-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
30	20-BBD-4	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-

Tablo 3.1. (Devam Ediyor) 1-72 Fasulye örnekleri ve direnç gen durumları. ✓:Direnç geni var, - : Direnç geni yok

Örnek No:	2020 Orjin	Hale Yanıklığı Markörleri (H.Y.)				Adi Yaprak Yanıklığı Markörleri (A.Y.Y.)						
		SR 13	ST8	SH 11	SB 10	SAP 6	BAC6	SU91	BC 420	R 7313	R 4865	NPP
31	20-BBD-5	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
32	20-BBD-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	20-BBD-7	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	✓
34	20-BBD-8	-	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	✓
35	20-BBD-9	-	-	✓	✓	-	✓	-	-	-	-	✓
36	20-BBD-10	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓
37	20-SBarBD-1	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	✓
38	20-SBarBD-2	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	✓
39	20-SBarBD-3	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	✓
40	20-SBarBD-4	-	-	✓	-	-	-	✓	-	-	-	✓
41	20-SBarBD-5	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	✓
42	20-SBarBD-6	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-
43	20-SBarBD-7	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	✓
44	20-SBarBD-8	-	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	✓
45	20-SBarBD-9	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	-	✓
46	20-SBarBD-10	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	✓
47	20-SBarBD-11	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓
48	20-SBarBD-12	-	✓	✓	✓	-	✓	-	-	✓	-	✓
49	20-SBarBD-13	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓
50	20-BBarBD-1	-	-	✓		-	-	-	-	-	-	✓
51	20-BBarBD-2	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	✓
52	20-BBarBD-3	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓
53	20-BBarBD-4	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓
54	20-BBarBD-5	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	✓
55	20-BBarBD-6	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓
56	20-BBarBD-7	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓
57	20-BBarBD-8	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-
58	20-BBarBD-9	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	-
59	20-BBarBD-10	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓
60	20-BBarBD-11	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓

Tablo 3.1. (Devam Ediyor) 1-72 Fasulye örnekleri ve direnç gen durumları. ✓:Direnç geni var, - : Direnç geni yok

Örnek No:	2020 Orjin	Hale Yanıklığı Markörleri (H.Y.)				Adi Yaprak Yanıklığı Markörleri (A.Y.Y.)						
		SR 13	ST8	SH 11	SB 10	SAP 6	BAC6	SU 91	BC 420	R 7313	R 4865	NPP
61	20-BBarBD-12	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	✓
62	20-BBarBD-13	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	-	-
63	20-BBarBD-14	-	-	✓	✓	-	-	✓	-	-	-	✓
64	20-SD-3	-	-	✓	✓	✓	-	-	-	-	✓	✓
65	20-SD-4	-	-	✓	✓	-	✓	-	-	-	-	✓
66	20-SD-6	-	-	✓	✓	-	✓	-	-	-	-	✓
67	20-SD-10	-	-	✓	✓	✓	✓	-	-	-	✓	✓
68	20-BD-1	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-	✓
69	20-BD-2	-	-	-	✓	-	-	✓	-	-	-	-
70	20-BD-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	✓
71	20-BD-5	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	-	-
72	20-BD-7	-	-	✓	✓	-	-	-	-	-	-	✓

Tablo 3.2. PZR ürünlerinin hastalık ve verim denemelerine göre dağılımı

Denemeler	Hat Sayı	Ürün Sayıları									
		0		1		2		3		4	
		H.Y.	A.Y.Y.	H.Y.	A.Y.Y.	H.Y.	A.Y.Y.	H.Y.	A.Y.Y.	H.Y.	A.Y.Y.
SBD	26	5	2	14	11	6	9	1	4	-	-
BBD	10	6	2	2	5	2	3	-	-	-	-
SBarBD	13	-	1	6	6	6	5	1	1	-	-
BBarBD	14	-	3	3	8	11	3	-	-	-	-
SD	4	-	-	-	-	4	2	-	1	-	1
BD	5	2	-	2	5	1	-	-	-	-	-

4. SONUÇ

Fasulye, bodur ve sırik fasulye olmak üzere iki büyüme tipinde yetiştirilir. Sırik fasulye, bodur tipine kıyasla daha yüksek verim ve dayanıklılık nedeniyle Doğu ve Güney Afrika'nın yanı sıra Latin Amerika'da birçok bölgede tercih edilmektedir (Portilla vd., 2021). Bakteriyel hastalıklardan hale yanıklığı etmeni *P. syringae* pv. *phaseolicola*, sırik fasulyelere nazaran özellikle çalı ve bodur fasulyelerinde önemli zararlar oluşturmaktadır (Smith, 1986).

Geleneksel bitki ıslahı ve dünya çapındaki gen kaynaklarının kullanımı fasulye üretiminin iyileştirmesinde önemli öncül çalışmalardır. Bununla birlikte, fasulye ıslahının etkinliğini ve doğruluğunu iyileştirmek için genomik araçların kullanımına, gelişmiş fenotipleme yöntemlerine, iyi koordine edilmiş fasulye yetiştiricilerine ve talebe dayalı ıslah projeleriyle genetik kazancı artırmaya ihtiyaç vardır. Genomik veriler kullanılarak belirli allellerin doğrudan seçilmesi sayesinde, bitkisel özelliklerin ve bitkilerde gen aktarım bölgelerinin tanımlanması kolaylaşmıştır. Genomik yaklaşımlar ayrıca çeşitlilik analizi, germplazm karakterizasyonu ve istenilen önemli bitki karakterlerine özgül markörlerin tanımlanması için kullanılmaktadır. Bağlantı haritaları ve önemli karakterler için kantitatif özellik lokuslarının tanımlanması; günümüzde yaygın olarak kullanılan ve piramitleme yoluyla (bazen bir seferde bazende birden fazla olmak üzere) basitçe kalıtsal özellikleri tanımlanması sayesinde, markör destekli seleksiyonu için önemli bir veri kaynağını oluşturur (Assefa vd., 2019).

Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı; gen piramitlerinin oluşturulması, geri melez ıslahı, yabani gen kaynaklarından gen transferleri, resesif genlerin seleksiyonu ve erken seleksiyon gibi avantajlar sağlanarak klasik ıslahın etkinliği artırılmaktadır. Bu sayede yeni çeşitlerin geliştirilmesi hız kazanmaktadır. Moleküler markör uygulamaları tek başına klasik ıslahın yerine kullanılamamakla birlikte klasik ıslahın başarısını artıran destekleyici ve tamamlayıcı teknikler olarak kabul edilmektedir (Yorgancılar vd., 2015).

Palacıoğlu vd. (2021), Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen 40 fasulye çeşidindeki pas (*U. Appendiculatus*) ve adi yaprak yanıklığına (*X. axonopodis* pv. *Phaseol*) karşı farklı dayanıklılık kaynaklarının moleküler markörler aracılığıyla tespit edilmesi adlı çalışmalarında, adi yaprak yanıklığına karşı dayanıklılık kaynaklarını tespit etmek amacıyla yapılan PZR çalışmalarında SAP6 markörü ile beklenen büyüklükte PZR ürünü elde etmişler, ancak SU91 ve BC420 primerlerinden herhangi bir amplifikasyon ürünü elde edememişlerdir.

Poyraz vd. (2017), SCAR markörler kullanarak on iki yerel fasulye çeşidinde *P. syringae* pv. *phaseolicola* ve *X. axonopodis* pv. *phaseoli*'ye karşı on direnç geninin tespit edilmesi adlı çalışmalarında, *P. syringae* pv. *phaseolicola*'ya karşı dört direnç geni içeren Arslan ve Beryl fasulye çeşitleri ön plana çıkarken, SU91, BC420, R7313 ve R4864 SCAR markörlerinden herhangi bir ürün alamamışlardır.

Konya ilinden toplanan fasulye örneklerinden elde edilen antagonist endofit bakteri izolatların izole edildiği bitki aksamaları değerlendirilmiş ve ortaya çıkan sonuçlar dikkat çekici olmuştur. Engelleme etkinliğine sahip 56 izolatin büyük bir çoğunluğu hastalık etmenlerinin görüldüğü tarlalardaki sağlıklı bitkilerin gövde ve meyvelerinden izole edilmiştir Test edilen antagonist endofit bakteriler izolatlar arasında yüksek düzeyde antagonistik etkinlik gösteren, *Arthrobacter ilicis*, *Pseudomonas gessardii*, *Achromobacter spanius*, *Stenotrophomonas sp.*, *Arthrobacter gandavensis* ve *Pseudomonas putida* gibi antagonist bakteri izolatların fasulye hale yanıklığı hastalığı etmeni *P. syringae* pv. *phaseolicola*'ye karşı antagonistik etkinliği ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur (Duman, 2020).

Bu çalışmada, SCAR markörler kullanılarak her bir fasulye örneğinin bakteriyel hastalıklara karşı direnç gen profilini gösteren bir tablo (Tablo 3.1) oluşturulmuştur. Elde edilen tablo verileri hale yanıklığı (HY) hastalığı açısından incelendiğinde; SBD (Sırik Bölge Denemesi) grubunda 5, BBD (Bodur Bölge Denemesi) grubunda 6 ve BD (Bodur Denemesi) grubunda 2 olmak üzere toplam 13 ileri hat örneğinde hiç PZR ürünün oluşmadığı gözlenmektedir. Benzer şekilde adi yaprak yanıklığı (AYY) açısından SBD grubunda 2, BBD grubunda 2, SbarBD (Sırik Barbunya Bölge Denemesi) grubunda 1 ve BBarBD (Bodur Barbunya Bölge Denemesi) grubunda 3 olmak üzere toplam 8 ileri hattın hiç PZR ürünü oluşturmadığı anlaşılmaktadır. Her iki hastalık için tanımlı markörlerin bu ileri hat örneklerinde özgül PZR bandı vermemesi, bu markörlerin farklı fasulye genotipleri arasında seçiciliğe sahip olduğunu göstermektedir. Bu ileri hat örneklerinin markör primerleriyle eşleşen ve direnci/direnç genini tanımlayan DNA dizilerini içermediği anlaşılmaktadır. Hale yanıklığı hastalığına direnç bakımından SBD ve SBarBD gruplarına ait birer hat olmak üzere toplam iki hat 3'er PZR ürünü; adi yaprak yanıklığı hastalığına direnç bakımından ise SD (Sırik Denemesi) grubuna ait bir hat 4 PZR ürünü vererek öne çıktıkları görülmektedir. Ayrıca, adi yaprak yanıklığı hastalığına karşı SBD grubunda 4, SbarBD grubunda 1 ve SD grubunda da 1 ileri hat genotipinin her biri 3'er PZR ürünü vermiştir.

Çalışma materyali olan fasulye ileri hatları içinde; 20-SBD-25 sırik fasulyesi genotipi 6 (HY: *ST8*, *SH11*, *SB10*; AYY: *SAP6*, *BAC6*, *NPP*), 20-SBarBD-12 barbunya genotipi 6 (HY:

ST8, SH11, SB10; AYY: *BAC6, R7313, NPP*) ve 20-SD-10 sırık fasulyesi genotipi 6 (HY: *SH11, SB10*; AYY: *SAP6, BAC6, R4865, NPP*) PZR ürünü vererek öne çıkmaktadır. 20-SBD-17 (HY: *ST8, SB10*; AYY: *SAP6, BAC6, NPP*) ve 20-SD-3 (HY: *SH11, SB10*; AYY: *SAP6, RT4865, NPP*) sırık fasulyesi genotipleri 5'er PZR ürünü ile ilgi çekmektedir. Sırık ve barbunya fasulye ileri hatlarına sahip genotiplerin her birinin farklı direnç gen dizilerini içermesinin fasulye ıslah çalışmalarında önemli bir avantaj sağlayacağı ön görülmektedir.

Moleküler markörlerle elde edilen verilerde, öne çıkan hatların 2019 ve 2020 yılı hastalıklara karşı tarla verileri ile de değerlendirilmesi yapılmıştır. Bakteriyel hastalık şiddeti yönünden tarla gözlemleri alınırken skorlamada 1 en düşük 9 en yüksek olacak şekilde gözlem alınmıştır. Deneme parselleri tekerrürlü olup, tekerrürlerden ayrı ayrı gözlem alınıp daha sonra ortalamaları alınmıştır. 20-SBD-25 sırık fasulyesi genotipi 2019 yılında fasulye sırık bölge denemeleri genelinde en iyi skor 1, en kötü skor 4-5 iken 1 ortalaması, 2020 yılında ise en iyi skor 3, en kötü skor 4-5 iken 3-4 ortalaması almıştır. 20-SBarBD-12 ise 2019 yılında fasulye sırık barbunya bölge denemeleri genelinde en iyi skor 2, en kötü skor 3-4 iken 2 ortalaması, 2020 yılında ise en iyi skor 3, en kötü skor 3-4 iken 3 ortalaması almıştır. 20-SD-10 ise 2019 yılında fasulye sırık bölge denemeleri genelinde en iyi skor 1, en kötü skor 3-4 iken 2 ortalaması, 2020 yılında ise en iyi skor 2-3, en kötü skor 3-4 iken 3 ortalaması almıştır. 20-SBD-17 ise 2019 yılında fasulye sırık bölge denemeleri genelinde en iyi skor 1-2, en kötü skor 4 iken 3 ortalaması, 2020 yılında ise en iyi skor 3, en kötü skor 4-5 iken 3 ortalaması almıştır. 20-SD-3 ise 2019 yılında fasulye sırık bölge denemeleri genelinde en iyi skor 1, en kötü skor 3-4 iken 1-2 ortalaması, 2020 yılında ise en iyi skor 3, en kötü skor 3-4 iken 3 ortalaması almıştır.

Morneau, 2019 yılında yaptığı tez çalışmasında; NPP SCAR markörünü kullanmış ve PZR uygulamalarında 535bç ürün veren örneklerin hassas, 956bç ürün verenlerin ise dayanıklı olduğunu rapor etmiştir (Morneau, 2019). NPP SCAR markörü ile 72 fasulye örneğinin adı yaprak yanıklığına karşı gen profili incelendiğinde, 32 no'lu ileri hat dışındaki tüm hatların 535bç ürün verdiği, aynı zamanda çoğu hattın da 956bç ürün bandına da sahip olduğu gözlenmiştir. Bu sonuç, her iki ürün bandını içeren hatların heterozigot dirençli olduğu, sadece 535bç içerenlerin homozigot hassas olduğunu göstermektedir. 32 no'lu örnekte ise herhangi bir ürün bandı gözlenmemiş olup, NPP markör primerleri için bu hattın genomunda bir tanıma dizisi (eşleşme) olmadığı anlaşılmaktadır. Direnç gen profillerini içeren Tablo 3.1'deki bilgiler ikili veriye (binary data) dönüştürülmüş ve aritmetik ortalama ile ağırlıklandırılmamış çift grup yöntemi (UPGMA) kullanılarak bir benzerlik dendrogramı oluşturulmuştur (Şekil 4.1).

Fasulye ileri hatlarının direnç gen profili benzerliğine göre dallanma topolojileri incelendiğinde, SBD grubunun diğer gruplardan ayrı ana dala sahip olduğu gözlenmiş ve sadece 20-SBarBD-12 örneğinin bu grup içinde bulunduğu dikkat çekmiştir. SBD ileri hatlarından bazılarının (20-SBD-6, 20-SBD-7, 20-SBD-15, 20-SBD-20, 20-SBD-23 ve 20-SBD-26) diğer hat gruplarının oluşturduğu dallanma profili içinde yer aldıkları; benzer şekilde BD ileri hatlarının da diğer dallanma grupları içinde dağılmış şekilde bulundukları görülmüştür. Dendrogramda 20-SBD-6 ve 20-BBD-6 ileri hatlarının taranan direnç genlerini içermemelerinden dolayı diğer hatlardan ayrılarak dış grup oluşturdukları görülmüştür (Şekil 4.1). Diğer ileri hatlardan daha fazla direnç geni içeren (20-SBD-25 ve 20-SD-10 gibi) örneklerin aynı zamanda farklı direnç genlerine sahip olmalarının; bakteriyel hastalıklara dayanıklı yeni fasulye çeşitlerinin ıslahına yönelik çalışmalarda önemli avantaj sağlayacağı ön görülmektedir.

Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde GKTAEM tarafından geliştirilen fasulye ileri hatlarının büyük çoğunluğunun adi yaprak yanıklığı ve hale yanıklığına karşı dayanıklılık genlerini tanımlayan dizileri içerdiği gözlenmiştir. Enstitü tarafından yaklaşık 10-11 yıl boyunca yürütülen titiz çalışma sonucunda elde edilen fasulye çeşit adayları arasında; adi yaprak yanıklığı ve hale yanıklığına karşı 72 ileri hattın 70'inde en az bir hastalığa karşı dayanıklılığı tanımlayan dizinin bulunduğu moleküler markör testleriyle ortaya konulmuştur. Bu ileri hatlardan 20-SBD-6 ve 20-BBD-6 no'lu sırtık fasulyesi ileri hatları ise taranan direnç genleri bakımından hiç direnç bant ürünü vermemiştir.

Adi yaprak yanıklığı ve hale yanıklığına karşı dayanıklılık gen profilleri belirlenmiş fasulye ileri hatları, bundan sonraki devam eden ıslah çalışmalarında da önemli birer genetik kaynak durumundadır. Halen GKTAEM bünyesinde fasulye ıslahına yönelik çalışmalar kapsamında mevcut fasulye ileri hatlarını da içeren ve çeşitli hastalıklara karşı tarla reaksiyonlarının ölçüldüğü çalışmalar devam etmektedir. Bakteriyel hastalıklara dirençli fasulye ıslahına yönelik yapılacak çalışmalarda, klasik ıslah metoduyla birlikte markör destekli seleksiyonun da kullanılması sayesinde, hastalıklara daha toleranslı veya dayanıklı çeşitler elde edilebilecektir. Devam edecek ıslah çalışmalarıyla, ülkemiz fasulye yetiştiriciliğinde sorun olan bakteriyel hastalıklarla mücadelede, kimyasal ilaçların kullanılmadığı daha sağlıklı ve verimli tarım uygulamalarının önü açılacaktır.

KAYNAKÇA

- Adak, M.S.** (2014). Türkiye’de Yemelik Baklagillerin Önemi, Üretimi ve İzlenen Politikalar, Tarım ve Mühendislik, 103, 24-30.
- Adak, M. S., Güler, M. ve Kayan, N.** (2010). Yemelik Baklagillerin Üretimini Artırma Olanakları, Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak 2010 Ankara, Bildiriler Kitabı, I, 329-341.
- Anonim,** (2018). Dry Beans Pest Management Guidelines, [Erişim: 25.08.2022, <https://www2.ipm.ucanr.edu/agriculture/dry-beans/Halo-Blight/>]
- Assefa, T., Mahama, A.A., Brown, A.V., Topu, E.K.S., Rubyogo, J. C., Rao, I. M., Blair, M.W. ve Cannon, S.B.** (2019). A review of breeding objectives, genomic resources, and marker-assisted methods in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Springer, 20,16
- Balçık, M. ve Baştaş, K.K.** (2021). Fasulye Bakteriyel Adi Yanıklık Hastalığına Karşı Farklı Bakırlı Bileşiklerin Etkililiği, Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology, 9(9): 1735-1743
- Bhagyawant, S.S.** (2015). RAPD-SCAR Markers: an Interface tool for authentication of traits, Journal of Biosciences and Medicines 04 (01),1-9.
- BÜGEM,** (2022). Kuru Fasulye Bülteni, Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü Tarla ve Bahçe Bitkileri Daire Başkanlığı, Ocak 2022, 18. [Erişim: 03.11.2022, <https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/Belgeler/B%C3%BCltenler/OCAK%202022/Kuru%20Fasulye%20Ocak%20B%C3%BClteni.pdf>]
- Babu, R., Nair, S.K., Prasanna, B.M. ve Gupta, H.S.** (2004). Integrating marker-assisted selection in crop breeding-Prospects and challenges. Crop Science, 87 (5), 606-619.
- Bai, Y., Michaels, T.E. ve Pauls, K.P.** (1997). Identification of RAPD markers linked to common bacterial blight resistance genes in *Phaseolus vulgaris* L, Genome, Canadian Science Publishing 40, 544-551.
- Beattie, A., Michaels, T.E. ve Pauls, K.P.** (1998). An efficient reliable method to screen for common bacterial blight (CBB) resistance in *Phaseolus vulgaris* L. Annu. Rept. Bean Improv. Coop. 41:53-54.
- Çakır, S., Atmaca, E., ve Başbağcı, G.** (2016). Kuru Fasulye Tarımı ve Yetiştiriciliği Yapılan Kuru Fasulye Çeşitleri. Eskişehir İli Ziraat Odaları Tarım Rehberi, Ocak 2016, 184-185.

KAYNAKÇA (Devam Ediyor)

- Dillard, H.R. ve Legard, D.E.** (1991). Vegetable Crops Bacterial Diseases of Beans, Cornell Universty Vegetable MD Online, [Erişim: 05.08.2022 <https://www.vegetables.cornell.edu/pest-management/disease-factsheets/bacterial-diseases-of-beans/>]
- Duman, K.** (2020). Fasulye Hale Yanıklığı Hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*) Biyolojik Mücadelesinde Endofit Bakterilerin Etkinliklerinin Araştırılması, (Yayınlanmış Doktora Tezi). Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Hatay
- Erman, M., Kantar, F., Pekřen, E., Sayar, M.T., Elkoca, E. ve Saęel, Z.** (2009). Kuru Fasulye Yetiştiriciliğinde Üretimi Sınırlandıran Biyotik ve Abiyotik Stres Faktörleri. Tarladan Sofraya Kuru Fasulye Çalıştayı, 30-31 Temmuz 2009, 32.
- Fourie, D., Miklas, P.N. ve Ariyaratne, H.M.** (2004). Genes conditioning halo blight resistance toraces 1, 7, and 9 occur in a tightcluster. Annu. Rep. Bean Improv. Coop, 47,103-104.
- Garcia, F.P., Sanchez, G., Beebe, S.E. ve Tohme, J. M.** (2017). Marcadores SCAR y RAPD para la resistencia a la bacteriosis comun (CBB)del frijol, Centro Internacional de Agricultura Tropical, 130-134.
- Haliloğlu, K., Türkoęlu, A., Öztürk, H.I., Özkan, G., Elkoca, E. ve Poczai, P.** (2022). Retrotransposon Markers in the Analysis of Genetic Diversity among Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Germplasm from Türkiye. Genes (Basel). 13(7): 1147.
- Harveson, R.M. ve Schwartz, H.F.** (2007). Bacterial Diseases of Dry Edible Beans in the Central High Plains, Plant Health Progress, 25 January 2007.
- Jung, G., Skroch, P.W., Nienhuis, J., Coyne, D.P., Arnaud-Santana, E., Ariyaratne, H.M. ve Marita, J.M.** (1999). Confirmation of QTL associated with common bacterial blight resistance in four different genetic back grounds in common bean, CropSci, 39, 1448-1455.
- Kelly, J. D. ve Miklas P. N.** (1998). The role of RAPD markers in breeding for disease resistance in common bean Kluwer Academic publishers. Molecular Breeding, 4, 1-11.
- Kiran, U., Khan, S., Mirza, K.J., Ram, M. ve Abdin, M.Z.** (2010). Scar Markers: A Potential Tool for Authentication of Herbal drugs. Fitoterapia, 81, 969-976.

KAYNAKÇA (Devam Ediyor)

- Leppik, E. E.** (1970). Gene centers of plants as sources of disease resistance. Annual Review of phytopathology, 323-344.
- Maddock, S.E. ve Ingram, D.S.** (1981). Studies of survival and longevity of the lightleaf spot pathogen of brassicas, *Pyrenopeziza brassicae*. *Transactions of the British Mycological Society* 1, 153-159.
- McGrath, M.T.** (2021). Bacterial Diseases of Beans, Cornell Vegetables [Erişim: 20.10.2022, <https://www.vegetables.cornell.edu/pest-management/disease-factsheets/bacterial-diseases-of-beans/>]
- Miklas, P.N., Fourie D., Wagner J., Larsen R.C., ve Mienie. C.M.S.** (2009). Tagging and mapping Pse-1 gene for resistance to halo blight in common bean host differential cultivar UI-3. *CropSci*, 49,41-48,
- Miklas, P.N., Larsen, R.K., Victry, R., Delorme, C., Marma, R.H., Riley, ve James D. K.** (2000a). Marker-assisted selection for the bc-12 gene for resistance to BCMV and BCMNV in common bean. *Euphytica* 116(3), 211-219,.
- Miklas, P.N., Smith, J.R., Riley, R., Grafton, K.F., Singh, S.P G., Jung, ve Coyne, D. P.** (2000b). Marker-assisted breeding for pyramided resistance to common bacterial blight in common bean. *Annu. Rep. Bean Improv Coop*, 43,39-40.
- Morneau, E.** (2019). The development of a Niemann-Pick gene-based marker in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) for the selection of common bacterial blight resistance, Master Thesis, The University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.
- Muedi, H. ve Fourie, D.** (2014). Bacterial diseases of dry beans: Every producer's night mare, Grain SA, [Erişim: 01.11.2022 <https://www.grainsa.co.za/bacterial-diseases-of-dry-beans:-every-producer-s-nightmare>]
- Muhamba, T., Chilagene, L. A., Massawe, D.P., Kusolwa, P. ve Msolla, S.N.** (2013). Marker Assisted Selection for Common Bean Diseases Improvements in Tanzania: Prospects and Future Needs, *Plant Breeding from Laboratories to Fields* 121-147.
- Mutlu, N., Miklas, P., Reiser, J. ve Coyne, D.** (2005). Backcross breeding for improved resistance to common bacterial blight in pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Breeding*. Vol:124, s. 282-287.

KAYNAKÇA (Devam Ediyor)

- O'Boyle, P.D., Kelly, J. D. ve Kirk, W. W.** (2007). Use of Marker-assisted Selection to Breed for Resistance to Common Bacterial Blight in Common Bean, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(3), 381-386.
- Özkaya, E.** (2013). Yemeklik Tane Baklagiller'in Türkiye Ekonomisindeki Önemi, *Ziraat Mühendisliği*, Ocak-Haziran 2013, 360, 24.
- Palacioğlu, G., Tombul, S., Bayraktar, H. ve Özer, G.** (2021). Ülkemizde Yetiştirilen Önemli Fasulye Çeşitlerinin Pas (*Uromyces appendiculatus*) ve Adi Yaprak Yanıklığı (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) Hastalıklarına Karşı Dayanıklılık Kaynakları Açısından Değerlendirilmesi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 7(2), 222-230.
- Pedraza, F., Gallego, G., Beebe, S. ve Tohme, J.** (1997). Marcadores SCAR y RAPD para la resistencia a la bacteriosis comun (CBB). Taller de mejoramiento de frijol para el Siglo XXI: Bases para una estrategia para America Latina, 130-134.
- Portilla, A.E., Mayor-Duran, V.M., Beundia, H.F., Blair, M.W., Cichy, K. ve Raatz, B.** (2021). Climbing bean breeding for disease resistance and grain quality traits, *Legume Science*, 4(2), 1-14
- Poyraz, İ., Şahin, B. ve Atmaca, E.** (2017). Detection of Ten Resistance Genes Against *P. syringae* pv. *phaseolicola* and *X. axonopodis* pv. *phaseoli* in Twelve Local Bean Varieties Using SCAR Markers. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(2), 241-248.
- Schwartz, H.F.** (2022). Bacterial Diseases of Beans [Erişim, 01.12.2022: <https://extension.colostate.edu/topic-areas/agriculture/bacterial-diseases-of-beans-2-913/>]
- Smith, C. E. J.** (1986). Preceramic Plant Remains From Guila Naquitz. In: Flannery, K. V. (ed). *Guila Naquitz: Archaic Foraging and Early Agriculture In Oaxaca, Mexico*. Academic Press, New York, 265-274.
- Singh, S.P.** (1994). Gamete selection for simultaneous improvement of multiple traits in common bean. *CropSci.* 34:352–355.
- Singh, S.P.** (2001). Broadening the genetic base of common bean cultivars. *CropScience* 41(6), 1659-1675.
- Şehirali, S.** (1988). Yemeklik Dane Baklagiller. A.Ü.Z.F. Yayınları, 1089, Ankara, 435

KAYNAKÇA (Devam Ediyor)

- Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM),** (2019). Baklagil Sektör Politika Belgesi, 2019-2023 [Erişim: 15.11.2022, <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/Baklagil%20Sekt%C3%B6r%20Politika%20Belgesi%202019-2023.pdf>]
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK),** (2022a). İstatistik Veri Portalı [Erişim: 10.12.2022, <https://data.tuik.gov.tr/Search/Search?text=baklagiller>]
- Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK),** (2022b). İstatistik Veri Portalı [Erişim: 05.11.2022, <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111>]
- Türkmen, O., Özçelik, F., Nizam, Ö. ve Baytekin, H.** (2016). Topraksız Fasulye Kültüründe Azotun Rhizobium Bakteri Nodülasyonu ve Bitki Gelişimi Üzerine Etkisi. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi 25(1), 201-205.
- Uguvanyi, S., Udengwu, O.S., Snowdon, R.J. ve Obermeier, C.** (2022). Novelcan didateloçifor morpho-agronomic and seed quality traits detected by targeted genotyping-by sequencing in common bean, *Frontiers in Plant Science*, 2022;13, 1-18.
- Xu, Y. ve Crouch, J.H.** (2008). Marker assisted selection in plant breeding: from publication to practices: Review and interpretation. *Crop Science* 39:1-407.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E. ve Erkoyuncu, M.T.** (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı, *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*. 4(2), 1-12.
- Yu, K., Park, S.J. ve Poysa, V.** (2000). Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficiency and economics. *Plant Breed.* 119, 411-416.