

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PHASEOLUS SP GEN KAYNAKLARININ SOĞUK VE DON STRESİNE
TOLERANS AÇISINDAN FENOTİPLENMESİ VE GENOTİPLENMESİ**

Bilgehan Turan CERTEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

2016

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PHASEOLUS SP GEN KAYNAKLARININ SOĞUK VE DON STRESİNE
TOLERANS AÇISINDAN FENOTİPLENMESİ VE GENOTİPLENMESİ**

Bilgehan Turan CERTEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

2016

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PHASEOLUS SP GEN KAYNAKLARININ SOĞUK VE DON STRESİNE
TOLERANS AÇISINDAN FENOTİPLENMESİ VE GENOTİPLENMESİ**

Bilgehan Turan CERTEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

(Bu tez TÜBİTAK tarafından 114O806 nolu proje ile desteklenmiştir.)

2016

ÖZET

PHASEOLUS SP GEN KAYNAKLARININ SOĞUK VE DON STRESİNE TOLERANS AÇISINDAN FENOTİPLENMESİ VE GENOTİPLENMESİ

Bilgehan Turan CERTEL

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Faik KANTAR

Aralık 2016, 54 sayfa

Fasulye dünyada ve Türkiye’de başta gelen baklagil bitkilerinden birisidir. Fasulye ülkemizin her tarafında taze ya da kuru tane amaçlı açık alanlarda ve taze tüketim amaçlı kışları seralarda yetiştirilmektedir. İlkbaharda fide döneminde ve sonbaharda generatif döneme rastlayan soğuk (10 °C altındaki sıcaklıklar) ve don stresi (0 °C altındaki sıcaklıklar) bitkinin üretimini sınırlayan en önemli stres faktörü olarak kabul edilmektedir. Gen kaynaklarından yararlanarak geliştirilecek soğuğa toleranslı çeşitler güvenli üretimin sağlanması için büyük önem arz etmektedir.

Yapılan bu çalışmada yüksek rakımlardan toplanan ekotipler dâhil 130 genotipi içeren *Phaseolus vulgaris*, türlerini kullanarak soğuğa toleranslı çeşitlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Fasulye gen kaynakları hücre ve bitki seviyesinde fide ve çiçeklenme devresinde iklim odalarında 5 °C’de ve 0 °C’de soğuk stresi için -3 °C’de don stresi için test edilmiştir. Soğuk ve don stresine tabi tutulan genotipler fide evresinde hücre membrane stabilitesi, klorofil ölçümleri, yaprak rengi ve görsel skala (zararlanma indeksi) ölçümleri gerçekleştirilerek seleksiyona tabi tutulmuştur. Yapılan ölçümlerin sonucunda soğuk ve don stresine toleransı belirlemede en önemli kriterin görsel değerlendirmenin olduğu belirlenmiştir. Seleksiyon çalışmaları sonuçlarına göre öncelikli olarak don stresine tabi tutulan genotipler olmak üzere zararlanma indeksi 1, 2 ve 3 grubuna giren 55 genotip seçilmiştir.

İklim odalarında yapılan testlemeler sonucu 55 çekirdek koleksiyonun moleküler karakterizasyonu SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) yöntemi ile belirlenmiştir. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında 19 SRAP primeri kullanılarak dominant veriler elde edilmiştir. PCR amplifikasyon sonucunda toplam 211 DNA bandının 109 tanesinin polimorfik olduğu belirlendi.

Seçilen gen kaynaklarını kullanarak gelecekte yapılacak olan tarla ve sera adaptasyon çalışmaları sonucu soğuk ve don stresine toleranslı taze fasulye çeşitlerin geliştirilmesi ile tarlada erken ilkbahar ve geç sonbahar, serada kış aylarında daha güvenli üretim imkânı sağlanabilecektir.

ANAHTAR KELİMELEER: Fasulye, Soğuk Stresi, Don Stresi, Fenotipleme,
Moleküler Karakterizasyon, SRAP

JÜRİ: Prof. Dr. Faik KANTAR

Prof. Dr. Tahsin KARADOĞAN

Yrd. Doç. Dr. Hatice İKTEN

ABSTRACT

PHENOTYPING AND GENOTYPING OF *PHASEOLUS SP* GENOTYPES FROM CHILLING AND FREEZING STRESS TOLERANCE

Bilgehan Turan CERTEL

MSc Thesis in Agricultural Biotechnology

Supervisor: Prof. Dr. Faik KANTAR

December 2016, 54 pages

Beans are one of the leading legume plants in the world and in Turkey. Beans are cultivated in open areas for fresh or dry grains all over the country and beans are cultivated in greenhouses for fresh consumption purposes in winter. Chilling (temperatures below 10 ° C) and freezing stress (temperatures below 0 ° C) are considered to be the most important stress factors limiting the production of the plant during generations in the late spring and early autumn. Tolerant varieties to be developed by utilizing plant genetic resources are of great importance for ensuring safe production. In this study, it was aimed to develop chilling and freezing tolerant varieties using *Phaseolus vulgaris* species containing 130 genotypes including ecotypes collected from high altitudes. The bean genetic resources were tested at seedling stage for chilling stress at 5 °C, at 0 °C and for freezing stress at -3 °C at cell and plant level in the climate chambers. Genotypes subjected to chilling and freezing stress were subjected to selection by performing measurements of cell membrane stability, chlorophyll measurement, leaf color and visual scale (cold damage index) at seedling stage. As a result of the measurements made, it was determined that the most important criterion for determining the chilling and the freezing stress tolerance is the visual evaluation (cold damage index). Of the genotypes tested for freezing stress, 55 genotypes belonging to groups 1, 2 and 3 of the cold damage index were selected for further studies.

The molecular characterization of the 55 score collection was determined by the Sequence Related Amplified Polymorphism (SRAP) method. Molecular characterization studies were performed using 27 ISSR primers to generate the dominant data. In total, 211 DNA fragments were scored, 109 of which were polymorphic.

Future field and greenhouse adaptation studies using selected genetic resources will provide safer crops in early spring and late autumn and winter with the development of fresh bean varieties tolerant to chilling and freezing stress.

KEYWORDS: Bean, Chilling Stress, Freezing Stress, Phenotyping, Molecular Characterization, SRAP

JURY: Prof. Dr. Faik KANTAR

Prof. Dr. Tahsin KARADOĞAN

Yrd. Doç. Dr. Hatice İKTEN

ÖNSÖZ

Bu araştırmanın yüksek lisans tezi olarak planlanıp yürütülmesinde ve sonuçların değerlendirilmesinde bilgi ve deneyimlerini hiç esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Faik KANTAR ve bölümümüz öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Hatice İKTEN'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgilerinden, tecrübelerinden yararlandığım beni her konuda cesaretlendiren ve desteklerini hep arkamda hissettiğim değerli fakültemiz öğretim üyelerine sonsuz teşekkür ederim. Çalışmalarımın başından sonuna yardım ve desteklerini esirgemeyen bölümümüz de yüksek lisans ve doktora eğitimi almakta olan kıymetli arkadaşlarıma sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında ve aldığım bütün kararlarda her zaman yanımda olan, beni destekleyen, çalışmalarım boyunca bilgisinden ve tecrübesinden yararlandığım eşim, annem, kardeşim ve aynı zamanda bir akademisyen olarak da her zaman yol gösterici olan babama sonsuz saygı, minnet ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

I. GİRİŞ	1
II. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Soğuk stresi.....	4
2.2. Don stresi.....	5
2.3. Soğuk ve Dona Dayanıklılığın Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar.....	6
2.4. Yüksek Rakımlardan Toplanan Gen Kaynaklarının önemi	7
2.5. Moleküler Karakterizasyon	8
III. MATERYAL VE YÖNTEM	11
3.1. Elektriksel Geçirgenlik Testi	12
3.2. Yaprak Rengi Ölçümleri.....	12
3.3. Doğrudan klorofil ölçümleri (SPAD okumaları)	12
3.4. Soğuk ve Don Zararının Görsel Olarak Değerlendirilmesi	12
3.5. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk Stresine (5 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu.....	13
3.6. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk Stresine (0 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu.....	13
3.7. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Don Stresine toleranslı Genotiplerin Seleksiyonu.....	14
3.8. Moleküler Karakterizasyon	14
3.8.1. DNA İzolasyonu	14
3.8.2. SRAP- PCR Koşullarının Optimizasyonu	16
IV. BULGULAR.....	19
4.1. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk Stresine (+5 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu.....	19
4.2. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk Stresine (0 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu.....	23
4.3. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Don Stresine (-3 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu.....	28
4.4. Moleküler Karakterizasyon	34
V. TARTIŞMA.....	43
5.1 Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk ve Don Stresine Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu.....	43
5.2 Moleküler Karakterizasyon	44
VI. KAYNAKÇA.....	47
VII. EKLER	54
ÖZGEÇMİŞ	57



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μmol	: Mikromol
μl	: Mikrolitre
A	: Adenin
Bp	: Base pair-Baz çifti
C	: Sitozin cm : Santimetre
ddH ₂ O	: Distile-Deiyonize Su
dk	: Dakika
g	: Gram
G	: Guanin
M	: Molar
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
Mm	: Milimolar
ng	:Nanogram
U	:unit-ünite
T	:Timin
°C	:Santigrat derece

KISALTMALAR

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism-Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Farklılığı
ANOVA	: Moleküler Varyans Analizi
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat-Gç Basit Dizi Tekrarları
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksiribonükleotidtrifosfat
EC	: Electrical Conductivity
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
PCR	: Polymerase Chain Reaction-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SSR	: Simple Sequence Repeat-Basit Dizi Tekrarları
rpm	: Rotation Per Minute-Dakikadaki Devir Sayısı
NTSYS	: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System-Sayısal Taksonomi ve Çok Değişkenli Analiz Sistemi
UPGMA	: Unweighted Pair-Goups Method Using Arithmetic Averages
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA-Rasgele Çoğaltılmış DNA Farklılığı
RFLP	:Restriction Fragment Length Polymorphism-Kısıtlanmış Parça
RNA	: Ribonükleik asit
Uzunluğu Farklılığı Taq	:Thermus aquaticus
TBE	: Tris-Borik asit-EDTA
TKoA	:Temel Koordinatlar Analizi
Tm	: Melting Temperature-Erime Sıcaklığı
Zİ	: Zararlanma indeksi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1:Yaprak örneklerinin ezilmesi.....	15
Şekil 3.2: DNA örneklerinin agaroz jele yüklenmesi	15
Şekil 3.3: Örneklerin santrifüj edilmesi	15
Şekil 3.4: Araştırmada kullanılan 55 fasulye genotipine ait genomik DNA'ların agaroz jel görüntüleri.....	16
Şekil 3.5: SRAP- PCR koşullarının optimizasyonuna ait agaroz jel görüntüsü	16
Şekil 4.1: 5 °C'de testlenen bitkilerden bir görüntü.....	19
Şekil 4.2: 0 °C'de testlenen bitkilerden bir görüntü.....	24
Şekil 4.3: -3 °C'de testlenen bitkilerden bir görüntü.....	29
Şekil 4.4: Soğuk ve don stresi sonrası bitkilerde renk, SPAD ve EC ölçümü.....	33
Şekil 3.5: Me1 Kombinasyonları.....	35
Şekil 4.6 Me2Me3Me4Me5 Kombinasyonları	35
Şekil 4.7 : Me6Me7Me8Me9 Kombinasyonları	35
Şekil 4.8: Me10Me11Me12Me13 Kombinasyonları	35
Şekil 4.9: Seçilen primer çiftlerinden Me6Em6 ile 55 genotipin PCR görüntüsü.....	36
Şekil 4.10: Seçilen primer çiftlerinden Me13Em2 ile 55 genotipin PCR görüntüsü..	36
Şekil 4.11: Seçilen primer çiftlerinden Me12Em6 ile 55 genotipin PCR görüntüsü .	36
Şekil 4.12 Benzerlik indeksi değerleri	40
Şekil 4.13: Fasulye genotiplerinde SRAP analizi sonucu elde edilen dendrogram .	411
Şekil 4.14: Temel Bileşenler Analizinden elde edilen iki boyutlu düzlem üzerinde genotiplerin dağılımı	42
Şekil 4.15: Temel Bileşenler Analizinden elde edilen üç boyutlu düzlem üzerinde genotiplerin dağılımı	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1: Denemede kullanılan genotip bilgileri.....	11
Çizelge 3.2: PCR Karışımı.....	17
Çizelge 3.3: Termal Döngü Protokolü.....	17
Çizelge 3.4: Sequence Related Amplified Polymorphism (SRAP) Forward ve Reverse primerleri ve dizilimleri.....	18
Çizelge 4.1: 5 °C Zararlanma İndeksine Göre Genotipler.....	19
Çizelge 4.2: Soğuk Testi 5 °C Zararlanma İndeksine Göre Ortalama Ölçüm Sonuçları.....	20
Çizelge 4.3: Soğuk Stresi 5 °C Genotiplerin Ortalama Ölçüm Sonuçları.....	20
Çizelge 4.4: 0°C Zararlanma İndeksine Göre Genotipler.....	24
Çizelge 4.5: Soğuk Testi 0 °C Zararlanma İndeksine Göre Ortalama Ölçüm Sonuçları.....	25
Çizelge 4.6: Soğuk Stresi 0 °C Genotiplerin Ortalama Ölçüm Sonuçları.....	25
Çizelge 4.7: Don Stresi -3 °C Zararlanma İndeksine Göre Genotipler.....	28
Çizelge 4.8: Don Stresi Denemesi Zararlanma İndeksine Göre Ortalama Ölçüm Sonuçları.....	29
Çizelge 4.9: Don Stresi Denemesi Genotiplerin Ortalama Ölçüm Sonuçları.....	30
Çizelge 4.10: Zararlanma indeksine göre uygulamaların karşılaştırılması.....	33
Çizelge 4.11: SRAP primer kombinasyonlarının ürettiği toplam bant sayısı ve polimorfik bant sayısı.....	34
Çizelge 4.12: Eigen Değerleri, varyans yüzdeleri ve kümülatif varyans değerleri.....	38

I. GİRİŞ

Fasulye Dünyada ve ülkemizde yaygın bir şekilde yetiştirilen ekonomik öneme sahip bir baklagil bitkisidir. Fasulye ülkemizin her tarafında taze ya da kuru tane amaçlı açık alanlarda ve taze tüketim amaçlı kışları seralarda yetiştirilmektedir.

Türkiye, birçok bitki türü gibi fasulye için de gen merkezi konumunda olmadığı halde, çok yüksek düzeyde genetik varyasyon barındırmaktadır. Hatta bazı durumlarda, bu varyabilitenin kültüre alınmış genotiplerde, yabani popülasyonlara göre çok daha yüksek olabileceği bildirilmektedir. Bitki genetik kaynakları köy popülasyonları, kullanılmayan eski çeşitler, yabani türler genetik çeşitlilik için önemli olup, bir bitki türünün gen havuzundaki kalıtsal bilginin çeşitliliği ve zenginliğini göstermektedir. Bitki genetik kaynaklarının karakterizasyonu, temel olarak tohum örnekleri ya da popülasyonlar arasındaki genetik farklılıkların, bu örnek ve popülasyonlardaki genetik varyasyonun miktarı ve dağılımını belirlemek için yapılır. Bu nedenle toplanan gen kaynaklarının bitki özelliklerinin belirlenmesi hem ıslah çalışmaları hem de gen bankaları açısından büyük önem taşımaktadır (Akbulut ve ark. 2011).

Genotipleme ve fenotipleme arasındaki ilişki; Fenotip, büyüme ve gelişme sırasında işlevleri ve yapıları değişen süreçtir. Dahası bu süreç bütün çevresel faktörler tarafından etkilenir. Örneğin genotipler modern çeşitler şeklinde doğal seleksiyon yoluyla veya bitki ıslahçıları tarafından biyoteknolojik çalışmalarla seçilerek tarımda kullanılmaktadır. Genotipik bilgilerin yorumlanması da çevreden etkilenir. Farklı genotipler farklı ortam koşullarına farklı tepkiler verebilir. Farklı fenotiplerde genotip-çevre etkileşimi sonuçları çeşitli düzeylerde gözlemlenebilir. Fenotip, genotip ve çevre arasında dinamik bir etkileşim vardır ve bu etkileşimler bitkilerin performansını ve verimliliğini belirler.

Düşük sıcaklık stresi, bitkilerin doğada yayılışını ve yetişmesini etkileyen en önemli faktör olduğu belirtilmiştir (Thakur ve ark., 2010). Soğuklar zaman zaman subtropik bölgelerde yetiştirilen bitkilerde dahi zararlar meydana getirebilmektedir. Bitkilerin aşırı kış soğuklarında zarar görmeden yaşam faaliyetlerini sürdürmesi basit bir mekanizma değildir. Bu özellik bitkilerin genetik yapılarına, beslenme ve yapılan kültürel işlemlere bağlı olduğu kadar, bitkinin mevsimsel fenolojik gelişme durumuna da bağlıdır. Anavatanı sıcak bölgeler olan fasulye, zamanla subtropik ve ılıman kuşaklarda da geniş yetiştirme alanlarına adapte olmuştur (Şalk ve ark.,2008,). Bitkilerin stres koşullarına dayanıklılığı adaptasyon yetenekleri ile yakından ilgilidir. Genel olarak adaptasyon yeteneği iyi olan bitki tür ve çeşitleri, çok çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörüne karşı dirençli olabilmektedir.

Bitkilerin 10 °C ile 0 °C arasındaki düşük sıcaklıklara maruz kalması soğuk zararı, 0 °C nin altındaki sıcaklıklara maruz kalması ise don zararı olarak tarif edilmektedir (Hirt ve Shinozaki, 2004). Soğuk ve don stresi bitkilerin yetişmesini etkileyen en önemli stres faktörleri arasında kabul edilmektedir. Soğuk ve donma streslerinin doğası farklıdır. Soğuk stresi hücreler üzerine düşük sıcaklığın doğrudan etkisidir. Donma ise dolaylı olarak rol oynar, hücreleri buz oluşumu ile zarara uğratar (Pearce, 1999).

Bu çalışmada fenotipik olarak fasulye gen kaynaklarının soğuk ve don stresine toleranslı taze fasulye genotiplerinin belirlenmesi ve yeni çeşitlerin geliştirilmesi ile

tarlada erken ilkbahar ve geç sonbahar, serada kış aylarında daha güvenli üretim imkânı sağlamak amaçlanmıştır.



II. KAYNAK TARAMASI

Fasulye (*Phaseolus vulgaris*) baklagiller familyasında Güney Amerika orijinli bir türdür. Avrupa 17. yüzyılda fasulye ile tanışmış ve daha sonra tarımı artmış ve dünya genelinde yetiştirilmeye başlanmıştır. Türkiye’de fasulye üretimi yaklaşık 250 yıl önce başlamış olup, özellikle Karadeniz bölgesinde adaptasyon sağlamış ve geniş varyasyonlar göstermiştir (Sözen ve ark 2012). Fasulye ülkemizin her tarafında taze ya da kuru tane amaçlı açık alanlarda ve taze tüketim amaçlı kışları seralarda yetiştirilmektedir. Fasulyenin kuru taneleri yanında taze olum döneminde taze taneleri veya baklaları sebze olarak kullanılmakta ve yine taze tohumları ve baklaları konserve yapımında veya dondurulmuş olarak sanayide gıda maddesi olarak değerlendirilmektedir (Özdemir, 2002). Önemli bir protein ve kalori kaynağı olan fasulye, birçok ülkede diyetlerin vazgeçilmez bileşeni konumundadır (Pachico, 1989). Fasulye, kendine döllenmesi, basit diploid yapıya ($2n=22$) ve nispeten küçük genoma sahip olması ve iyi geliştirilmiş moleküler haritası bulunması gibi özellikleri nedeniyle genomik çalışmalar için oldukça cazip bir türdür ve genetik transformasyon çalışmalarının hedef bitkisi durumundadır (Ulukapı ve Ark. 2012).

Dünya ölçeğinde 20,7 milyon ton kuru fasulye ve 19,6 milyon ton taze fasulye üretimi yapılmaktadır. Türkiye de ise 235.000 ton kuru fasulye ve 640.836 ton taze fasulye üretimi bulunmaktadır (Anonim., 2015). Taze fasulye üretimi Antalya ili açık alan ve örtü altı üretiminde önemli bir yere sahiptir. Türkiye açık alan sebze ekim alanlarının %15,3’ü ve örtü altı sebze üretiminin %53’ü Antalya ilinde gerçekleştirilmektedir. 2011 verilerine göre Antalya’da 6.743 dekar örtü altı alanında yıllık 22.453 ton taze fasulye üretimi yapılmakta ve bu örtü altı üretiminden 41.088.990 TL kazanç elde edilmektedir. Örtü altı üretimine ilave olarak aynı yılda toplam 28.977 dekar açık alanda 24.962,88 ton taze fasulye üretimi yapılmış ve açık alan üretiminden toplam 45.682.061,25 TL gelir elde edilmiştir (Anonim., 2012). Antalya sahil kuşağının taze fasulye üretimi açısından çok avantajları bulunmaktadır. Diğer bölgelerde hava sıcaklıklarının düştüğü son bahar aylarında Akdeniz sahil kuşağının nispeten bir süre daha devam eden sıcaklıkları geç turfanda üretimine imkân vermektedir.

Bitkiler sık sık hem doğada hem de bahçe koşullarında çevresel strese maruz kalırlar ve bunun sonucunda gelişmeleri olumsuz olarak etkilenebilir. Çevresel strese karşı bitkilerin tolerans mekanizmalarının altında yatan fizyolojik süreçlerin anlaşılması hem bahçecilik hem de çevre için büyük önem taşımaktadır. Stres koşullarına tolerans, anatomik ve morfolojik tüm organizasyon seviyelerinde hücresel, biyokimyasal ve moleküler seviyelerde meydana gelen entegre bir olaydır.

Sıcaklık stresi yüksek sıcaklık, soğuk ve don stresi olarak üçe ayrılır. Fasulye soğuk ve don stresinden kışın, ilkbahar geç donlarında ve sonbahar erken donlarında etkilenir. Ancak yüksek rakımlara adapte olmuş bitkilerin soğuk ve dona olan toleranslarının, gelişmelerinin ve hatta çimlenme yeteneklerinin diğer bitkilere göre arttığı birçok çalışmada belirtilmiştir. Extrem sıcaklıklarda bitkiler yaşam faaliyetlerini sürdüremez ve bunun sonucunda zarar görmemek için fenolojileri değişikliğe uğrar.

2.1. Soğuk stresi

Her bitkinin normal büyüme ve gelişim gösterebilmesi için, belirli bir optimum sıcaklık derecesi gerekmekte ve bu sıcaklık derecesinin altındaki sıcaklıklar bitkilerde soğuk stresi olarak algılanmaktadır. Ayrıca, belirli sıcaklık koşulları bir bitki için optimum olurken, diğer bitki için strese neden olabilmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005). Soğuk stresinden etkilenmelerine göre bitkiler 3 gruba ayrılırlar (Turan ve Ekmekçi, 2008). Soğuğa hassas olanlar 12°C'nin altındaki sıcaklıklardan zarar görürler. Soğuğa toleranslı fakat dona duyarlı olanlar 12°C'nin altındaki sıcaklıklara uyum sağlayabilir, fakat donma sıcaklıklarında hayatta kalamazlar. Donmaya toleranslı olanlar donma sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda hayatta kalabilirler ve bu sıcaklıklara uyum sağlayabilirler.

10 °C altındaki sıcaklıklar genetik yapı, tür ve çeşide bağlı olarak bitkilere zarar verebilmektedir. Soğuk zararı şekline göre üç şekilde ortaya çıkmaktadır. Birincisi direkt zarar (yaprak renginde değişme, solgunluk, doku nekrozu), ikincisi indirekt zarar (hücre çeperinden özsuyu sızıntısı, besin elementi eksikliği, respirasyon bozukluğu, toksin birikmesi, proteinlerin parçalanması) ve üçüncüsü ise ikincil stres zararı (su stresi, oksijen eksikliği) şekillerinde ortaya çıkabilmektedir (Levitt, 1980). Soğuk zararından etkilenen bitkilerde zayıf çimlenme, zayıf fide gelişmesi, bitki gelişmesinde gerilikler, solgunluk, kloroz, nekroz ve zayıf bakla ve tohum tutma gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır (Kintake, 1998). Soğuk şartlarda bitkilerde polen canlılığında ve polen çimlenmesinde azalma görülmektedir (Thakura ve ark., 2010). Belirtilen zararlanma seviyeleri bitkilerin soğuk şartlara maruz kalma süresine bağlı olarak değişmektedir. Soğuk stresi, bitki gelişmesinde gerileme ve olgunlaşmanın gecikmesi ile verim, bakla ve tohum kalitesini önemli şekilde etkilemektedir.

Soğuk zararı esas itibarıyla, hücre membranlarının lipid yapısının bozulması, hücre özsuyu sızıntısı ve mebranlarda taşınmanın azalması, mitokondrilerde respirasyonun bozulması ve fotosentezin inhibe edilmesi suretiyle bitki gelişmesini etkilemektedir (Yoshida et al., 1999). Soğuk zararı oluşmuş bitkilerde membran lipidleri sıvı-kristal yapıdan katı-jel yapıya dönüşmekte, membran geçirgenliği ve sonuç olarak hücre öz suyunun membran dışına sızıntısı artmaktadır (Jones, 1992). Taylor ve Rowley (1971) yapmış oldukları çalışmada; fotosentezin düşük sıcaklıktan etkilenerek durduğunu, ışık şiddetinin önemli olduğunu ve ışık şiddetinin miktarına göre çeşitten çeşide değişmek üzere düşük sıcaklığa tepkinin değiştiği; C3 ve C4 bitkilerinin her ikisinde de düşük sıcaklığa duyarlı tepki veren veya tolerans gösteren bireylerin bulunduğunu bildirmektedirler.

Fasulyenin soğuğa ve dona hassas olduğu bilinmektedir ve 15°C'nin altındaki sıcaklıklar da bitki gelişmesi yavaşlamakta, çimlenme düşmekte, olgunlaşma gerilemekte, polen, bakla ve tohum üretimi düşmektedir. Soğuk stresinin fasulye üretimini sınırlayan en önemli faktör olduğunu ve gelişmesinde 0-10 °C arasındaki sıcaklıkların kritik bir öneme sahip olduğunu bildirmiştir (Lopez ve ark., 2008). Sepetoğlu ve Altıntaş (1994), fasulyenin don zararına karşı çok hassas olduğunu ve ekim zamanının son don tarihinden sonra ve uygun çimlenme için sıcaklığın 15 °C'nin üstünde olması gerektiğini bildirmişlerdir. Taze fasulye de 7 °C'nin altındaki sıcaklıklarda soğuk zararı olduğu bildirilmiştir (Lutaktin ve ark., 2012). Fasulye

bitkisi üzerinde yapılan çalışmalarda soğuk şartlarda bitki su potansiyeli, net fotosentez ve stoma geçirgenliği azalmıştır (Wolfe, 1991). Çimlenme esnasında ortaya çıkan soğuk stresi yine birçok kültür bitkisinin yanında fasulye bitkisinde de kökçük uçlarında nekroz dokuları ve kök korteksinde tahribat şeklinde zarar oluşturmaktadır (Zaiter ve ark., 1994). Dickson and Boettger (1984), soğuğa toleranslı genotiplerin seleksiyonunda 16°C de çiçeklenmeye kadar geçen gün sayısının kullanılabileceğini bildirmiştir. Serin şartlarda çiçek oluşturma yeteneği soğuğa toleranslı çeşitler için önemli bir özellik kabul edilmektedir. 15.5 saat fotoperiyotta değişik gece/gündüz sıcaklıklarında taze fasulye bitkileri 12.5/15 °C de daha yüksek sıcaklığa göre (20/20°C) nispeten daha düşük gelişme özelliği göstermiştir (Austin ve MacLean, 1972). Düşük sıcaklıklarda fasulye gelişme oranının %50-60 azaldığı ve daha düşük yaprak alan indeksi oluşturduğu görülmüştür (Wolfe, 1991). Fasulye, bezelye ve ıspanak bitkileri serin şartlarda daha kalın yapraklar oluşturmuş ve yaprak yoğunluğu artmıştır (Kemp, 1973, 1978). 4 °C de soğuk şartlara maruz bırakılan fasulye bitkilerine su potansiyeli düşmüş, solgunluk görülmüş ve net fotosentez oranı %60 azalmıştır (Wolfe, 1991). 15 günlük fidelerin 16 Saat fotoperiyotta 24 saat 5 °C sıcaklığa maruz bırakılması sonrasında yaprak pigmentasyonu, yaprak su potansiyeli ve yaprak nekroz oluşumu açısından değerlendirilen fasulye türleri arasında da soğuğa toleranslık açısından farklar olduğu ve *P. coccineus* türünün *P. vulgaris* 'e göre daha toleranslı olduğu, *P. aureus* ise en hassas olduğu belirlenmiştir (Guye et al. 1987).

2.2. Don stresi

Gelişme döneminde özellikle açık ve rüzgârsız gecelerde don zararı sık sık ortaya çıkmaktadır. Bitkiler bünyelerinden açık atmosfere hızla ısı kaybederler ve bitki bünyesindeki sıcaklık ortam sıcaklığının altına düşerek bitki bünyesinde bulunan su donar. Fasulye, salatalık ve domates gibi sıcak iklim bitkileri bünyede buz kristalleri oluşumunu müteakip ölürken buğday ve arpa gibi bitkiler kalıtsal dona alışma ve toleranslık mekanizmaları yoluyla sıfırın altındaki sıcaklıklara dayanabilmektedir.

Don zararı ise 0 °C nin altındaki sıcaklıklarda bitkilerin hücreler arası (apoplastik) veya hücre içindeki (Symplastik) sıvının donması ile hücre membranlarının parçalanması sonucu oluşmaktadır (Pearce, 2001; Balasubramanian ve ark., 2004). Don zararına maruz kalmış bitkilerde daha yoğun ve ani hücre öz suyu kaybı oluşmaktadır (Lukantin ve ark., 2012). Don zararı ani olarak oluşmakta ve yapraklardaki renk değişikliği yanında dokulardaki sulu ıslak görüntü ile ortaya çıkarak bitkiler kısa sürede ölmektedirler. Bitkilerde dona toleranslılık, dondan kaçınma (hücre içinde buz oluşmadan) ve toleranslı (hücre içinde buz oluşsa bile) olmak üzere iki mekanizma bulunmaktadır. Bitkilerin 0-10 °C de soğuk şartlara günler veya haftalar süresince maruz kalması ile bitkilerin aklimatize (soğuğa alışma) olması dona toleranslılığı artırmaktadır. Aklimatizasyon sırasında bitkiler hücreler arasında suyun donması sırasında hücreleri koruyan sağlam hücre duvarları oluşturmakta, hücreler arasındaki suda antifiriz proteinleri oluşturmakta (Fujikawa ve ark.,1999) ve kütikülada lipid tabakası oluşturmaktadır (Jefree, 1996).

Dolayısıyla soğuğa toleranslılık dona toleranslılığın ön şartı durumundadır (Hirt ve Shinozaki, 2004). Bitki dokularında suyun azlığı dondan kaçınma mekanizması olarak ortaya çıkmaktadır. Kuru polen ve tohumlar don zararından

etkilenmezken bünyelerinde su oranı artınca dayanabildikleri sıcaklık derecesi yükselmektedir. Hypogeal çimlenme özelliğine sahip *P.coccineus* türünün epigeal çimlenme özelliğine sahip *P. vulgaris* türüne göre dona daha toleranslı olduğu bilinmektedir (Guye et al. 1987). Hypoegal fidelerde toprak üstü aksamı ölse bile toprak altında canlı kalan dokular yeniden sürgün vermektedir. Dona tolerans mekanizmasında ise hücreler arası su donarken yoğun sitoplazma özsuyu, gelişen buz kristallerini dengeleyerek hücreyi parçalanmaktan korumaktadır. Hücre protoplazmasının hücrelerarasında oluşan dona dayanma yeteneği bitkilerin dona dayanma derecesini belirlemektedir. Bitkilerin soğuk stresine alışması (aklimatizasyon) sırasında hücrelerin su miktarı azalmakta, doymuş yağ asitlerinin sentezlenmesi, prolin ve şekerlerin sentez edilmesi, kalsiyum birikimi, betain ve Absisik Asit sentezi bitkilerin dona toleranslılığını artırmaktadır (Allard ve ark., 1998). Ancak ortamda buz kristalleri için çekirdek oluşturarak buz teşekkülünü kolaylaştıran maddeler (ice nucleator) (bakteriler, funguslar, böcekler vs) buz teşekkülünü hızlandırarak süper soğuma etkisi yapabilmektedirler.

Sıcak mevsim veya tropikal kökenli baklagiller genelde dona karşı hassas olan bitkilerdir (Maqbool ve ark., 2010). Bitkiler çiçeklenme başladıktan sonra dona daha hassas hale gelmektedir (Lejeune-He'naut et al. (2004). Çiçeklenme aşamasının başlangıcı dona karşı en hassas dönem olarak kabul edilmektedir (Bourion ve ark., 2003). Dolayısıyla erken çiçeklenen varyeteler çok hassas dönemi en az zararla atlatabilmektedir. Geç çiçek açan varyeteler de kışın son donlarını bu sebepten dolayı atlatabilmektedir (Lejeune-He'naut ve ark. 2004). Kuru fasulye bitkilerinin dona hassas olduğu ve -2 °C de don zararında öldüğü bilinmektedir.

2.3. Soğuk ve Dona Dayanıklılığın Belirlenmesine Yönelik Çalışmalar

Soğuk ve dona dayanıklılığı belirlemek için değişik test teknikleri kullanılmaktadır. Kontrollü şartlarda ve tarla şartlarında değişken ve sabit sıcaklık şartlarında yetişen bitkiler bu teknikler yardımıyla test edilmektedir. Don zararının belirlenmesinde Elektrolit Sızıntı Testi (Electrolyte Leakage) ve donmuş fidelerin yeniden gelişme yeteneği en önemli iki test tekniği olarak kullanılmaktadır (Balasubramanian, 2002). Electrolyte leakage testi sera, tarla ve bitki büyütme ortamlarından elde edilen bitkilerin dona dayanma özelliklerini belirlemek amacıyla bitki fizyologları ve ıslahçıları tarafından yaygın olarak kullanılmıştır (Balasubramanian, 2002; Gao ve ar., 2009). Soğuk stresine maruz kalmış bitkilerde klorofil kaybının bir göstergesi olarak fide rengi skoru da bu amaçla kullanılmıştır. Domateste klorofil floresans ölçümleri en hassas teknik olarak kullanılmıştır (Kamps ve ark., 1987). Yine difrensiyal termal analiz (Burke ve ark., al., 1976; Philley et al., 1995) ve dokularda donan bölgeleri tespit etmek amacıyla nuclear magnetic resonance kullanılmıştır. Üniform şartların temin güçlüğüne rağmen tarla testleri buğday (Fowler, 1979), kolza (Teutonico et al., 1993), bezelye (Auld et al., 1988), nohut (Singh et al., 1989), mercimek (Erskine et al., 1994), patates (Estrada,1982) ve fasulye (Gao ve ark., 2009) türlerinde soğuğa ve dona toleranslı genotiplerin seçiminde başarıyla kullanılmıştır. Laboratuvar testleri de bu amaçla birçok türde kullanılmıştır (Fuller and Eagles, 1978; Auld et al., 1988; Swensen and Murray, 1983; Limin ve Fowler, 1985). Infrared video thermography, ise dokularda

buz teşekkülünün izlenmesi amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (Wisniewski and Fuller, 1999). Generatif devrede oluşan soğuk ve don stresinin polen canlılığına zarar verdiği ve çeşit ve çevre koşullarına bağlı olarak fasulyede de canlılığı ve çimlenmesini düşürdüğü bilinmektedir (Thakur ve ark., 2010). Elektriksel geçirgenlik testi ile soğuk ve don stresinin hücre membranlarına vermiş olduğu zararın göstergesi olarak elektrolit (hücre öz suyu) seviyesi amprik olarak ölçülebilmektedir. Düşük sıcaklığa maruz kalan dokularda membran tahribatından dolayı elektrolit çıkışının artması iyi bilinen bir olaydır. Soğuk etkisine maruz kalmış bitkilerde stres şiddetine bağlı olarak elektrolit (hücre öz suyu) kaybı görülürken ve don zararına maruz kalmış bitkilerde daha yoğun ve ani hücre öz suyu kaybı oluşmaktadır (Lutaktin, 2012). Soğuk ve dona maruz kalmış bitkilerden alınan yaprak dokuları üzerinde yapılan elektriksel geçirgenlik testi (EGT), soğuk ve don zararının tespiti ve soğuk ve dona toleranslı genotiplerin seleksiyonu amacıyla kullanılmaktadır (Sukumaran ve Weiser, 1972; Gusta ve Fowler, 1977). Hücre membran stabilitesinin indirek ölçümü olarak EGT kullanılarak soğuğa (DaJun ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2011) ve dona (Balasubramanian ve ark., 2004) toleranslı fasulye genotipleri geliştirilmiştir.

Fasulye bitkisi tür ve çeşitlere bağlı olmak üzere ortam sıcaklığı 7-10 °C altına düştüğü durumlarda hücre membran lipid katmanları kalıcı bir şekilde zarar görmekte ve hücre öz suyu zarar gören membranlardan dışarıya sızarak soğuk zararı oluşmaktadır (Balasubramanian, 2002). Don zararı ise 0 °C'nin altındaki sıcaklıklarda bitkilerin hücre arası veya hücre içindeki sıvının donması ile hücre membranlarının parçalanması sonucu oluşmaktadır (Pearce, 2001; Balasubramanian ve ark., 2004). Hücreden sızan hücre öz suyu maddelerinin miktarı ile zarar seviyesi arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Don zararı ani olarak oluşmakta ve yapraklardaki renk değişikliği yanında dokulardaki sulu ıslak görüntü ile ortaya çıkarak bitkiler kısa sürede ölmektedirler. Soğuk stresinde kloroplastlar parçalanmakta ve yaprakta nekroz oluşmaktadır (Guye ve ark. 1987). Soğuk ve don zararına maruz kalan fidelerde yaprak rengi ölçümleri ile soğuk zararının seviyesi ilişkilendirilmiştir (Kamps ve ark., 1987). Laboratuvar ve sonbahar tarla şartlarında soğuk zararına maruz kalan fide ve bitkilerde klorofil ölçümleri ile soğuk zararının seviyesi ilişkilendirilmiştir (Kamps ve ark., 1987). Bu çalışmada soğuk ve don zararının tespitinde membran stabilite (elektriksel geçirgenlik) testi ve bitki gelişmesiyle ilgili direk gözlemlerin yanında yaprak rengi ve klorofil miktarları ölçümü yapılmıştır.

2.4. Yüksek Rakımlardan Toplanan Gen Kaynaklarının önemi

Yüksek rakımlardan toplanan domates gen kaynaklarının düşük rakımlardan toplanan domates gen kaynaklarına göre soğuk (6,5°C) zararından daha az etkilendiği bildirilmiştir (Patterson ve ark., 1978). Patterson ve ark. (1978), Soğuğa hassas domates çeşidi Rutgers ile yüksek (3100 m) ve düşük (30 m) rakımlardan toplanan yabani domates (*L. hirsutum*) melezlemiş yüksek rakımlardan gelen hatlardan elde edilen F1 hibritlerinin 0 °C de fidelerin %75'i canlı kalırken düşük rakımlardan gelen melezler soğuktan etkilenecek ölmüşlerdir. Bu çalışma soğuk zararının kalıtsal bir özellik olduğunu göstermektedir. Fasulyede ilk yaprakçık ve anthesis devrelerinde soğuk zararına toleranslılık açısından genotipler arasında farklılık olduğu bildirilmiştir (Kemp, 1973, 1978). Yine soğuğa toleranslı patates (Griffith ve ark., 1994) ve çeltik (Blum, 1988) bitkilerinde klorofil miktarının hassas bitkilere göre daha az etkilendiği rapor edilmiştir. *Festuca indigesta* ile yapılan başka bir çalışmada ise (Angosto ve Matilla, 1994) yüksek rakımlardan (2560 m) toplanan tohumlar daha düşük

rakımlardan (2250) toplanan tohumlara göre çimlenme esnasında soğuktan daha az etkilenmişlerdir. Yabani fasulye genotipinde -6.7 °C ye kadar dona toleranslılığın bulunduğu özellikle *Phaseolus acutifolius* var. *tenuifolius*, *P. angustissimus*, *P. filiformis*, ve *P. ritensis* türlerinin dona toleranslılık gösterdiği bildirilmiştir (Buhrow, 1980, 1981, 1983). Yüksek rakımlardan toplanan tohumlar (2270-2950 m) düşük sıcaklıklarda daha fazla çimlenme göstermişlerdir (Singh ve ark., 1989). Yüksek rakımlardan toplanan bitkilerin düşük sıcaklıklarda çimlenebildiği ve soğuk zararına daha toleranslı olduğu rapor edilmiştir (Mayer ve Poljakoff-Mayber, 1989). Bir çalışmada yabani fasulye genotiplerinin doğal olarak yetiştiği Şili And dağlarında 3750 m rakımlarda ortalama yıllık sıcaklığın 4.3 °C, en düşük hava sıcaklığın -1.8 °C olduğu dolayısıyla yabani ve kültür fasulyelerinin don baskısına maruz kalmadığı (Squeo ve ark. 1996) ve dona toleranslılık amacıyla kullanılan genotiplerin don baskısının az olduğu düşük rakımlardan toplandığı bildirilmiştir (Balasubramanian, 2002). Dolayısıyla soğuk ve dona toleranslılık çalışmalarında stres baskısının sıklıkla görüldüğü yüksek rakımlardan toplanılan genotiplerin kullanılması önerilmektedir (Buhrow, 1983). Doğu Anadolu Bölgesi 1700 m rakımda taze fasulye üretimin yapıldığı alanlarda tipik olarak Mayıs, Haziran, Temmuz, Ağustos ve Eylül aylarında ortalama en düşük sıcaklık sırasıyla 4.0 °C, 7.0 °C, 10.0 °C, 10.6 °C ve 5.9 °C olurken aynı dönemde en düşük ortalama sıcaklık -7.1 °C, -5.6 °C, -1.8 °C -1.1 °C ve -6.8 °C olmaktadır (Anon., 2012). İklim verileri yüksek rakımlarda Temmuz ve Ağustos aylarında bile bitkilerin sıklıkla soğuk ve bazı yıllar don stresine maruz kaldığını göstermektedir. Soğuk ve don stresini şartlarına adapte olabilen genotipler ürün verebilmektedir. Yüksek rakımlarda ticari çeşitlerden ziyade üreticilerin uzun yıllardan beri yetiştire geldikleri yerel ekotipleri tercih ettikleri bilinmektedir. Uzun süre soğuk ve don stres baskısına toleranslı genotipler bu şartlarda öne çıkmaktadır. Bu çalışmada test edilen genotipler Doğu Anadolu Bölgesi yüksek rakımlarında üretici tarafından uzun yıllardan beri üretilen tipleri içermektedir. Dolayısıyla bu gen kaynakları arasından soğuk ve don stresine toleranslı genotiplerin bulunma ihtimali yüksektir.

2.5. Moleküler Karakterizasyon

Genetik çeşitlilik, belli bir coğrafik bölgeye uyum sağlamış, ilgili bölgede yaygın olarak yetiştirilen bitki türlerinin, bu türlere ait ırkların genetik niteliklerini (kalıtsal bilginin zenginliğini) ve içinde yaşadıkları ekosistemde birbirleri ile ilişkilerinin niteliğini ifade eder. Genetik karakterizasyon çalışmaları, türler arası ve tür içi genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve türlerin tanımlanması amacıyla önemli bir yere sahiptir.

Bitkisel gen kaynaklarının genetik yapılarının belirlenmesi ve materyallerin kendi doğal koşulları içinde saklanarak popülasyonların dinamikleri engellenmeden kullanılabilmesi için uygun tekniklerin araştırılması gerekmektedir (Cecaralli ve ark., 1992).

Bitki ıslahı ve yeni çeşit adaylarının belirlenmesi için, ülkelerin sahip olduğu genetik zenginliğin belirlenmesi, incelenen bitki türüne ilişkin yerel popülasyonların hem fenotipik hem de genotipik olarak tanınması ve bu verilere dayalı akrabalık derecelerinin ortaya koyulması oldukça önem taşımaktadır. Gelişen DNA teknolojisi ile birlikte DNA markörleri bitki ıslahçıların çeşitleri DNA düzeyinde tanımlanmasına imkân sağlamaktadır.

DNA dizilimindeki farklılıkların tespiti için kullanılan DNA markörleri, sayıların çok olduğu, kolay uygulanabilir ve çevre koşullarından etkilenmedikleri için, morfolojik ve protein markörlerine göre daha etkilidirler. Bitki genetiği ve ıslahında genelde karakterizasyon, seleksiyon ve genom haritalamak için markörler kullanılmaktadır (Şensoy, 2005). Bunun yanı sıra, tarımsal ürünlerdeki çeşit sayısının sürekli olarak arttığı için, morfolojik markörler çeşitler arasındaki ayırtılamada yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle moleküler markörlerle bu açık kapatılmaktadır (Lombard ve ark. 2001).

Fasulye türlerinin genetik düzeyde ilişkilerinin değerlendirilmesinde RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), STMS (Sequence-tagged Microsatellite), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), ISSR (Inter-simple-sequence-repeat), SRAP (Sequence-related Amplified Polymorphism) ve SSR (Simple Sequence Repeat) gibi DNA moleküler markörleri birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır.

Kolay uygulanabilen, güvenilir ve etkin olan SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism), Li ve Quiros (2001) tarafından geliştirilmiş, PCR (Polimeraz Chain Reaction) temelli yeni bir markör sistemidir. Genomda kodlanan sekansları hedef alan ve ortalama sayıda kodominant markörler oluşturan SRAP tekniği, iki primer amplifikasyonuna dayanmaktadır. Primerler 17-18 nükleotitten meydana gelmekte ve bunlardan biri forward (ileri), diğeri ise reverse (ters) primer olarak adlandırılmaktadır. Bu primerlerde 13-14 nükleotitten oluşan bir çekirdek sekans kısmı vardır. Spesifik bir yapısı olmayan 10-11 bazlık dizinin (filler sequence) ardından forward primerde CCGG, reverse primerde ise AATT dizini gelmektedir. Bu kısımdan sonra 3 seçici nükleotidden oluşan bölüm bulunmaktadır (Li ve Quiros, 2001).

RAPD markörlerine göre daha tutarlı sonuçlar veren, AFLP markörlerine göre de daha ucuz ve az işçilik gerektiren bir markör tekniği olan SRAP; genetik haritaların oluşturulması, gen etiketlenmesi, genomik DNA ve cDNA parmak izinin çıkarılması ve haritaya dayalı klonlama gibi birçok farklı amaca hizmet edebilmektedir (Li ve Quiros, 2001). SRAP markörleri farklı türlere adapte olabilen bir sistem olup, birçok baklagil familyasına ait genetik çeşitliliğin araştırılmasında bakla (Alghamdi ve ark., 2012), bezelye (Esposito ve ark., 2007), mercimek (Smutkupt ve ark., 2006), ve soya (Baloch ve ark., 2010) çalışmalarında başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Erdinç (2012), yaptığı çalışmada Türkiye genelinden toplanan 96 fasulye genotipinde morfolojik ve moleküler karakterizasyon yapılmış elde edilen veriler ışığında incelenen genotipler arasında belirgin fenotipik ve moleküler genetik farklılıkların olduğu belirtilmiştir.

Ülkemizde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan ve büyük bir genetik varyasyon gösteren fasulye baklagiller arasında çok önemli bir konuma sahiptir. Ülkemizde sebze yetiştiriciliği konusunda biyoteknolojik ve moleküler ıslah programlarıyla yerel genotipler modern sebze tarımına kazandırılmaktadır. Ancak fasulye gibi tohum değeri düşük olan türlerde ıslah programları yetersiz kalmaktadır. Bu durum tohumculuk politikaları nedeniyle dış kaynaklı birçok çeşidin ülkemiz tarımına girememesine ve yerel çeşitlerin daha çok kullanılmasına neden olmuştur. Bu bağlamda ıslahta gen havuzunun iyi tanımlanması gerekmektedir çünkü ülke genelinde yapılan benzer çalışmalar için yol gösterici olarak ve imkânların daha iyi değerlendirilmesi için büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle genetik materyalin tanınması için hem fenotipik hem de genotipik karakterizasyonun yapılması gelecek ıslah programları açısından daha değerli olacaktır.

Bu çalışmada SRAP markör tekniği birçok baklagiller familyasına ait türde kullanıldığı ve tutarlı sonuçlar verdiği için tercih edilmiştir. Bu çalışmada, SRAP DNA moleküler markör teknikleri ile fenotipik olarak soğğa ve dona toleranslı olduğu tespit edilen fasulye genotiplerinin moleküler seviyede karakterizasyonunu yapmak ve daha sonra yapılacak olan soğğa toleranslı fasulye ıslah çalışmaları için katkıda bulunmak amaçlanmaktadır.



III. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada ülkemizin çeşitli illerinden yüksek rakımlı bölgelerinden toplamış 130 farklı genotip kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1: Denemede kullanılan genotip bilgileri

Genotip Adı/no	Orijin/ Bilgi	Genotip Adı/no	Orijin/ Bilgi	Genotip Adı/no	Orijin/Bilgi
1	Erzincan	BN-65	Bingöl	HK-46	Hakkari
3	Erzurum	BN-8	Bingöl	HK-47	Hakkari
11	Erzincan	BT-106	Bitlis	HK-48	Hakkari
43	Erzurum	BT-115	Bitlis	HK-50	Hakkari
52	Erzurum	BT-116	Bitlis	HK-51	Hakkari
58	Erzurum	BT-120	Bitlis	HK-52	Hakkari
61	Erzincan	BT-121	Bitlis	HK-53	Hakkari
62	Ardahan	BT-122	Bitlis	HK-54	Hakkari
65	Erzurum	BT-123	Bitlis	HK-55	Hakkari
66	Erzurum	BT-124	Bitlis	HK-57	Hakkari
68	Erzurum	BT-16	Bitlis	HK-58	Hakkari
69	Erzurum	BT-20	Bitlis	HK-59	Hakkari
70	Erzurum	BT-22	Bitlis	HK-60	Hakkari
73	Erzurum	BT-23	Bitlis	GÖYNÜK	Tescilli Çeşit
75	Erzurum	BT-25	Bitlis	ML-14	Malatya
80	Erzurum	BT-39	Bitlis	ML-3	Malatya
81	Erzurum	BT-50	Bitlis	ML-34	Malatya
94	Erzurum	BT-52	Bitlis	ML-49	Malatya
101	Erzurum	BT-56	Bitlis	ML-5	Malatya
102	Erzurum	BT-67	Bitlis	ML-54	Malatya
104	Erzurum	BT-69	Bitlis	ML-55	Malatya
106	Erzurum	BT-75	Bitlis	ML-58	Malatya
110	Erzurum	BT-80	Bitlis	ML-6	Malatya
115	Erzurum	EL-30	Elazığ	ML-72	Malatya
123	Erzincan	EL-32	Elazığ	MŞ-52	Muş
127	Erzurum	EL-34	Elazığ	MŞ-53	Muş
161	Erzurum	EL-35	Elazığ	ÖNCELER	Tescilli Çeşit
168	Erzurum	EL-36	Elazığ	PI-263004	USA Gen Bankası
201	Erzurum	EL-37	Elazığ	PI-368052	USA Gen Bankası
238	Erzurum	EL-40	Elazığ	PI-476860	USA Gen Bankası
243	Erzurum	EL-42	Elazığ	PI-549875	USA Gen Bankası
247	Kars	EL-6	Elazığ	ERZİNCAN2	Erzincan
303	Erzurum	IR-1		TR 42275	ETA E Gen Bankası
323	Erzurum	TN-8	Trabzon	TR 46348	ETA E Gen Bankası
329	Erzurum	HK-22	Hakkari	TR 46415	ETA E Gen Bankası
362	Erzurum	HK-26	Hakkari	TR 64713	ETA E Gen Bankası
382	Erzurum	HK-28	Hakkari	TR 64737	ETA E Gen Bankası
390	Erzurum	HK-30	Hakkari	TR 64907	ETA E Gen Bankası
392	Erzurum	HK-33	Hakkari	TR 64995	ETA E Gen Bankası
394	Erzurum	HK-34	Hakkari	TR 77930	ETA E Gen Bankası
395	Erzurum	HK-37	Hakkari	TR 78067	ETA E Gen Bankası
ARSLAN	Tescilli Çeşit	HK-40	Hakkari	PI-477039	<i>P. acutifolius</i>
BN -16	Bingöl	HK-43	Hakkari	PI-527829	Hibrit <i>P. vulgaris</i> *
BN-56	Bingöl	HK-44	Hakkari		<i>P. coccineus</i> melezi

Bu aştırmada yukarıda sıralanan fasulye gen kaynakları erken fide ve generatif devrelerde önce laboratuvar şartlarında soğuk stresine tabi tutulmuştur. Soğuk zararı bitki ve hücre seviyesindeki parametreler ile değerlendirilip seçilen genotipler laboratuvar şartlarında fide ve generatif devrede don stresine maruz bırakılmıştır. Her iki test sonucu seçilen genotiplerin morfolojik ve fenolojik özellikleri, verim ve kalite özellikleri araştırılmıştır. Seçilen genotiplerin moleküler karakterizasyonu SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) yöntemi ile belirlenmiştir.

3.1. Elektriksel Geçirgenlik Testi

Laboratuvar denemelerinde Gao ve ar. (2009) tarafından kullanılan hücre membran geçirgenlik testi (Elektriksel Geçirgenlik testi) uygulanmıştır. Her tekerrürde bitkilerin terminal yapraklarından en uç yaprakçıktan alınan 5 mm diskler üç defa di-iyonize su ile yıkanarak içinde 15 ml di-iyonize su bulunan test tüplerine konularak ağzı kapalı bir şekilde 25 °C de 6 saat inkübe edilmiştir. Bekleme sıvısının elektriksel konduktivitesi (geçirgenlik) bir konduktivite metre yardımıyla ölçülmüştür (E1). Daha sonra yaprak diski içeren test tüpleri 100 °C sıcak su banyosunda 30 dakika bekletildikten sonra 25 °C de soğutulurak ikinci ölçüm (E2) yapılmıştır. De-iyonize suyun ölçümü (E0) ayrıca yapıldıktan sonra Nisbi Elektrolit Sızıntısı (Relative Elektrolite Leakage) (NES) şu formülle hesaplanmıştır. $NES = (E1 - E0 / E2 - E0) \times 100$. Düşük NES değerleri sağlam membran yapısı ve soğuk şartlara toleransı gösterecek ve soğuk ve dona toleranslı genotiplerin selekte edilmesinde kullanılmıştır.

3.2. Yaprak Rengi Ölçümleri

Bu amaçla elde taşınabilir Minolta Chroma Meter ile laboratuvar şartlarında bitkiler üzerinde ölçümler yapılmıştır. Her bitkinin kontrolü ile birlikte soğuk ve don testine tabi tutulan fidelerin üst yaprağın terminal yaprakçığında yaprak rengi ölçümleri yapılmıştır. Cihaz magnezyum oksitle kalibre edilmiş katı yüzeyler için kullanılan okuma başlığı ile bez kez okuma yapılarak ortalaması alınmıştır. Ölçümlerde uluslararası aydınlatma komisyonu (CIELAB) tarafından kabul gören L,a,b cinsinden renk değerleri okunmuş ve değerlendirilmiştir. Alınan ölçümler soğuk ve don testine tabi tutulan bitkiler kontrol bitkileri ile kıyaslanmıştır.

3.3. Doğrudan klorofil ölçümleri (SPAD okumaları)

Bu amaçla elde taşınabilir SPAD-metre (Konica-Minolta SPAD-502) cihazı kullanılarak yaprak üzerinde doğrudan klorofil ölçümleri yapılmıştır. Her genotipe ait 5 bitkide en üst yaprağın terminal yaprakçığında klorofil ölçümleri elde edilip, sonuçlar 4 yinelemenin ortalaması olarak alınmıştır. Ölçümler soğuk uygulamasından soğuk uygulamasının 5. günlerinde kontrol bitkileri ile birlikte ölçülmüştür (Williams, 1984).

3.4. Soğuk ve Don Zararının Görsel Olarak Değerlendirilmesi

Laboratuvar denemelerinde tedrici olarak düşen ortam sıcaklıklarında alışma (aklimatizasyon) devresinden sonra soğuk stresine don stresine maruz bırakılan fidelerde oluşan zararı bitki gelişme durumu ve elektriksel geçirgenlik testleri ile belirlenmiştir. Görsel değerlendirme zararlanma indeksi (Zİ) ise 1'den 9'a kadar değer

verilerek yapılmıştır. Bu değerlendirme; 1. En çok toleranslı (soğuk ve don zararı yok), 2. Çok toleranslı (yaprakların en fazla % 10'unda don zararı var), 3. Dayanıklı (Yaprakların % 11-20'sinde don zararı var), 4. Orta derece toleranslı (Yaprakların % 21-40'ında don zararı var), 5. Orta (Yaprakların % 41-60'ında don zararı var), 6. Orta derece hassas (Yaprakların % 61-80'inde don zararı var, ölü bitki var), 7. Hassas (Yaprakların % 81-90'inde don zararı var, ölü bitki var), 8. Çok hassas (Yaprakların % 91-99'unda don zararı var, ölü bitki var) ve 9. (Yaprakların tamamında don zararı var ve bitkiler ölmüş) şeklinde yapılmıştır.

3.5. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk Stresine (5 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu

Bu deneme kapsamında yukarıda belirtilen 130 genotip laboratuvar şartlarında erken fide döneminde fasulye ve diğer bitkilerde rutin olarak kullanılan bitki gelişme odasında soğuk stresi testi uygulanmıştır. Düşük sıcaklık tarama çalışmalarında yöntemin optimizasyon çalışması yapılmıştır. Bu amaçla her genotipten 10 tohum 25 °C de standart bahçe karışımında viyollere ekilmiştir. Çimlenme ve çıkışı müteakip her genotipten 5 fide 5°C'de 5 gün 300 µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğunda birinci gerçek yapraklı aşamada bitkiler iklim odasında düşük sıcaklıklara maruz bırakılmıştır. Ardından bitkiler sıcaklık değeri 28/22°C'de (16 saat gündüz/8 saat gece) ve 300-700 µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğu aralığında bitki yetiştirme odasında 9 gün tutularak soğuk zararı gözlenmiştir. Soğuk odada tutulan bitkiler kontrol grubu bitkilerin yanına alınarak gelişme durumları gözlenmiştir ve hücre membran geçirgenlik testi (Elektriksel Geçirgenlik testi) uygulanmıştır. Klorofil içerikleri (SPAD ölçüm değerleri) kontrol ve uygulama yapılmış fidelerden alınarak zararlanma skorlaması yapılmıştır. Bitki yaprak rengi ölçümleri (Chromameter) kontrol ve uygulama yapılmış bitkilerden alınmıştır. Bitki gelişme özellikleri, klorofil konsantrasyon değerleri, yaprak rengi ve hücre membran testi sonuçlarına göre kontrol grubuna göre en az etkilenen genotipler belirlenmiştir.

3.6. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk Stresine (0 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu

Bu deneme kapsamında yukarıda belirtilen 130 genotip laboratuvar şartlarında erken fide döneminde fasulye ve diğer bitkilerde rutin olarak kullanılan bitki gelişme odasında soğuk stresi testi. Düşük sıcaklık tarama çalışmalarında yöntemin optimizasyon çalışması yapılmıştır. Bu amaçla her genotipten 10 tohum 25 °C de standart bahçe karışımında viyollere ekilmiştir. Çimlenme ve çıkışı müteakip her genotipten 5 fide 5°C'de 5 gün ve 0 °C'de 1 gün 300 µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğunda birinci gerçek yapraklı aşamada bitkiler iklim odasında düşük sıcaklıklara maruz bırakılmıştır. Ardından bitkiler sıcaklık değeri 28/22°C'de (16 saat gündüz/8 saat gece) ve 300-700 µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğu aralığında bitki yetiştirme odasında 9 gün tutularak soğuk zararı gözlenmiştir. Soğuk odada tutulan bitkiler kontrol grubu bitkilerin yanına alınarak gelişme durumları gözlenmiştir ve hücre membran geçirgenlik testi (Elektriksel Geçirgenlik testi) uygulanmıştır. Klorofil içerikleri (SPAD ölçüm değerleri) kontrol ve uygulama yapılmış fidelerden alınarak zararlanma skorlaması yapılmıştır. Bitki yaprak rengi ölçümleri (Chromameter) kontrol ve uygulama yapılmış bitkilerden alınmıştır. Bitki gelişme özellikleri, klorofil

konsantrasyon değerleri, yaprak rengi ve hücre membran testi sonuçlarına göre kontrol grubuna göre en az etkilenen genotipler belirlenmiştir.

3.7. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Don Stresine toleranslı Genotiplerin Seleksiyonu

Bu deneme çerçevesinde 130 genotip erken fide döneminde bitki gelişme odasında -3 °C'de don stresine maruz bırakılmıştır. Bu amaçla her genotipten 10 tohum 25 °C de standart bahçe karışımında viyollere ekilmiştir. Çimlenme ve çıkışı müteakip birinci gerçek yapraklı dönemde 5 bitki önce 24 saat 15 °C; ve 5°C'de 5 gün 300 µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğunda birinci gerçek yapraklı aşamada iklim odasında düşük sıcaklıklara maruz bırakılarak ve kademeli olarak sıcaklık 24 saat aralıklar ile -3 °C'ye düşürülmüştür. En son aşamada -3 °C'de, 100 µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğunda 2 saat tutulmuştur. Dona maruz kalan fideler daha sonra sıcaklık değeri 28/22°C'de (16 saat gündüz/8 saat gece) ve 300-700 µmol m⁻² s⁻¹ ışık yoğunluğu aralığında bitki yetiştirme odasında 9 gün tutularak ve don zararı gözlenmiştir. Kontrol grubuyla kıyaslamalı olarak klorofil ölçüm (SPAD) değerleri ve zararlanma skorlaması yapılmıştır. Bitki gelişme özellikleri yaprak rengi ve hücre membran testi sonuçlarına göre en az etkilenen genotipler belirlenmiştir.

3.8. Moleküler Karakterizasyon

Laboratuvar denemelerinde ölçüm ve değerlendirmeler sonucu soğuk stresine toleranslı ve yüksek verimli olduğu tespit edilen 55 adet genotipin ileride yapılacak ıslah çalışmalarında gen kaynağı olarak kullanılma potansiyeli taşıdığı için moleküler karakterizasyon çalışması yapılmıştır. Bu koleksiyon daha sonra yürütülecek soğuk ve don stresi çalışmalarında kullanılacaktır.

Moleküler karakterizasyon, SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) yöntemi ile belirlenmiştir.

3.8.1. DNA İzolasyonu

DNA İzolasyonu Thermo Scientific GeneJet Genomic DNA Purification Kit kullanılarak ve aşağıda ayrıntıları verilen kit protokolüne göre yapılmıştır.

- 100 mg taze yaprak örneği 1.5 ml ependorf tüp içerisinde 200 µl Digestion Solüsyonu eklenerek pest ile ezilmiştir (Şekil 3.1).
- Üzerine 20µl Proteinase K Solüsyonu eklenerek kısa süreli vortex yapılarak karıştırılmış ve 56 °C'de her 15 dakikada bir karıştırılmak suretiyle 2 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- Inkübasyondan sonra örnekler 20µl RNase solüsyonu eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir.
- Örneklerin üzerinde 200 µl Lysis solüsyonu eklenip 15 saniye vortex yapılarak karıştırılmıştır.
- Üzerlerine 400µl %50 Etanol eklenerek örnekler tekrar karıştırılarak homojen bir karışım elde edilmiştir.
- Daha sonra örnekler Genomik DNA Purifikasyon Kolumuna alınarak, kolum bir tüp içerisine yerleştirilmiştir. Örnekler 1 dakika 6000 rpm'de santrifüj yapılarak altta toplanan sıvı atılmış ve kolum yeni bir tüpe yerleştirilmiştir (Şekil 3.3).

- Koluma 500 µl Wash Buffer I (protokole göre etanol eklenmiş) eklenerek 1 dakika 8000 rpm’de santrifüj yapılmıştır. Alta toplanan sıvı atılarak kolum tekrar tüp içerisine yerleştirilmiştir.
- Koluma 500 µl Wash Buffer II (protokole göre etanol eklenmiş) eklenerek 3 dakika 12000rpm ‘de santrifüj yapılarak altta toplanan sıvı atılmıştır.
- Kolum temiz ependorf tüpe alınarak üzerine 200 µl Elution Buffer eklenmiş ve 2 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 1 dakika 8000 rpm’de santrifüj yapılmıştır.
- Tüpte toplanan DNA -20 0 C’de saklanmıştır.
- DNA örnekleri kalite ve miktarlarına bakılmak üzere %1’lik agaroz jele her bir örnekten 10 µl yüklenmiştir (Şekil 3.2) ve UV ışık altında fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 3.4).



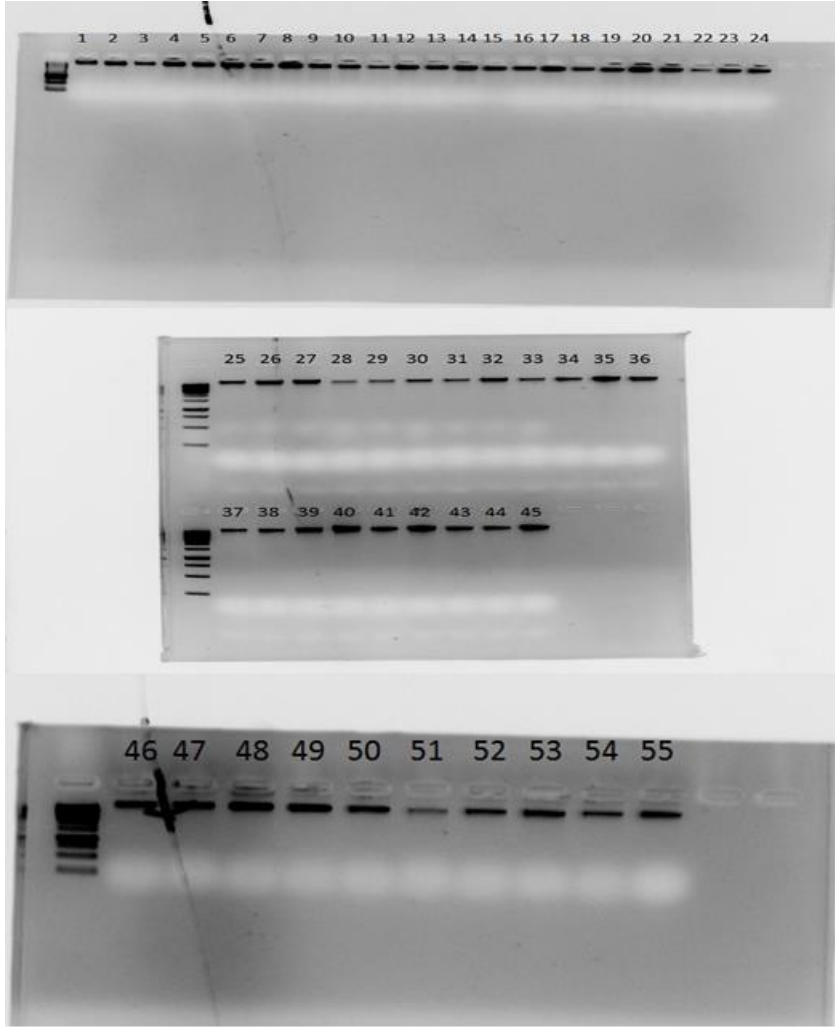
Şekil 3.1:Yaprak örneklerinin ezilmesi



Şekil 3.3: Örneklerin santrifüj edilmesi



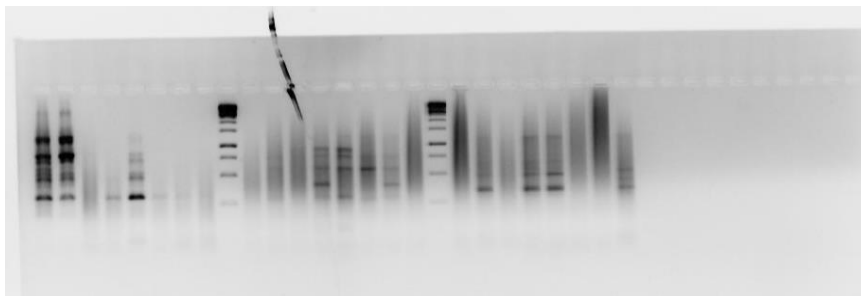
Şekil 3.2: DNA örneklerinin agaroz jele yüklenmesi



Şekil 3.4: Araştırmada kullanılan 55 fasulye genotipine ait genomik DNA'ların agaroz jel görüntüleri

3.8.2. SRAP- PCR Koşullarının Optimizasyonu

SRAP koşulları literatür bilgileri dikkate alınarak optimize edilmiştir. Öncelikle rastgele seçilmiş 8 Genotip ile PCR koşulları optimize edilmiştir. Farklı DNA, MgCl ve primer konsantrasyonları denenerek optimizasyon çalışmaları yapılmıştır (Şekil 3.5) PCR koşulları aşağıda belirtildiği şekilde optimize edilmiştir (Çizelge 3.2 ve 3.3).



Şekil 3.5: SRAP- PCR koşullarının optimizasyonuna ait agaroz jel görüntüsü

Çizelge 3.2: PCR Karışımı

Bileşenler	Miktar
DNA	1 µl
dNTP (2mM)	1,5 µl
MgCl ₂ (25mM)	1 µl
Taq Buffer (10x)	1,5 µl
Primer (Forward) (10pmol)	2 µl
Primer (Reverse) (10pmol)	2 µl
Taq Polimeraz (5U/ µl)	0,2 µl
H ₂ O	5,8 µl
Toplam Hacim	15 µl

Çizelge 3.3: Termal Döngü Protokolü

PCR Döngüsü
1. 94 °C, 05:00 dakika 2. 94 °C, 01:00 dakika 3. 35 °C, 01:00 dakika 4. <u>72 °C, 01:00 dakika</u> 5. 2. Adımdan <u>5X</u> 6. 94 °C 01:00 dakika 7. 50 °C 01:00 dakika 8. <u>72 °C 01:00 dakika</u> 9. 6. Adımdan <u>35X</u> 10. 72 °C 05:00 dakika SON

Optimizasyon işlemi tamamlandıktan sonra polimorfizm oranı yüksek olan SRAP primer çiftlerinin belirlenmesi için rastgele seçilmiş 10' ar genotipten (Erzincan2, Kantar, ML6, BN8, MŞ52, HK60, BT67, 110, TR64995, PI-476860) eşit miktarda alınan DNA örnekleri karıştırılarak bulk (havuz) DNA oluşturulmuştur. Elde edilen bulk DNA'lar ile İlk önce Tablo 3.4'te belirtilen SRAP primer kombinasyonları (13 x16 =208) taranmıştır. PCR işleminden sonra ürünler agaroz jelde 120 Vakımda 3,5 saat yürütülerek görüntülenmiştir. Bant sayısı 5-6 ve üzerinde olan ve amplifikasyon kalitesi yüksek olup net bant oluşturan kombinasyonlar seçilmiştir. Bu seçilen primer çiftleri 55 genotipin moleküler karakterizasyonunda kullanılmıştır.

3.8.3. Seçilen SRAP primerleri ile genotiplerin taranması ve verilerin analizi

Bulk DNA ile SRAP primerleri tarandıktan sonra polimorfizm oranının yüksek olduğu belirlenen primer çiftleri ile 55 genotipin

Veri analizi: Jel görüntüleme sisteminde resimlendikten sonra genotipler arasında oluşan bantlar varsa 1, yoksa 0 olarak skor edilmiştir. Fasulye genotiplerinin taranması için oluşturulacak markör verileri NTSYS (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.1 Exeter Software, Setauket, N.Y., USA (Rohlf, 1993) bilgisayar paket program kullanılarak analiz edilmiştir. Fasulye genotipleri arasındaki benzerlikler elde edilecek dendrogramlara göre belirlenmiştir. Ayrıca iki ve üçboyutlu grafik üzerinde fasulye genotipleri arasındaki mesafeleri gösteren Temel Bileşenler Analizi (Principle Component Analizi=PCA) aynı program kullanılarak yapılmıştır. Polimorfik bilgi içeriği $PBI=2f_i(1-f_i)$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Roldan ve ark. 2000). f_i görünen bantların freansı 1- f_i ise olmayan bantların frekansı olacak şekilde hesaplanmıştır.

Çizelge 3.4: Sequence Related Amplified Polymorphism (SRAP) Forward ve Reverse primerleri ve dizilimleri

Me1 TGAGTCCAAACCGGATA	Em1 GACTGCGTACGAATTAAT
Me2 TGAGTCCAAACCGGAGC	Em2 GACTGCGTACGAATTTGC
Me3 TGAGTCCAAACCGGAAT	Em3 GACTGCGTACGAATTGAC
Me4 TGAGTCCAAACCGGACC	Em4 GACTGCGTACGAATTTGA
Me5 TGAGTCCAAACCGGAAG	Em5 GACTGCGTACGAATTAAC
Me6 TGAGTCCAAACCGGACA	Em6 GACTGCGTACGAATTGCA
Me7 TGAGTCCAAACCGGACG	Em7 GACTGCGTACGAATTCAA
Me8 TGAGTCCAAACCGGACT	Em8 GACTGCGTACGAATTCAC
Me9 TGAGTCCAAACCGGAGG	Em9 GACTGCGTACGAATTCAG
Me10 TGAGTCCAAACCGGAAA	Em10 GACTGCGTACGAATTCAT
Me11 TGAGTCCAAACCGGAAC	Em11 GACTGCGTACGAATTCTA
Me12 TGAGTCCAAACCGGAGA	Em12 GACTGCGTACGAATTCTC
Me13 TGAGTCCAAACCGGAAG	Em13 GACTGCGTACGAATTCTG
	Em14 GACTGCGTACGAATTCTT
	Em15 GACTGCGTACGAATTGAT
	Em16 GACTGCGTACGAATTGTC
	Em17 GACTGCGTACGAATTGAG
	Em18 GACTGCGTACGAATTGCC
	Em19 GACTGCGTACGAATTTCA

IV. BULGULAR

4.1. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk Stresine (+5 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu

Soğuk stresine tolerans açısından yapılan denemede görsel gözlemler sonucu Çizelge 4.1'e göre 7 genotip zararlanma indeksi 1 grubuna girmiştir yani soğuk stresine tolerant olarak gözlemlenmiştir. 29 genotip ise zararlanma indeksi 2 grubuna girmiştir zararlanmanın %10 geçmediği tolerant grup. Zararlanma indeksi 3 grubunda ise 67 genotip ve zararlanma indeksi 4 grubunda ise 9 genotip belirlenmiştir. 36 bitkinin tolerant olduğu gözlemlenmiştir. Zararlanma indekslerine göre orta derecede tolerant olan 3 ve 4 zararlanma indeks gruplarında yoğunlaşma olduğu görülmüştür. 7 bitkinin öldüğü ve 7 bitkinin çok fazla zararlandığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar göre soğuk stresine maruz bırakılan fasulye genotiplerinin genel olarak tolerant ve orta derecede tolerant olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1: 5 °C'de testlenen bikilerden bir görüntü

Çizelge 4.1: 5 °C Zararlanma İndeksine Göre Genotipler

Zİ	GENOTİPLER	TOPLAM
1	123,BN 56,ERZİNCAN2,HK 40,HK 46,HK 55,TR 64995	7
2	11,43,75,94,102,106,247,329,395,BN 8,BT 106,BT 122,BT 50,EL 32,EL 35,EL 42,EL 6,HK 33,HK 34,HK 50,HK 57,HK 59,HK 60,TR 64737,TR 78067,ML 14,ML 3,ML 49,MŞ 53	29
3	1,68,70,81,101,104,168,201,238,303,323,382,390,394,BN 16,BN 65,BT 116,BT 120,BT 121,BT 123,BT 124,BT 16,BT 20,BT 22,BT 23,BT 25,BT 39,BT 52,BT 56,BT 67,BT 69,BT 75,BT	67

	80,EL 30,EL 34,EL 36,EL 37,EL 40,GÖYNÜK,HK 22,HK 26,HK 28,HK 30,HK 37,HK 43,HK 44,HK 47,HK 48,HK 51,HK 52,HK 53,HK 54,HK 58,IR-1,TR 77930,TR 64713,TR 42275,TR 64907,TR 46348,TR 46415,ML 34,ML 54,ML 58, ,ML 6-1,MŞ 52,ÖNCELLER,PI-527829	
4	61,62,65,127,243,362,ML 5,ML 55,ML 72	9
5	58,80,BT 115,PI-268052	4
6	52,73,393,PI476860,PI-549875	5
7	110,PI-263004	2
8	3,66,69,161,Arslan,TN 8	6
9	115	1

Zararlanma indeksi ortalamalarına göre testlenen bitkiler ve kontrol bitkileri ile kıyaslama yapıldığı zaman fenolojik testlerde anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.2). Soğuk stresine toleranslı bitkilerin seçilmesinde tamamen görsel değerlendirmeler göz önünde bulundurularak yapılmıştır.

Çizelge 4.2: Soğuk Testi 5 °C Zararlanma İndeksine Göre Ortalama Ölçüm Sonuçları

Zİ	SPAD	L	a	b	C	H	NES
1	47,10	41,37	-17,82	22,54	28,75	128,62	53,80
2	45,30	41,08	-17,56	21,99	28,15	128,80	49,38
3	45,30	41,53	-17,87	22,51	28,75	128,58	53,63
4	46,90	42,07	-17,43	21,73	27,87	128,94	51,87
5	44,30	40,96	-16,59	20,42	26,31	129,17	50,98
6	46,10	42,32	-17,67	22,55	28,68	128,47	57,15
7	48,50	41,77	-16,43	20,33	26,14	128,98	71,08
8	45,10	41,71	-17,37	21,49	27,65	129,37	50,20
9	44,30	43,44	-15,97	21,17	26,53	127,08	44,60
Kontrol	39,00	42,03	-17,46	22,95	28,88	127,26	80,55

Çizelge 4.3: Soğuk Stresi 5 °C Genotiplerin Ortalama Ölçüm Sonuçları

Genotip adı	Zİ	L	A	B	C	H	SPAD	NES
123	1	40,98	-17,96	21,94	28,36	129,38	53,30	78,15
BN 56	1	42,10	-18,49	22,47	29,10	129,46	47,80	79,73
ERZİNCAN 2	1	46,83	-19,96	29,53	35,65	124,06	44,80	52,30
HK 40	1	39,06	-16,97	19,47	25,82	131,08	48,80	33,30
HK 46	1	39,64	-16,89	21,37	27,24	128,32	48,10	34,35
HK 55	1	40,97	-19,28	25,45	31,93	127,21	42,40	56,11
PI 47686	1	40,00	-15,16	17,52	23,17	130,87	46,80	42,66
TR 64995	1	41,37	-15,19	18,75	24,13	129,00	44,60	60,87
11	2	40,40	-17,05	21,15	27,17	128,98	44,80	40,18
43	2	43,31	-19,47	27,40	33,63	125,33	45,30	43,59
75	2	44,77	-18,79	24,18	30,62	127,87	47,80	48,78
94	2	40,38	-15,42	19,27	24,69	128,68	19,10	41,83

102	2	42,37	-19,85	26,10	32,79	127,26	48,40	38,27
106	2	43,60	-18,47	23,68	30,05	128,24	41,60	62,46
247	2	43,93	-19,19	24,16	30,86	128,45	44,50	49,50
329	2	40,82	-17,15	21,21	27,28	128,96	47,70	37,59
395	2	40,23	-19,68	24,90	31,74	128,33	44,20	32,86
BN 8	2	43,10	-19,24	24,31	31,01	128,37	44,30	33,63
BT 106	2	42,89	-20,08	26,95	33,61	126,69	48,50	36,06
BT 122	2	40,30	-17,89	21,42	27,92	129,92	49,20	29,81
BT 50	2	38,92	-15,57	18,22	23,97	130,57	45,40	69,55
EL 32	2	40,85	-19,47	23,89	30,81	129,18	47,20	73,84
EL 35	2	40,68	-17,23	20,55	26,82	130,01	43,70	71,47
EL 42	2	39,30	-17,89	21,42	27,91	129,89	46,00	43,10
EL 6	2	41,61	-17,52	22,34	28,39	128,12	44,70	44,13
HK 33	2	39,51	-18,02	22,42	28,77	128,80	44,70	41,67
HK 34	2	40,03	-17,10	20,19	26,48	130,45	43,50	42,10
HK 50	2	41,70	-18,49	23,84	30,17	127,84	46,80	37,12
HK 57	2	43,69	-19,17	25,91	32,23	126,53	56,90	54,81
HK 59	2	39,81	-18,25	22,71	29,15	128,98	47,40	79,79
HK 60	2	38,21	-17,68	21,58	27,90	129,47	41,00	45,28
ML 34	2	44,15	-18,21	23,74	29,92	127,49	48,30	79,73
PI 26300	2	40,39	-15,43	18,77	24,30	129,43	46,10	60,91
PI 54987	2	36,31	-12,68	15,09	19,71	130,11	44,20	47,52
TR 64713	2	43,16	-15,33	18,99	24,40	128,92	47,70	43,47
TR 64737	2	38,24	-13,04	14,95	19,84	131,09	48,20	52,61
TR 77930	2	38,67	-15,96	18,25	24,25	131,17	42,50	50,39
1	3	42,83	-18,19	23,27	29,55	128,18	46,10	82,51
68	3	41,25	-16,85	21,15	27,05	128,68	47,00	80,08
70	3	43,43	-18,49	22,96	29,48	128,85	49,90	78,67
81	3	39,31	-16,18	18,91	24,89	130,56	24,50	78,72
101	3	44,74	-19,33	25,38	31,90	127,32	52,80	13,05
104	3	41,89	-17,02	20,58	26,70	129,61	48,70	43,94
168	3	40,55	-19,56	26,31	32,78	126,63	49,40	55,40
201	3	40,28	-17,94	21,96	28,36	129,25	44,00	46,83
238	3	43,28	-18,33	23,51	29,81	127,95	45,10	64,97
303	3	41,34	-18,78	23,22	29,86	128,97	40,90	33,20
323	3	43,31	-18,80	24,07	30,55	127,99	48,90	34,12
382	3	46,48	-18,83	25,44	31,65	126,53	46,60	36,31
390	3	40,13	-16,51	20,43	26,26	128,94	42,10	41,98
394	3	39,80	-17,30	20,59	26,89	130,04	45,20	49,63
BN 16	3	41,62	-19,79	25,08	31,95	128,30	47,90	40,38
BN 65	3	39,50	-18,63	23,62	30,08	128,32	43,40	48,81
BT 116	3	41,44	-17,77	21,92	28,23	129,14	47,70	35,82
BT 120	3	44,81	-20,73	28,29	35,08	126,24	47,10	33,36
BT 121	3	40,77	-17,57	21,42	27,71	129,43	51,50	36,11
BT 123	3	40,63	-15,52	19,27	24,74	128,96	46,20	38,72
BT 124	3	41,74	-17,80	22,23	28,48	128,69	47,60	32,26

BT 16	3	41,06	-19,36	24,28	31,06	128,57	47,80	43,64
BT 20	3	42,67	-18,35	22,93	29,37	128,67	44,10	41,04
BT 22	3	39,42	-18,42	21,92	28,63	130,04	43,20	46,14
BT 23	3	39,62	-16,90	20,39	26,49	129,65	52,30	43,24
BT 25	3	42,09	-20,17	26,96	33,68	126,80	48,60	46,68
BT 39	3	42,62	-18,69	24,27	30,64	127,62	45,80	32,85
BT 52	3	43,60	-19,14	24,97	31,46	127,48	43,60	71,73
BT 56	3	42,22	-19,53	26,39	32,84	126,63	49,80	71,68
BT 67	3	39,64	-16,93	20,53	26,61	129,52	46,10	77,75
BT 69	3	43,74	-20,20	28,06	34,57	125,74	43,80	76,86
BT 75	3	44,08	-18,58	24,68	30,89	126,98	48,20	76,41
BT 80	3	40,62	-19,49	25,20	31,86	127,72	42,40	75,47
EL 30	3	41,86	-17,84	22,70	28,88	128,40	45,90	33,52
EL 34	3	45,01	-19,22	27,18	33,29	125,27	47,00	39,43
EL 36	3	41,02	-18,15	21,44	28,09	130,25	42,40	49,40
EL 37	3	41,96	-18,77	24,21	30,63	127,79	47,10	51,89
EL 40	3	38,29	-17,19	20,99	27,13	129,31	44,20	35,22
GÖYNÜK	3	45,04	-19,44	25,84	32,34	126,96	47,30	47,50
HK 22	3	36,98	-14,99	17,73	23,22	130,21	46,40	48,00
HK 26	3	40,12	-16,35	21,24	26,81	127,60	45,90	67,36
HK 28	3	40,13	-17,40	21,76	27,88	128,76	40,20	53,93
HK 30	3	41,31	-17,77	22,91	28,99	127,80	47,60	45,34
HK 37	3	39,23	-17,47	20,71	27,10	130,16	43,90	80,28
HK 43	3	40,91	-18,10	22,26	28,69	129,16	45,60	38,35
HK 44	3	40,32	-18,34	22,30	28,87	129,51	51,10	80,18
HK 47	3	42,59	-18,50	23,46	29,88	128,29	26,80	46,48
HK 48	3	43,41	-19,35	25,16	31,74	127,58	22,40	41,50
HK 51	3	38,92	-17,25	19,72	26,20	131,17	49,10	33,82
HK 52	3	41,48	-17,63	23,06	29,03	127,40	54,60	36,02
HK 53	3	42,40	-20,11	24,80	31,93	129,05	38,20	42,86
HK 54	3	38,42	-18,66	22,99	29,61	129,10	46,60	80,35
HK 58	3	39,24	-15,48	18,02	23,75	130,66	42,60	80,76
IR-1	3	41,28	-19,68	24,92	31,76	128,32	44,00	47,38
ML 3	3	42,04	-17,33	21,45	27,58	128,93	52,90	36,07
ML 49	3	42,39	-16,75	20,76	26,68	128,93	46,30	75,77
ML 58	3	40,96	-16,30	19,72	25,59	129,68	48,60	77,38
MŞ 52	3	40,61	-16,46	20,81	26,54	128,34	41,40	75,27
MŞ 53	3	36,29	-13,82	15,88	21,06	131,05	46,30	69,46
ÖNCELLER	3	41,03	-16,17	20,16	25,85	128,83	44,90	36,22
PI 26805	3	45,58	-16,91	22,77	28,36	126,65	45,50	53,76
PI 52782	3	40,95	-16,98	20,44	26,59	129,94	51,00	44,37
TN 8	3	45,09	-17,99	23,68	29,74	127,23	50,80	69,89
TR 42275	3	39,84	-16,43	18,66	24,87	131,39	38,40	79,73
TR 46415	3	44,67	-16,81	21,09	26,97	128,51	47,50	70,26
TR 78067	3	41,56	-16,66	20,17	26,16	129,57	47,00	56,05
61	4	43,32	-17,82	22,79	28,93	128,02	45,60	35,48

62	4	39,86	-14,47	18,02	23,13	129,03	44,00	59,52
65	4	45,52	-18,54	24,96	31,11	127,02	47,20	34,27
127	4	41,22	-18,71	23,42	29,98	128,82	49,90	39,08
243	4	40,07	-16,70	19,61	25,75	130,42	47,90	50,83
362	4	41,82	-20,11	24,91	32,02	128,91	45,50	46,33
ML 14	4	42,33	-17,21	21,05	27,19	129,27	39,20	80,37
TR 46348	4	44,03	-17,58	22,80	28,79	127,64	47,70	42,55
TR 64907	4	40,42	-15,76	17,97	23,91	131,29	45,90	78,42
58	5	41,62	-16,20	20,04	25,78	129,06	42,20	52,69
80	5	43,09	-16,61	20,64	26,50	128,81	44,00	33,46
BT 115	5	40,46	-17,86	22,53	28,76	128,44	45,70	37,71
ML 54	5	38,66	-15,69	18,45	24,22	130,38	48,80	80,05
52	6	41,69	-16,47	20,28	26,13	129,09	45,10	39,87
73	6	45,56	-18,61	24,41	30,70	127,32	49,80	47,50
393	6	45,72	-20,43	30,17	36,44	124,11	44,60	46,92
ML 55	6	39,20	-16,42	19,27	25,32	130,46	46,30	75,44
ML 6	6	39,40	-16,40	18,63	24,82	131,36	47,30	76,00
110	7	41,78	-16,02	19,57	25,29	129,30	50,90	76,88
ML 5	7	41,77	-16,85	21,08	26,99	128,65	43,50	65,27
3	8	39,04	-14,71	16,80	22,33	131,33	43,90	37,60
66	8	44,16	-19,25	25,66	32,07	126,87	44,50	40,04
69	8	44,03	-18,08	23,08	29,33	128,10	40,40	49,53
161	8	40,02	-17,11	20,73	26,92	130,20	44,80	41,38
ARSLAN	8	45,10	-19,42	25,62	32,15	127,16	46,10	54,53
ML 72	8	37,94	-15,64	17,03	23,12	132,57	51,80	78,13
115	9	43,44	-15,97	21,17	26,53	127,08	44,30	44,60

4.2. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk Stresine (0 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu

Soğuk stresine tolerans açısından yapılan denemede görsel gözlemler sonucuna göre (Çizelge 4.4) 1 genotip zararlanma indeksi 1 grubuna girmiştir yani soğuk stresine tolerant olarak gözlemlenmiştir. 16 genotip ise zararlanma indeksi 2 grubuna girmiştir zararlanmanın %10'u geçmediği tolerant grup. Zararlanma indeksi 3 grubunda ise 31 genotip ve zararlanma indeksi 4 grubunda ise 52 genotip belirlenmiştir. 83 bitkinin orta derece tolerant olduğu gözlemlenmiştir. Zararlanma indekslerine göre orta derecede tolerant olan 3 ve 4 zararlanma indeks gruplarında yoğunlaşma olduğu görülmüştür. 8 bitkinin öldüğü ve 9 bitkinin çok fazla zararlandığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre 0 °C soğuk stresine maruz bırakılan fasulye genotiplerinin genel olarak orta derecede tolerant olduğu belirlenmiştir. Bu denemede 5 °C de yapılan denemeye göre tolerant bitki sayısının azaldığı orta derecede tolerant bitkilerin sayısının arttığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.4: 0°C Zararlanma İndeksine Göre Genotipler

Zİ	GENOTİPLER	TOPLAM
1	TR 64995	1
2	75,247,329,395,BN 8,BT 16,BT 67,BT 69,BT 75,EL 40,EL 42,HK 57,HK 58,HK 59,HK 60,MŞ 52	16
3	1,3,102,106,127,303,323,382,394,ARSLAN,BN 65,BT 106,BT 22,HK 22,HK 28,HK 30,HK 33,HK 37,HK 43,HK 53,HK 55,TR 64737,ML 14,ML 3,ML 34,ML 5,ML 54,ML 6,MŞ 53,TN 8,PI 476860	31
4	11,43,61,62,66,68,70,73,81,94,101,104,110,115,161,201,238,2 43,362,393,BN 16,BT 121,BT 123,BT 124,BT 20,BT 23,BT 25,BT 39,BT 50,EL 30,EL 34,EL 35,EL 36,EL 37,EL 6,GÖYNÜK,HK 26,HK 40,HK 44,HK 46,HK 48,HK 50,HK 51,HK 52,HK 54,IR 1,TR 77930,TR 64907,TR 46415,ML 49,PI 527829,PI 549875	52
5	58,123,168,390,BN 56,BT 122,BT 52,BT 80,ERZİNCAN 2,HK 34,HK 47,TR 64713,TR 78067	13
6	69,BT 115,BT 116,BT 120,BT 56,TR 42275,TR 46348,ML 58,ML 72	9
7	80,EL 32,ÖNCELER	3
8	52,65,ML 55	3
9	PI 263004,PI 268052	2



Şekil 4.2: 0 °C’de testlenen bitkilerden bir görüntü

0 °C soğuk stresi denemesi klorofil ölçümü(SPAD), renk ölçümü (L, a, b,) ve elektriksel iletkenlik ölçümü (NES) sonuçlarının zararlanma indeksine göre ortalamalarını karşılaştırdığımızda; Soğuğa en toleranslı bitkide kontrole göre SPAD değeri artarken diğer bitkiler de düştüğü gözlemlenmiştir. Kontrole göre L, b, C değerlerinin kontrole göre arttığı a değerinin ise azaldığı belirlenmiştir. H ve NES değerinde anlamlı bir değişim olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5: Soğuk Testi 0 °C Zararlanma İndeksine Göre Ortalama Ölçüm Sonuçları

Zİ	SPAD	L	a	b	C	H	NES
1	42,70	43,84	-21,17	28,98	35,90	126,20	51,00
2	36,43	44,84	-19,92	28,43	34,75	125,28	62,01
3	35,48	44,38	-20,17	28,49	34,94	125,54	61,53
4	35,62	45,21	-20,49	29,64	36,06	124,90	60,79
5	33,66	45,83	-20,08	29,36	35,61	124,70	59,89
6	31,31	45,52	-20,27	29,08	35,47	125,00	80,98
7	29,11	45,36	-19,01	29,59	35,19	122,74	55,44
8	28,50	44,81	-20,39	29,59	35,95	124,70	70,50
9	34,20	41,38	-18,64	22,89	29,54	129,35	38,92
Kontrol	39,00	42,03	-17,46	22,95	28,88	127,26	80,55

Çizelge 4.6: Soğuk Stresi 0 °C Genotiplerin Ortalama Ölçüm Sonuçları

Genotip adı	Zİ	L	A	B	C	H	SPAD	NES
TR 64995	1	43,84	-21,17	28,98	35,90	126,20	42,70	51,00
75	2	42,36	-20,57	28,68	35,30	125,71	39,55	84,97
247	2	45,64	-19,47	26,66	33,01	126,16	34,88	54,65
329	2	45,90	-21,11	30,72	37,29	124,63	37,85	53,04
395	2	44,41	-19,98	29,08	35,30	124,67	39,30	52,01
BN 8	2	45,14	-22,68	32,59	39,75	125,23	38,68	45,29
BT 16	2	45,45	-18,98	27,53	33,45	124,61	40,75	65,00
BT 67	2	42,08	-16,99	24,62	30,02	124,80	33,95	80,35
BT 69	2	41,30	-18,19	24,22	30,29	126,95	34,10	69,92
BT 75	2	44,53	-20,03	28,16	34,55	125,47	35,58	49,21
EL 40	2	47,55	-20,26	31,13	37,16	123,16	35,68	79,94
EL 42	2	49,02	-19,18	33,03	38,20	120,14	36,85	49,28
HK 57	2	42,89	-19,14	25,35	31,77	127,07	34,13	59,68
HK 58	2	46,80	-20,46	29,41	35,84	125,01	32,73	53,32
HK 59	2	49,11	-21,27	32,17	38,58	123,56	40,20	71,29
HK 60	2	43,84	-21,63	29,51	36,59	126,28	38,50	63,88
ML 54	2	43,85	-21,38	31,30	37,91	124,36	34,95	78,57
TR 42275	2	45,48	-22,44	31,39	38,60	125,60	25,18	49,94
1	3	46,08	-19,18	29,14	34,95	123,49	31,90	53,30
3	3	40,85	-19,06	25,69	31,99	126,63	30,03	54,64
102	3	44,61	-20,99	31,18	37,60	123,95	37,35	65,75
106	3	45,85	-20,02	28,09	34,51	125,44	30,28	56,88
127	3	45,39	-22,54	32,26	39,36	125,00	36,88	77,97
303	3	43,87	-20,80	28,36	35,18	126,41	36,63	73,97
323	3	46,75	-21,86	31,38	38,25	124,92	41,23	57,69
382	3	48,19	-21,70	33,19	39,66	123,14	35,80	77,95
394	3	45,65	-20,36	27,65	34,34	126,43	35,33	73,83
ARSLAN	3	41,15	-21,62	29,14	36,29	126,64	36,78	49,04
BN 65	3	44,51	-19,92	28,09	34,44	125,41	40,18	64,42
BT 106	3	44,76	-21,26	29,89	36,71	125,69	33,73	58,14

BT 22	3	45,00	-22,37	34,61	41,22	122,91	39,00	49,43
HK 22	3	46,00	-18,75	31,08	36,40	120,98	34,50	56,80
HK 28	3	46,26	-18,75	28,01	33,72	123,98	29,08	55,78
HK 30	3	43,30	-18,25	24,94	30,91	126,28	38,55	52,67
HK 33	3	42,63	-17,29	21,92	27,92	128,29	33,48	72,82
HK 37	3	39,20	-17,65	23,53	29,41	126,97	37,50	76,57
HK 43	3	41,35	-19,92	26,97	33,53	126,48	40,63	53,49
HK 53	3	47,00	-22,62	33,39	40,40	124,49	34,95	47,82
HK 55	3	43,38	-21,65	29,57	36,65	126,24	39,28	68,65
ML 49	3	46,87	-21,04	30,94	37,42	124,24	41,35	76,41
ML 72	3	44,08	-19,74	26,44	33,01	126,86	30,33	59,15
MŞ 52	3	40,48	-16,37	19,19	25,22	130,54	32,93	60,33
MŞ 53	3	41,67	-17,60	21,37	27,69	129,54	39,38	45,81
TR 46348	3	46,61	-20,42	28,68	35,21	125,53	35,25	56,49
TR 64713	3	47,82	-21,97	32,01	38,84	124,67	26,38	53,89
TR 64907	3	45,15	-21,62	31,30	38,05	124,68	40,73	52,39
PI 549875	4	41,33	-17,86	22,02	28,37	129,17	33,80	75,70
11	4	43,67	-19,84	28,51	34,75	124,93	44,33	74,56
43	4	43,79	-19,69	28,33	34,53	125,01	31,10	53,17
61	4	41,64	-18,01	24,04	30,05	126,96	37,80	61,83
62	4	40,85	-18,68	24,28	30,64	127,59	34,10	77,41
66	4	42,86	-20,71	30,03	36,50	124,70	40,78	74,89
68	4	45,21	-21,21	31,40	37,91	124,28	36,03	51,29
70	4	50,07	-21,69	35,44	41,61	122,05	38,95	56,39
73	4	44,34	-18,42	25,92	31,84	125,85	42,30	52,14
81	4	42,45	-21,29	30,37	37,09	125,07	37,48	59,69
94	4	40,89	-20,06	27,20	33,82	126,67	43,83	48,84
101	4	41,50	-19,62	25,22	31,95	127,91	31,45	60,43
104	4	43,70	-19,30	27,39	33,52	125,26	34,53	43,41
110	4	45,54	-20,82	29,85	36,42	125,04	37,15	77,50
115	4	45,92	-22,77	33,63	40,63	124,21	30,80	54,39
161	4	47,24	-21,80	31,57	38,37	124,65	32,61	76,58
201	4	45,72	-20,94	30,03	36,63	124,95	34,88	53,51
238	4	46,42	-22,30	30,60	37,88	126,24	31,45	57,89
243	4	45,69	-21,08	28,85	35,75	126,34	28,75	64,58
362	4	44,62	-19,28	27,06	33,23	125,52	34,20	76,11
393	4	50,88	-21,22	34,52	40,56	121,62	28,10	57,26
BN 16	4	42,12	-19,04	24,86	31,32	127,51	33,23	70,51
BT 121	4	42,36	-20,55	28,52	35,16	125,83	35,18	65,04
BT 123	4	45,51	-22,59	33,17	40,14	124,23	30,78	42,32
BT 124	4	44,04	-20,51	28,76	35,33	125,50	40,15	54,55
BT 20	4	47,45	-20,29	30,75	36,85	123,42	35,05	53,55
BT 23	4	46,93	-21,64	32,60	39,13	123,63	39,28	48,18
BT 25	4	43,47	-21,88	31,22	38,14	125,20	34,35	50,45
BT 39	4	45,31	-19,94	29,63	35,74	124,16	36,25	68,69
BT 50	4	42,81	-19,18	26,76	32,92	125,69	29,08	42,41

EL 30	4	45,31	-19,56	28,34	34,44	124,62	30,73	72,02
EL 34	4	47,98	-19,40	31,08	36,68	122,16	33,23	55,84
EL 35	4	45,04	-20,67	30,98	37,30	124,10	32,58	49,08
EL 36	4	42,27	-19,59	28,47	34,57	124,56	39,25	45,94
EL 37	4	46,84	-19,96	31,53	37,33	122,35	31,13	51,83
EL 6	4	45,88	-21,72	33,17	39,65	123,24	28,90	61,38
GÖYNÜK	4	48,75	-21,34	31,24	37,84	124,37	41,05	67,72
HK 26	4	44,99	-18,42	24,97	31,03	126,38	39,33	68,02
HK 40	4	49,75	-21,16	32,24	38,57	123,33	38,48	71,40
HK 44	4	42,34	-19,73	28,97	35,10	124,53	35,93	76,52
HK 46	4	44,42	-18,91	25,13	31,46	127,06	37,28	59,42
HK 48	4	50,45	-19,34	32,08	37,48	121,23	37,35	77,08
HK 50	4	50,20	-22,08	35,40	41,73	121,99	33,73	56,80
HK 51	4	45,04	-20,61	28,84	35,45	125,55	41,78	44,53
HK 52	4	45,68	-22,87	35,44	42,19	122,86	37,10	68,53
HK 54	4	51,74	-22,40	35,54	42,06	122,16	28,73	64,18
IR-1	4	45,65	-21,19	29,55	36,38	125,64	29,65	55,44
ML 14	4	46,06	-21,37	29,83	36,72	125,78	28,03	60,68
ML 5	4	45,78	-21,81	32,30	38,99	124,21	30,85	56,90
ML 6	4	48,82	-19,39	29,28	35,13	123,58	37,83	57,09
ÖNCELLER	4	43,18	-18,61	23,62	30,08	128,27	32,60	75,61
TR 64737	4	47,88	-22,76	34,12	41,02	123,78	31,23	57,37
TR 77930	4	45,20	-21,84	30,03	37,13	126,06	36,85	42,85
58	5	48,03	-17,34	26,01	31,31	123,53	31,93	54,38
123	5	47,28	-24,10	40,29	46,99	121,17	27,43	75,53
168	5	48,87	-21,21	31,12	37,67	124,35	36,35	48,72
390	5	50,56	-21,66	32,55	39,12	123,72	38,83	59,58
BN 56	5	39,66	-18,16	23,26	29,52	128,02	36,28	77,22
BT 122	5	44,75	-17,16	24,99	30,33	124,44	38,00	66,39
BT 52	5	42,62	-17,51	23,83	29,58	126,31	33,68	61,21
BT 80	5	47,55	-21,14	34,66	40,68	122,08	26,88	43,96
ERZİNCAN 2	5	47,39	-20,45	29,59	35,97	124,65	40,40	45,34
HK 34	5	40,73	-19,77	27,03	33,50	126,33	37,70	67,45
HK 47	5	46,74	-20,10	28,93	35,23	124,82	28,80	52,67
ML 3	5	45,75	-21,24	30,45	37,13	124,91	36,13	79,93
ML 58	5	44,83	-19,11	27,75	33,69	124,57	32,65	78,68
69	6	43,35	-20,32	30,17	36,40	124,23	25,93	53,27
BT 115	6	47,30	-20,88	31,59	37,93	123,61	34,33	45,17
BT 116	6	45,10	-18,74	26,60	32,54	125,16	37,13	268,62
BT 120	6	47,90	-22,41	33,54	40,36	123,86	33,58	64,24
BT 56	6	45,01	-18,33	25,60	31,49	125,60	27,43	53,26
ML 34	6	45,44	-21,86	32,90	39,53	123,79	33,38	52,40
ML 55	6	44,52	-19,99	27,44	33,96	126,09	30,35	77,99
PI 527829	6	41,81	-18,76	23,08	29,75	129,25	37,78	72,11
TN 8	6	41,19	-18,28	22,03	28,63	129,69	41,85	44,35
TR 78067	6	43,84	-20,48	27,40	34,22	126,96	34,98	72,25

80	7	46,52	-18,80	30,52	35,89	121,62	28,63	60,00
EL 32	7	44,19	-19,21	28,65	34,50	123,87	29,60	50,87
TR 46415	7	43,58	-20,39	28,19	34,81	126,09	34,03	53,59
52	8	44,26	-21,03	31,35	37,76	123,93	31,98	62,90
65	8	45,64	-20,14	29,97	36,13	124,09	23,18	70,61
PI 476860	8	42,10	-17,85	22,41	28,66	128,63	41,25	76,60
PI 263004	9	41,84	-19,12	23,69	30,46	129,01	40,80	41,91
PI 268052	9	40,92	-18,16	22,09	28,61	129,70	27,60	35,92

4.3. Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Don Stresine (-3 °C) Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu

Soğuk stresine tolerans açısından yapılan denemede görsel gözlemler sonucuna göre (Çizelge 4.7) 1 genotip zararlanma indeksi 1 grubuna girmiştir yani don stresine tolerant olarak gözlemlenmiştir. 14 genotip ise zararlanma indeksi 2 grubuna girmiştir zararlanmanın %10'u geçmediği tolerant grup. Zararlanma indeksi 3 grubunda ise 7 genotip ve zararlanma indeksi 4 grubunda ise 35 genotip belirlenmiştir. 42 bitkinin orta derece tolerant olduğu gözlemlenmiştir. Zararlanma indekslerine göre orta derecede tolerant olan 4 ve 5 zararlanma indeks gruplarında yoğunlaşma olduğu görülmüştür. Soğuk stresi testlemelerine göre tolerant bitki sayısının azaldığı belirlenmiştir. 20 bitkinin öldüğü ve 7 bitkinin çok fazla zararlandığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre don stresine maruz bırakılan fasulye genotiplerinin genel olarak hassas ve orta derecede tolerant olduğu belirlenmiştir. Don stresine dayanıklı fidelerin aynı zamanda soğuk stresine de dayanıklı olduğu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.7: Don Stresi -3 °C Zararlanma İndeksine Göre Genotipler

Zİ	GENOTİPLER	TOPLAM
1	TR 64995	1
2	68,238,395,BN 8,BT 106,EL 30,EL 34,EL 37,EL 6,HK 22,HK 26,HK 51,ML 34,ML 6,	14
3	58,81,GÖYNÜK,HK 54,MŞ 52,TR 42275,TR 46348	7
4	3,66,70,73,80,101,106,110,243,303,390,393,394,BN 16,BN 56,BN 65,BT 115,BT 120,BT 122,BT 124,BT 16,BT 20,BT 80,EL 35,ERZİNCAN2,HK 43,HK 44,HK 50,HK 53,HK 58,ML 5,ÖNCELER,PI 476860,PI 549875,TR 64737	35
5	11,52,94,102,104,123,161,201,247,323,329,362,BT 116,BT 39,EL 32,EL 36,EL 40,HK 28,HK 33,HK 34,HK 48,HK 55,HK 57,HK 59,IR-1,ML 3,ML 49,ML 54,ML 58,ML 72,PI 527829,TR 46415,TR 77930,TR 78067	34
6	43,65,69,75,168,382,BT 121,BT 123,BT 56,HK 40,HK 46,HK 52	12
7	1,ARSLAN,BT 75,ML 14,MS 53,PI 268052,TR 64713	7
8	62,BT 25,BT 52,BT 67,BT 69,HK 30,HK 37,HK 60,ML 55,PI 263004,TN 8,TR 64907	12
9	61,115,127,BT 22,BT 23,BT 50,EL 42,HK 47	8

Don stresi denemesi klorofil ölçümü(SPAD), renk ölçümü (L, a, b,) ve elektriksel iletkenlik ölçümü (NES) sonuçlarının zararlanma indeksine göre ortalamalarını karşılaştırdığımızda; Soğuğa en toleranslı zararlanma indeksi 1 grubunda kontrole göre SPAD değeri artarken diğer bitkiler de düştüğü gözlemlenmiştir. Kontrole göre L, b, C değerlerinin kontrole göre arttığı a, H ve NES değerinin ise azaldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.8).



Şekil 4.3: -3 °C’de testlenen bikilerden bir görüntü

Çizelge 4.8: Don Stresi Denemesi Zararlanma İndeksine Göre Ortalama Ölçüm Sonuçları

Zİ	SPAD	L	a	b	C	H	NES
1	41,03	45,71	-20,64	29,93	36,42	125,10	47,06
2	35,02	44,81	-19,28	27,26	33,42	125,52	49,42
3	31,00	43,29	-18,13	26,38	32,05	124,68	48,44
4	33,11	45,30	-19,68	27,99	34,25	125,40	52,44
5	33,19	46,49	-19,47	28,56	34,60	124,55	46,35
6	34,95	46,29	-19,44	28,26	34,35	124,76	49,49
7	27,80	46,57	-19,45	28,21	34,31	124,95	45,33
8	34,74	45,29	-19,40	27,53	33,71	125,44	41,02
9	34,22	44,44	-18,90	27,94	33,76	124,18	52,87
Kontrol	39,00	42,03	-17,46	22,95	28,88	127,26	80,55

Çizelge 4.9: Don Stresi Denemesi Genotiplerin Ortalama Ölçüm Sonuçları

Genotip adı	Zİ	L	a	b	C	H	SPAD	NES
TR 64995	1	45,71	-20,64	29,93	36,42	125,10	41,03	47,06
68	2	45,55	-18,30	25,08	31,11	126,35	33,10	46,91
238	2	43,22	-18,54	25,04	31,19	126,94	31,95	39,20
395	2	48,62	-20,43	30,48	36,69	123,85	42,60	32,61
BN 8	2	42,34	-19,71	26,41	32,96	126,79	39,15	35,11
BT 106	2	46,33	-18,28	25,78	31,61	125,40	32,85	61,87
EL 30	2	43,03	-19,44	27,31	33,56	125,80	31,05	52,20
EL 34	2	42,33	-19,56	26,25	32,74	126,71	34,48	50,06
EL 37	2	41,51	-17,00	22,53	28,24	127,37	31,03	44,52
EL 6	2	46,28	-20,98	32,03	38,31	123,39	32,90	39,96
HK 22	2	45,61	-18,78	28,02	33,73	123,80	35,85	73,81
HK 26	2	44,46	-19,64	26,76	33,20	126,43	33,80	75,22
HK 51	2	47,94	-21,73	32,60	39,19	123,71	41,43	44,55
ML 34	2	46,31	-20,08	29,52	35,71	124,35	33,55	56,51
ML 6	2	43,87	-17,52	23,89	29,63	126,34	36,55	39,30
58	3	47,66	-20,30	31,12	37,19	123,24	29,58	62,53
81	3	44,74	-20,19	29,09	35,55	125,40	35,03	61,72
GÖYNÜK	3	34,99	-11,54	18,15	21,51	122,64	37,03	65,16
HK 54	3	47,81	-20,13	29,80	35,97	124,05	24,78	38,38
MŞ 53	3	42,01	-17,15	23,04	28,77	127,15	30,03	29,77
TR 42275	3	43,81	-18,90	26,52	32,58	125,52	25,40	48,18
TR 46348	3	42,04	-18,69	26,92	32,78	124,72	35,20	33,33
3	4	43,10	-18,63	24,91	31,14	127,22	32,70	46,50
66	4	45,69	-20,11	30,15	36,30	124,10	32,75	43,93
70	4	48,63	-20,69	31,18	37,42	123,57	39,38	65,80
73	4	46,59	-19,92	28,01	34,40	125,67	33,13	60,70
80	4	41,94	-19,24	26,09	32,44	126,64	31,13	55,86
101	4	45,18	-18,01	24,49	30,41	126,36	27,50	64,79
106	4	45,09	-18,94	25,40	31,69	126,75	32,18	63,08
110	4	43,47	-19,61	25,73	32,36	127,36	33,28	46,23
243	4	46,85	-19,49	29,10	35,03	123,93	31,38	37,88
303	4	46,87	-21,20	31,60	38,07	123,90	30,85	31,98
390	4	45,37	-20,08	29,65	35,89	124,65	35,93	26,66
393	4	45,66	-18,68	25,70	31,83	126,17	27,50	77,71
394	4	44,48	-18,53	25,41	31,47	126,26	38,40	41,87
BN 16	4	44,64	-20,51	28,91	35,46	125,43	34,08	65,91
BN 56	4	41,34	-19,22	25,74	32,15	126,98	43,83	61,81
BN 65	4	45,74	-19,72	28,78	35,01	125,06	35,28	46,94
BT 115	4	47,02	-19,04	28,80	34,54	123,67	33,15	64,00
BT 120	4	44,70	-19,16	25,72	32,08	126,71	33,38	52,30
BT 122	4	47,40	-21,41	33,48	39,74	122,60	34,88	137,88
BT 124	4	46,02	-19,65	28,77	34,90	124,84	37,63	50,54

BT 16	4	45,22	-18,64	26,44	32,39	125,65	34,93	59,71
BT 20	4	46,18	-20,19	30,62	36,74	123,79	32,30	55,79
BT 80	4	43,86	-20,34	27,69	34,36	126,34	32,35	36,85
EL 35	4	44,28	-18,76	25,28	31,48	126,61	34,53	35,55
ERZİNCAN 2	4	49,37	-20,84	31,61	37,86	123,44	29,83	29,84
HK 43	4	43,57	-19,65	27,15	33,58	125,95	35,55	71,64
HK 44	4	44,78	-20,26	28,62	35,10	125,43	31,63	48,79
HK 50	4	45,24	-20,15	28,59	35,08	126,06	34,05	43,24
HK 53	4	49,60	-21,22	32,49	38,81	123,17	31,95	34,79
HK 58	4	46,09	-21,50	30,89	37,65	124,90	29,43	45,79
ML 5	4	40,62	-18,83	24,20	30,68	128,06	30,48	66,11
ÖNCELLER	4	45,22	-18,24	25,38	31,26	125,76	29,10	47,84
PI 476860	4	44,86	-20,33	29,99	36,27	124,33	34,50	35,84
PI 549875	4	45,28	-19,74	27,92	34,22	125,42	31,00	28,78
TR 64737	4	45,74	-18,29	24,99	30,97	126,21	29,05	52,40
11	5	46,60	-19,17	28,10	34,03	124,43	45,95	57,39
52	5	47,44	-21,12	32,00	38,36	123,46	26,90	52,50
94	5	42,78	-19,58	26,54	32,98	126,44	31,95	63,86
102	5	48,15	-19,73	30,49	36,31	122,91	35,93	37,27
104	5	39,42	-16,17	20,16	25,85	128,82	34,60	56,17
123	5	51,01	-20,22	30,96	36,99	123,16	30,18	55,76
161	5	49,54	-20,96	31,22	37,60	123,87	25,70	
201	5	49,75	-19,50	31,40	37,00	122,18	34,30	53,40
247	5	47,53	-20,64	32,21	38,31	123,00	36,43	29,49
323	5	48,01	-20,53	32,27	38,29	122,64	36,80	50,13
329	5	46,51	-18,68	26,89	32,76	124,96	36,90	44,55
362	5	45,17	-19,62	27,47	33,79	125,69	29,45	30,81
BT 116	5	39,58	-16,68	20,56	26,48	129,12	30,65	67,64
BT 39	5	44,99	-19,40	27,08	33,33	125,81	36,23	54,96
EL 32	5	45,13	-20,05	29,19	35,55	125,12	23,88	33,52
EL 36	5	47,90	-19,14	29,24	34,95	123,29	33,93	47,75
EL 40	5	43,74	-18,29	24,11	30,28	127,39	37,85	61,60
HK 28	5	47,56	-22,22	34,63	41,19	123,02	35,13	33,52
HK 33	5	48,23	-20,76	31,97	38,17	123,20	36,33	39,26
HK 34	5	47,53	-19,66	28,72	34,83	124,65		61,85
HK 48	5	44,94	-17,33	25,37	30,76	124,20	36,55	39,94
HK 55	5	46,46	-21,25	31,94	38,38	123,83	35,83	45,95
HK 57	5	48,49	-20,79	32,03	38,19	122,95	29,03	36,77
HK 59	5	42,91	-19,30	25,21	31,79	127,76	32,10	42,08
IR-1	5	48,49	-20,58	30,25	36,62	124,16	26,50	40,06
ML 3	5	48,20	-19,99	30,26	36,27	123,48	35,13	65,30
ML 49	5	45,91	-18,71	26,52	32,48	125,34	37,25	41,19
ML 54	5	45,15	-20,06	29,05	35,34	124,89	40,78	35,61
ML 58	5	45,75	-18,15	25,10	30,98	125,81	27,43	33,41
ML 72	5	43,83	-18,07	24,66	30,58	126,31	37,13	39,61
PI 527829	5	45,71	-16,80	25,87	30,91	122,76	34,35	37,04

TR 46415	5	49,16	-19,76	30,08	36,00	123,38	32,18	59,25
TR 77930	5	47,40	-19,63	28,18	34,35	124,91	35,90	39,53
TR 78067	5	51,75	-19,30	31,28	36,76	121,73	15,98	42,19
43	6	46,48	-20,70	31,88	38,06	123,34	38,50	30,03
65	6	47,00	-21,23	30,62	37,29	124,86	26,55	89,12
69	6	43,25	-18,27	23,90	30,09	127,34	37,03	70,22
75	6	45,14	-20,63	29,26	35,82	125,26	37,10	32,94
168	6	44,18	-19,17	26,27	32,54	126,24	31,90	39,63
382	6	47,17	-20,76	30,04	36,54	124,81	36,55	60,15
BT 121	6	45,18	-19,90	27,66	34,11	125,98	35,00	57,12
BT 123	6	49,72	-19,25	30,61	36,18	122,28	35,80	51,61
BT 56	6	43,72	-18,17	23,81	30,02	127,48	31,13	35,99
HK 40	6	47,35	-18,32	29,20	34,55	122,32	37,13	53,30
HK 46	6	47,46	-16,82	24,18	29,50	124,75	37,83	39,81
HK 52	6	48,84	-20,06	31,74	37,57	122,44		33,98
1	7	50,50	-19,43	32,10	37,54	121,37		43,71
ARSLAN	7	45,87	-19,95	27,87	34,31	125,84	33,23	66,39
BT 75	7	47,95	-20,10	28,96	35,28	124,98	35,58	33,03
ML 14	7	48,74	-21,03	31,45	37,88	123,99	30,00	40,69
MŞ 52	7	43,66	-18,59	26,28	32,22	125,51	15,08	57,33
PI 268052	7	45,85	-19,26	27,76	33,83	125,00		39,04
TR 64713	7	43,38	-17,77	23,01	29,10	127,99	25,13	37,11
62	8	46,77	-19,64	28,69	34,80	124,66		30,02
BT 25	8	45,94	-19,09	27,60	33,60	124,93		
BT 52	8	47,89	-20,51	32,03	38,06	122,81	31,90	37,40
BT 67	8	44,30	-18,89	25,51	31,76	126,57	32,88	39,75
BT 69	8	47,58	-19,93	29,52	35,63	124,22	30,40	38,78
HK 30	8	43,85	-18,72	25,36	31,58	127,09	31,70	65,63
HK 37	8	47,43	-19,47	27,63	33,81	125,22	29,25	34,26
HK 60	8	44,57	-19,01	26,27	32,45	126,02	35,53	47,85
ML 55	8	45,54	-20,14	28,62	35,05	125,38	35,53	42,37
PI 263004	8	44,34	-19,98	27,58	34,08	126,01		
TN 8	8	44,84	-19,78	28,75	34,92	124,64	41,28	37,90
TR 64907	8	40,46	-17,61	22,81	28,82	127,70	44,20	36,25
61	9	46,38	-18,72	27,34	33,17	124,69		
115	9	46,96	-21,36	33,53	39,76	122,51	23,05	64,94
127	9	30,13	-9,88	15,18	18,11	123,06		75,25
BT 22	9	47,66	-20,88	31,78	38,04	123,34	40,80	39,32
BT 23	9	48,70	-20,72	32,70	38,72	122,35	36,20	45,99
BT 50	9	47,42	-21,01	30,68	37,23	124,53		
EL 42	9	43,94	-19,48	25,55	32,14	127,37	36,83	58,06
HK 47	9	44,37	-19,14	26,74	32,89	125,59		33,64

Deneme sonuçlarının kontrol grubu sonuçlarına göre karşılaştırılması; Nisbi Elektrolit Sızıntı sonuçlarına göre 5 °C ye tutulan bitkilerde kontrole göre ufak bir artış olmasına karşın 0°C ve-3 °C ye maruz bırakılan bitkilerde ciddi düşüşler

kaydedilmiştir. Aynı şekilde SPAD değerleride 5 °C de hafif bir artış göstermiş ancak 0°C ve -3 °C de düştüğü belirlenmiştir. 5 °C de tutulan bitkiler stresten zarar görmediği için stres sonrası hızla gelişme gösterdiği için NES ve SPAD değerlerini artırmıştır (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10: Zararlanma indeksine göre uygulamaların karşılaştırılması

	Kontrol			+5 °C			0 °C			-3 °C		
Zi	NES*	SPAD	Renk H	NES*	SPAD	Renk H	NES*	SPAD	Renk H	NES*	SPAD	Renk H
1	84,5	38,2	130,1	80,2	47,1	128,6	51,0	42,7	126,2	47,1	41,0	125,1
2	78,7	39,3	126,3	83,1	45,3	128,8	62,0	36,4	125,2	49,4	35,0	125,5
3	77,8	39,0	127,8	80,7	45,3	128,6	61,5	35,5	125,6	48,4	31,0	124,7
4	79,5	41,0	127,6	80,9	46,9	128,9	60,7	35,6	124,9	52,4	33,1	125,4
5	84,9	37,6	126,0	79,3	44,3	129,2	59,8	33,7	124,7	46,3	33,7	124,5
6	81,4	35,9	128,2	83,5	46,1	128,5	80,9	31,3	125,0	49,5	35,0	124,8
7	65,2	38,9	127,8	81,8	48,5	129,0	55,4	29,1	122,7	45,3	27,8	125,0
8	80,1	45,0	128,1	65,7	37,1	129,4	70,5	28,5	124,7	41,0	34,7	125,4
9	83,9	44,3	128,6	71,4	37,2	129,4	38,9	34,2	129,3	52,9	34,2	124,2
* Nisbi Elektrolit Sızıntısı (NES)=(E1-E0/E2-E0) x 100												



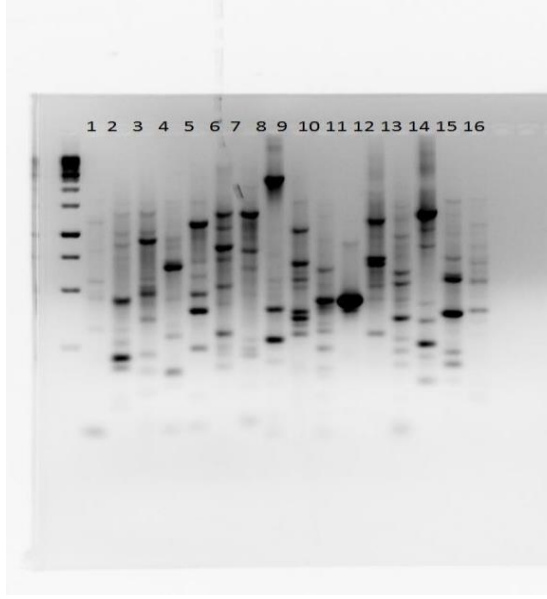
Şekil 4.4: Soğuk ve don stresi uygulaması sonrası bitkilerde renk, SPAD ve EC ölçümü

4.4. Moleküler Karakterizasyon

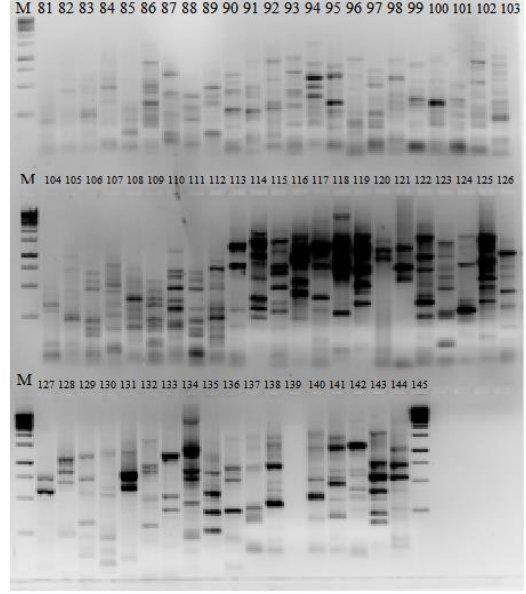
Bulk DNA'lar ile polimorfik kombinasyonların belirlenmesi amacıyla yapılan PCR reaksiyonlarının sonuçlarından elde edilen jel görüntüleri değerlendirildikten sonra amplifikasyon kalitesi yüksek ve bant sayısı 5- 6 ve üzerinde 19 primer çifti belirlenmiştir. (Şekil 4.5, 6, 7, 8). Polimorfik olduğu belirlenen primer çiftleri ile 55 genotip taranmıştır. Elde edilen jel resimleri incelenerek amplifikasyon kalitesi yüksek olan bantlar skor edilmiştir. (Şekil 4.9, 10, 11, 12) Genotiplerin taranması sonucu toplam 211 bant ve 109 polimorfik bant elde edilmiştir. En fazla polimorfik bant sayısı 12 adet ile Me8 Em3 kombinasyonunda olmuştur. Ortalama polimorfik bant sayısı 5,73 olarak hesaplanmıştır. En fazla toplam bant sayısı 17 adet ile Me13 Em2 primer kombinasyonunda görülmüştür. Ortalama toplam bant sayısı 11,1 olarak hesaplanmıştır. En az polimorfik bant sayısı (1 adet) Me6 Em7 primer kombinasyonunda görülmüştür. En az toplam bant sayısı (5 adet) Me6 Em7, Me12 Em5 ve Me9 Em6 kombinasyonlarında görülmüştür. Ortalama polimorfizm yüzdesi %51 hesaplanmıştır. Bant büyüklükleri en küçük 150 bp (Me6 Em6, Me8 Em2, Me13 Em2) ile en büyük 1500 bp (Me8 Em2) arasında değişmiştir. Ortalama PBI (Polimorfik Bilgi İçeriği) 0,31 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11: SRAP primer kombinasyonlarının ürettiği toplam bant sayısı ve polimorfik bant sayısı

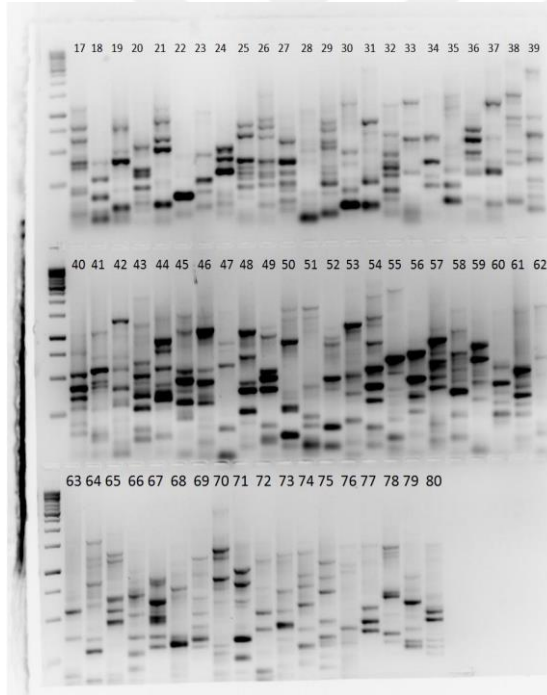
Primer Kombinasyonu	Polimorfik Bant Sayısı	Toplam Bant Sayısı	%Polimorfizm	PBI
Me6Em6	10	16	0,63	0,41
Me8Em2	11	15	0,73	0,40
Me7Em14	5	6	0,83	0,19
Me8Em3	12	14	0,86	0,38
Me8Em10	10	14	0,71	0,38
Me6Em7	1	5	0,20	0,17
Me11Em15	7	11	0,64	0,32
Me11Em16	7	12	0,58	0,34
Me12Em1	8	15	0,53	0,40
Me12Em2	2	11	0,18	0,32
Me12Em5	3	5	0,60	0,17
Me12Em6	3	10	0,30	0,30
Me13Em2	6	17	0,35	0,43
Me13Em9	7	12	0,58	0,34
Me5Em17	4	10	0,40	0,30
Me5Em19	2	7	0,29	0,22
Me8Em6	4	10	0,40	0,30
Me9Em6	3	5	0,60	0,17
Me6Em9	4	16	0,25	0,41
Toplam	109	211	0,51	0,31



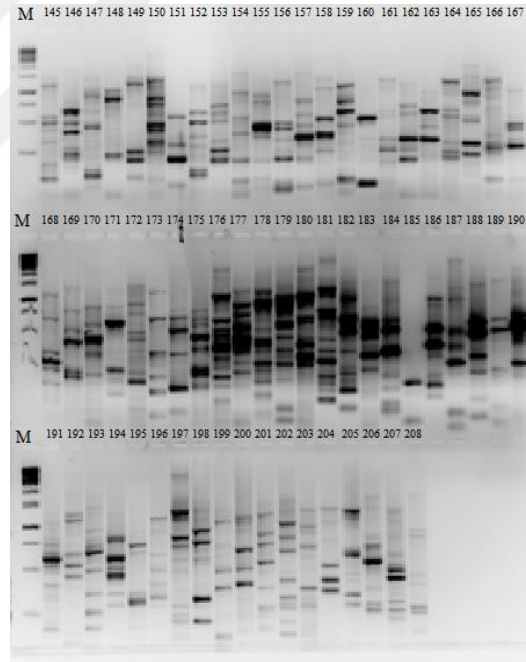
Şekil 4.5: Me1 Kombinasyonları



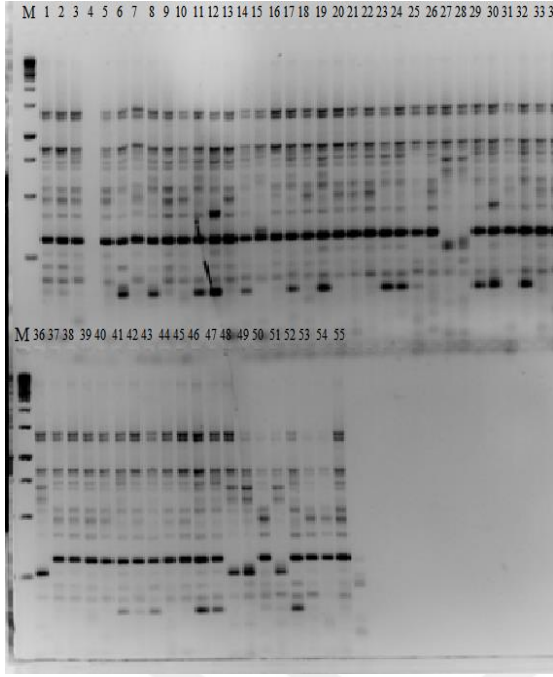
Şekil 4.7 : Me6Me7Me8Me9 Kombinasyonları



Şekil 4.6 Me2Me3Me4Me5 Kombinasyonları

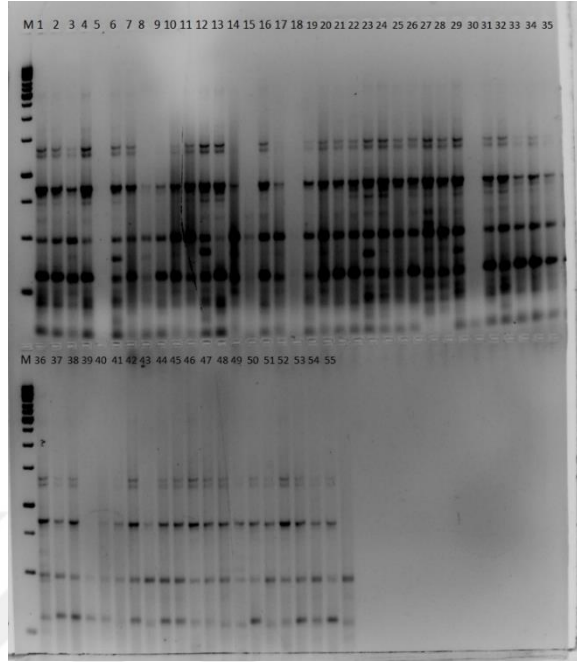


Şekil 4.8: Me10Me11Me12Me13 Kombinasyonları

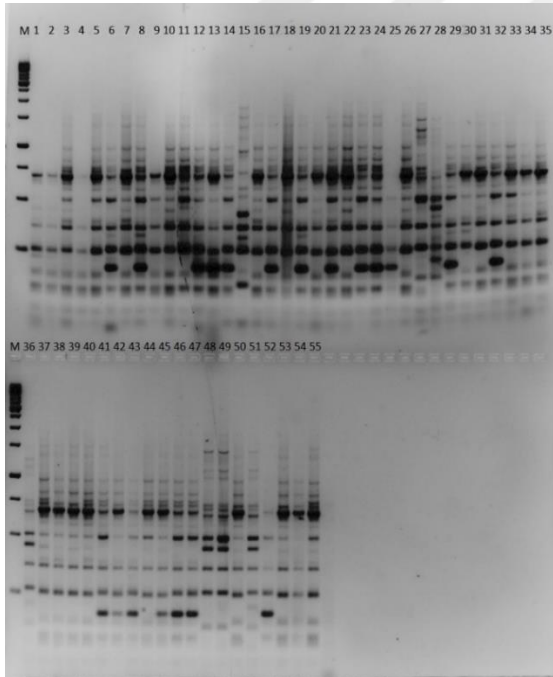


Şekil 4.9: Seçilen primer çiftlerinden Me6Em6 ile 55 genotipin PCR görüntüsü

Me13Em2 ile 55 genotipin PCR görüntüsü



Şekil 4.11: Seçilen primer çiftlerinden Me12Em6 ile 55 genotipin PCR görüntüsü



Şekil 4.10: Seçilen primer çiftlerinden

Yapılan benzerlik analizleri sonucunda ortalama Jaccard genetik benzerlik katsayısının 0.90 olduğu, genetik olarak en yakın genotiplerin 9,82 değeri ile 65 ve 68 numaralı genotiplerin, genetik olarak en uzak genotiplerin 3,51 değeri ile HK 60 ve 61 numaralı genotipler olduğu saptanmıştır (Şekil 4.12).

55 fasulye genotipi arasında 109 adet moleküler markörün NTSYSpc (Ver 2.1) programında DICE (1945) metoduna göre elde edilen benzerlik matrisinin UPGMA gruplandırılmasıyla elde edilen dendrogram Şekil 4.13’de verilmiştir.

Kümeleme analizi sonucunda genotiplere ait farklılık katsayıları 0,51-0,98 arasında değişmiştir.

NTSYS-pc (ver 2.1) programında DICE (1945) metoduna göre elde edilen benzerlik matrisinin UPGMA gruplandırılması ile oluşturulan dendrograma göre, 55 genotip A ve B olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Dendrogramdaki A grubunun toplam 6 genotipi temsil ettiği (HK 59, HK 60, 247, 303, 75, 329) bu genotiplerin tohum şekilleri ve gelişme tipleri (sarılıcı) benzerdir, geri kalan 49 genotipinde B grubunu oluşturduğu, aynı zamanda B grubunun da kendi içinde esas olarak B1 ve B2 olarak ikiye ayrıldığı, B1 grubunun tek bir genotipi içerdiği bu genotip ise *P. acutifolius* türü olduğu için diğerlerinden tamamen ayrılmıştır. B2 grubu ise B2.1 VE B2.2 olmak üzere iki gruba ayrılmış, bu gruplarda kendi içinde alt gruplara ayrılmıştır. B2.1.1 grubu tek bir genotipi (62) içerirken B2.1.2 ise kendi içinde alt gruplara ayrılmıştır bu gruplara HK 26, HK 37, 123, HK 54, BN 56, 238, KANTAR, IR 1, ML 49, PI 476860, BT 16, 61, TR 64907, 201, 110, 338 genotiplerini içerir. B2.2 grubu ise kendi içinde B2.2.1 ve B2.2.2 olmak üzere iki alt gruba ayrılır. B2.2.1 ise sadece HK 57 genotipini içerir. B2.2.2 ise ÇAYIRLI, ELKOCA, ÖNCELER, EL 30, GÖYNÜK, HANOĞLU, BT 75, ML 6, HK 44, 395, 58, 65,68, 80, BT 67, BT 124, BT 52, HK 51, 102, 390, BT 106, MŞ 52, TR 64995, 115, 127, HK 22, BN 8, BT 69, 323, ERZİNCAN 2 genotiplerini kapsamaktadır. Çayırılı, Elkoca, Önceler, EL 30 ve Göynük genotipleri dendrogramda bir alt grup oluşturmuş ve bu genotiplerin morfolojik olarak da gelişme özellikleri (oturak tip) ve tohum şekilleri birbirine benzediği belirlenmiştir. Her ne kadar bazı genotipler toplanma yerine göre bir grup oluştursa da genel itibarıyla genotiplerin grup oluşturmasıyla toplandığı coğrafik lokasyonlar arasında genel olarak bir ilişki bulunmamıştır. Fenotipik olarak soğuğa toleranslı olarak belirlenen genotiplerin ise değişik alt gruplarda olduğu belirlenmiştir.

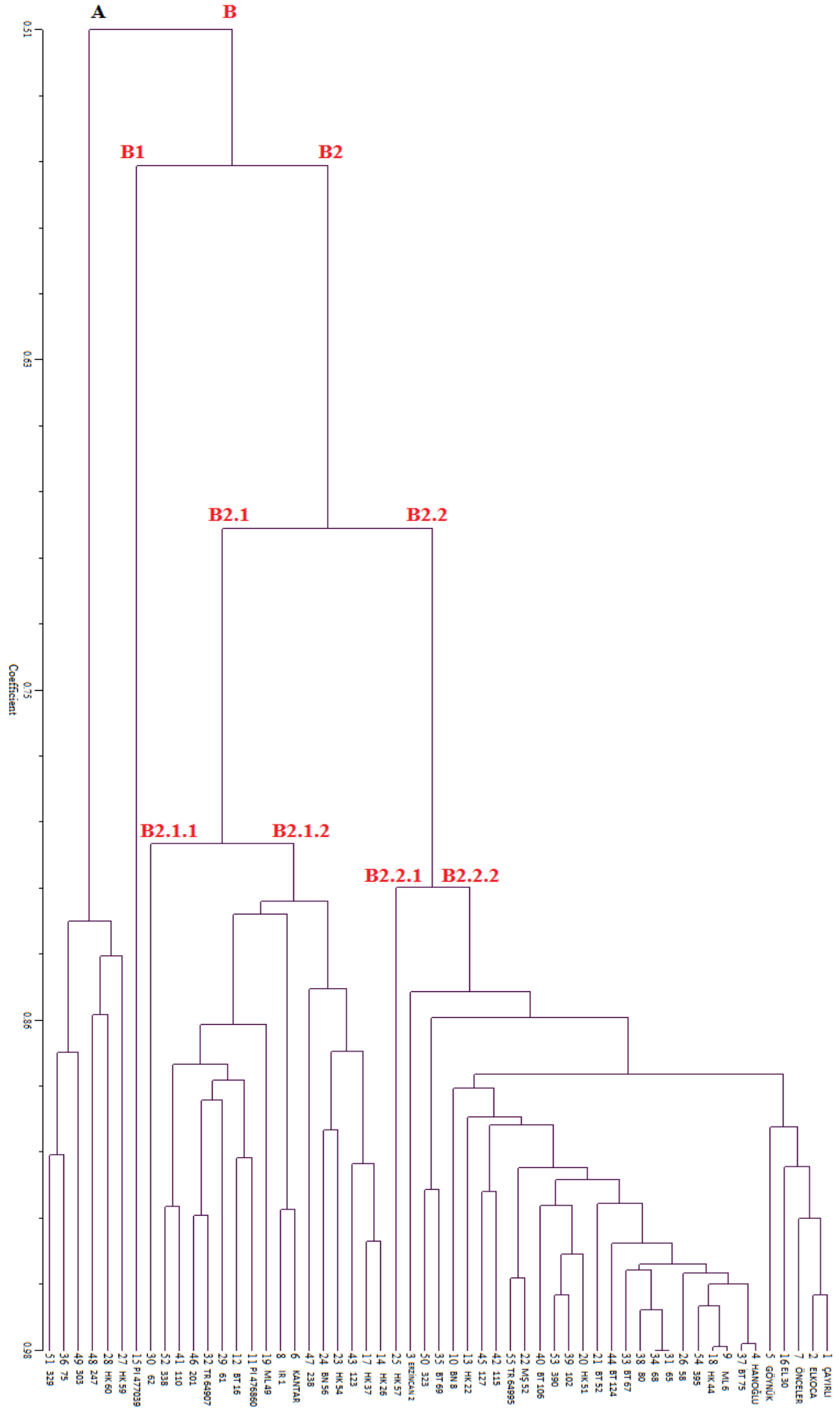
Temel Bileşenler Analizine göre elde edilen iki boyutlu düzlem üzerinde genotiplerin dağılımı Şekil 4.14’de verilmiştir. Şekil 4.14’e göre 15 numaralı (PI-477039) genotip dendrogramda ki gibi ayrı bir bölgede yer almaktadır. 27, 28, 48, 49, 36, 51 numaralı genotipler (HK 59, HK 60, 247, 303, 75, 329) birbirlerine yakın ancak diğer genotiplerden ayrı durmaktadırlar. Üç boyutlu düzlem üzerinde elde edilen grafik (Şekil 4.15) sonuçları ise dendrogram ve iki boyutlu düzlem ile elde edilen grafik ile örtüşmektedir. Temel bileşenler analizini oluşturan Eigen değerleri ve her değerlerin açıkladığı varyans yüzdesi ve vektörlerin açıkladığı kümülatif varyans Çizelge 4.11’de verilmiştir. İlk 3 Eigen değeri popülasyonda var olan toplam varyansın %48’ini açıklamıştır. Bu sonuç PCA metodunun güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir. (Çizelge 4.12). Bu sonuca göre iki boyutlu grafik (Şekil 4.14), toplam varyasyonun sadece %37’sini temsil etmektedir.

Çizelge 4.12: Eigen Değerleri, varyans yüzdeleri ve kümülatif varyans değerleri

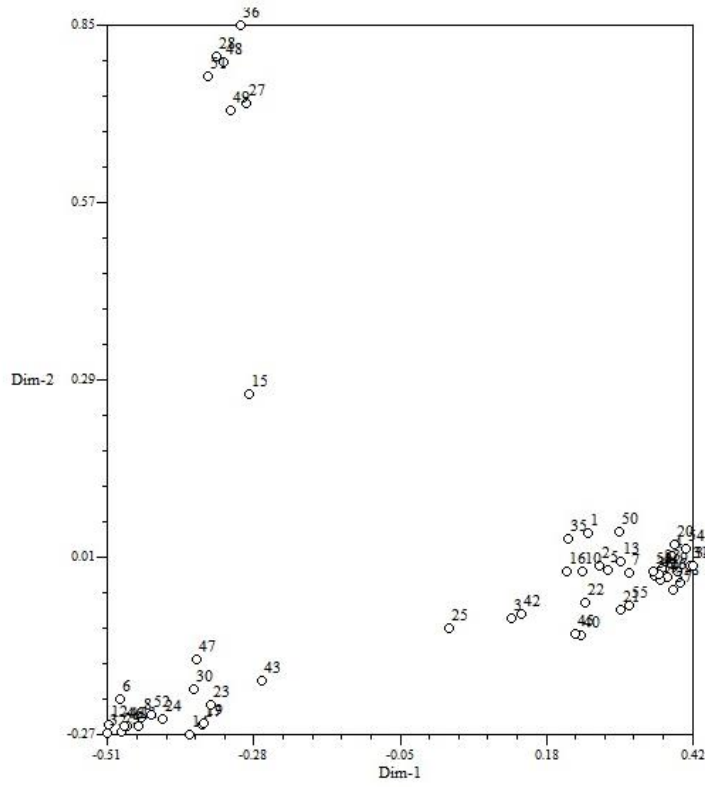
	Eigen Değerleri	Varyans Yüzdesi	Kümülatif Varyans
1	6.92529274	26.1864	26.1864
2	4.77235837	18.0456	44.2319
3	1.18713499	4.4889	48.7208
4	1.12780593	4.2645	52.9853
5	0.99443738	3.7602	56.7456
6	0.88208538	3.3354	60.0810
7	0.80242469	3.0342	63.1151
8	0.71412961	2.7003	65.8154
9	0.59917866	2.2657	68.0811
10	0.56767639	2.1465	70.2276
11	0.55833325	2.1112	72.3388
12	0.52265563	1.9763	74.3151
13	0.47288696	1.7881	76.1033
14	0.43278523	1.6365	77.7397
15	0.40085954	1.5158	79.2555
16	0.38542368	1.4574	80.7129
17	0.34755362	1.3142	82.0271
18	0.34189056	1.2928	83.3198
19	0.32839789	1.2418	84.5616
20	0.30068672	1.1370	85.6986
21	0.27601755	1.0437	86.7423
22	0.25525427	0.9652	87.7075
23	0.24500477	0.9264	88.6339
24	0.23550796	0.8905	89.5244
25	0.22898410	0.8658	90.3903
26	0.20406833	0.7716	91.1619
27	0.19422013	0.7344	91.8963
28	0.18326954	0.6930	92.5893
29	0.18071579	0.6833	93.2726
30	0.16854325	0.6373	93.9099
31	0.16062811	0.6074	94.5173
32	0.15039339	0.5687	95.0860
33	0.13553168	0.5125	95.5985
34	0.13051041	0.4935	96.0920
35	0.11650922	0.4406	96.5325
36	0.10947364	0.4139	96.9465
37	0.10491238	0.3967	97.3432
38	0.09429586	0.3566	97.6997
39	0.08915470	0.3371	98.0368
40	0.08202616	0.3102	98.3470
41	0.07666371	0.2899	98.6369
42	0.06841580	0.2587	98.8956
43	0.05549557	0.2098	99.1054

44	0.04966164	0.1878	99.2932
45	0.04551549	0.1721	99.4653
46	0.04454098	0.1684	99.6337
47	0.03695533	0.1397	99.7735
48	0.03104897	0.1174	99.8909
49	0.02200575	0.0832	99.9741
50	0.01806806	0.0683	> 100%
51	0.01631955	0.0617	> 100%
52	0.00738926	0.0279	> 100%
53	0.00000000	0.0000	> 100%
54	-0.01596146	-0.0604	> 100%
55	-0.01896120	-0.0717	100.0000
Sum of eigenvalues =			26.446176

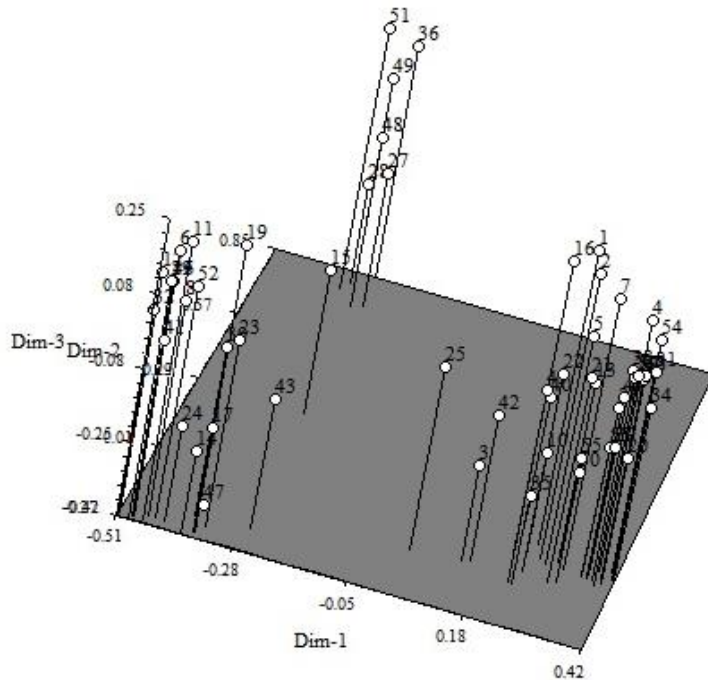
Şekil 4.12 Benzerlik indeksi değerleri



Şekil 4.13: Fasulye genotiplerinde SRAP analizi sonucu elde edilen dendrogram



Şekil 4.14: Temel Bileşenler Analizinden elde edilen iki boyutlu düzlem üzerinde genotiplerin dağılımı



Şekil 4.15: Temel Bileşenler Analizinden elde edilen üç boyutlu düzlem üzerinde genotiplerin dağılımı

V. TARTIŞMA

5.1 Laboratuvar Şartlarında Fide Döneminde Soğuk ve Don Stresine Dayanıklı Genotiplerin Seleksiyonu

Laboratuvar şartlarında fide dönemi soğuk ve don stresine dayanıklı genotiplerin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda +5 °C'ye 36, 0 °C'ye 17 ve -3 °C'ye 15 genotipin toleranslı olduğu tespit edilmiştir. Yaprak dokuları ve fidelerin dona dayanıklılık seviyelerini ölçen bir çalışmada kuru fasulye çeşitlerinin dona çok hassas olduğu bildirilmiştir. Nighthawk için LT50 (Lethal Temperature 50 %) değerinin -2 °C olduğu bildirilmiştir (Balasubramanian, 2002). Ortamda ice-nucleatorları bulunmaz ise sera da yetişen taze fasulye bitki saplarının -7.1 °C ye kadar dayandığı bildirilmiştir (Marcellos and Single, 1979). Ice nucleator varlığında bu sıcaklık -4 °C ye düşmüştür. Yine başka bir çalışmada mistleme uygulanan fasulye fideleri -1.3 °C de donarken yapılmayan kontrol bitkileri -4.3 °C de donmuştur (Ashworth ve ark., 1985). Melo ve ark. (1997) ileri gelişme devresinde fasulye (*Phaseolus vulgaris*)'de düşük sıcaklığa toleranslı çeşit geliştirme çalışmalarında kullanılmak üzere elde etmiş oldukları melez bitkileri soğuk şartlarda denemişlerdir. Çalışma sonunda A-488 x Ouro ve Esal 591 x Ouro melezlerinin soğuğa toleranslılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Dossantos ve Ramalho (1990). Brezilya Minas Gerais Bölgesi sonbahar ve kış ekimlerine uygun fasulye varyetelerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışma sonunda ESAL 572 ve 603 no.lu genotiplerin projelerinin en iyi sonucu verdiğini bulmuşlardır. Nunes ve ark. (1999) kendi melezleme çalışmalarından elde edilen fasulye bitkilerinin Minas Gerais bölgesi kış şartlarında performansını araştırmış ve ümit vaat eden 103 bitki seçmişlerdir. Holubowicz ve ark. (2004) Polonyada laboratuvar şartlarında erken dönemde düşük sıcaklıklara toleranslı fasulye genotiplerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 106 nolu hattın -2,5 °C ye dayanabildiğini bildirmiştir. Otubo ve ark. (1996) Holubowicz ve ark. (1986) Bazı fasulyelerin -6 °C de 2 saat dayandığını bildirmiştir. Fasulyede çimlenme aşamasında düşük sıcaklığa toleranslılığa sahip çeşitlerin geliştirilebileceğini bildirmiştir. Tarla şartlarında kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotipleri ile Erzurum şartlarında yürütülen bir çalışmayla çimlenme ve fide döneminde soğuğa ve dona toleranslı genotipler belirlenmiştir (Elkoca ve Kantar, 2004). Bu çalışmalar sonucu serin şartlarda çimlenme yeteneğine sahip ve fide döneminde -3 °C ye kadar dona toleranslı çeşidi Kantar-05 ve horoz tipi fasulye çeşidi Elkoca-05 tescil ettirilmiştir (Elkoca ve Kantar, 2005). Geçmiş çalışmalara göre çok sayıda soğuğa ve dona dayanıklı genotipler tespit edilmiştir.

Laboratuvar şartlarında fide dönemi soğuk ve don stresine dayanıklı genotiplerin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda kondüktivite, renk, ve klorofil ölçümlerinin görsel değerlendirmeler (zararlanma indeksi) kadar güvenilir olmadığı ancak 0 °C ve -3 °C denemelerinden alınan ölçümlerde önemli değişimler olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre zararlanmanın arttığı derecelerde bu ölçümlerin kullanılabileceği ancak zararlanmanın az olduğu durumlarda yanıltılabileceği gözlemlenmiştir. Hücre membran stabilitesinin indirek ölçümü olarak elektriksel iletkenlik testi kullanılarak soğuğa (Dajun ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2011) ve dona (Balasubramanian ve ark., 2004) toleranslı fasulye genotipleri geliştirilmiştir. Hücre öz suyu zarar gören membranlardan dışarıya sızarak soğuk ve don zararı oluşmaktadır ancak hücre membranlarının soğğun şiddetine göre zarar

seviyesi değişmektedir bu çalışmada da görüldüğü gibi 5 °C’de kontrole göre önemli elektriksel iletkenlik testinde önemli değişim olmamıştır. 0 °C ve -3 °C de yapılan denemede ise elektriksel iletkenlik testi sonuçlarının düştüğü gözlemlense de görsel değerlendirmelerle birebir uyum sağlamamıştır. Kamps ve arkadaşları (1987) yaprak rengi ölçümlerini soğuk zararı seviyesi ilişkilendirmiştir. Bu çalışmada 5 °C de renk verilerinin değişmediği ancak 0 °C ve -3 °C de L ve b değerinin arttığı yeşil rengi veren a değerinin azaldığı gözlemlenmiştir ancak alınan ölçümlerin zarar seviyesi ile örtüşmemiştir. Kamps ve arkadaşları (1987) yine klorofil ölçümleri ile soğuk zararının seviyesi ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada ise soğuk stresi 5 °C denemesinde SPAD değeri artarken 0 °C ve -3 °C de azaldığı gözlemlenmiştir ancak bu denemelerin zararlanma indeksi 1 olan grupta bu değer arttığı gözlemlenmiştir. SPAD değeri ile zarar seviyesi kısmen ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan materyalin geçmiş çalışmalara göre soğuk stresi ve don stresi açısından zengin olduğu ve soğuğa ve dona toleranslı çeşit adaylarının olabileceği görülmüştür.

5.2 Moleküler Karakterizasyon

Fasulye genotipleri arasındaki filogenetik ilişkilerin belirlenmesi amacıyla 19 SRAP primeri kullanılarak yapılan PCR çalışmaları sonu elde edilen ürünlerin analizi sonucu 211 bant elde edildi 109 tanesi %51 oranında polimorfik olduğu belirlendi. Bu sonuç bize çalışma materyalin genetik çeşitlilik bakımından zengin olduğu gösterir. Bu genetik çeşitliliğin fenotipik olarak soğuğa toleranslı genotiplerden oluştuğunu göz önünde bulundurursak daha da önem arz etmektedir. Fasulyede SRAP, POGP ve cpSSR markörleriyle genetik çeşitliliğin araştırıldığı bir çalışmada (Ceylan ve ark. 2014) elde edilen ürünlerin analizi sonucu 194 bant skor edilmiş 118 tanesi (%60,8) polimorfik özellik göstermiştir.

Fasulyede genetik çeşitliliğin ISSR markörleriyle araştırıldığı bir çalışmada (Ulutaş. 2016) elde edilen ürünlerin analizi sonucu 21 ISSR primeri ile 119 bant skor edilmiş 104 tane bant (%83,3) polimorfik özellik göstermiştir.

Yine başka bir çalışmada ISSR markörleriyle fasulyede genetik çeşitliliğin araştırıldığı bir çalışmada (Işık. 2011) elde edilen ürünlerin analizi sonucu 27 ISSR primeri ile 169 toplam bant elde edilmiş 129 tanesi (%63,1) polimorfik özellik göstermiştir.

Erdoğan (2012), Van’da yapmış olduğu çalışmada Türkiye genelinden toplanan 96 tane fasulye genotipinde 38 ISSR ve 12 RAPD primeri kullanarak, ISSR primerlerinde 370 banttan 358’inin, RAPD yönteminde ise toplam 118 banttan 116’sının polimorfik bant verdiğini belirtmiştir.

ISSR ile yapılan çalışmalara göre SRAP primeri ile toplam bant sayısı ve polimorfik bant sayısı daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Diana ve arkadaşları (2006) Bulgaristan’dan toplanan fasulye genotiplerinin karakterizasyonunda AFLP ve ISSR primerleri kullanmış ve AFLP ile toplam 164 bant ve 54 polimorfik bant elde etmiş polimorfizm %32,9 olduğunu ve ISSR ile toplam 150 bant ve 55 polimorfik bant elde etmiş polimorfizm %36,7 olduğunu belirtmiştir.

Diana ve arkadaşlarının (2006) çalışmalarına göre, ISSR primeri SRAP ile yaptığımız çalışmaya göre primer başına daha az toplam bant ve polimorfik bant vermiştir, AFLP primeri ise SRAP primerine göre primer başına daha fazla toplam bant ve polimorfik bant vermiştir.

Ulukapı ve arkadaşları (2012) yerel taze fasulye genotiplerinde yaptıkları araştırmada SSR primer çiftlerinin yaklaşık %73'ü polimorfik bantlar vermiş ve primer çiftlerinin polimorfizm bilgi içeriği (PBI) 0.047-0.373 arasında değişim göstermiştir. Yine aynı çalışmada SCAR primer çiftlerinin tamamı araştırma yapılan bitkiler için polimorfik bulunurken PBI değerleri 0.071-0.379 arasında gerçekleşmiştir. Genotipler arasındaki genetik benzerlik indeksi ise 0.52-0,98 arasında değişmiştir.

Meksika'nın yüksek platolarından toplanan fasulye genotiplerinin morfolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmasında AFLP markörleriyle yapılan bir araştırmada PBI 0,25 olarak hesaplandığı bildirilmiş (Langarica ve ark. 2014). Fasulyede AFLP ve SSR markörleriyle genetik çeşitliliğin araştırıldığı bir çalışmada SSR için PBI en büyük 0,70 ve ortalama 0,47, AFLP için en büyük PBI 0,37 ve ortalama 0,29 olarak hesaplanmış (Perseguini ve ark. 2011). SRAP primeri ile yaptığımız çalışmada ise en büyük 0,43 ve ortalama PBI ise 0,31 olarak belirlendi.

Bezelyede (*Pisum sativum* L.) haritalama çalışmasında 25 SRAP primer kombinasyonu ile 249 toplam bant ve 208 polimorfik bant elde edilmiştir (Guindon ve ark. 2016). Maş fasulyesinde (*Vigna radiata* L.) genetik çeşitliliğin belirlenmesine yönelik bir çalışmada 29 SRAP primer kombinasyonu ile 121 bant elde edilmiş ve tamamının polimorfik olduğu belirtilmiştir (Aneja ve ark. 2013) 93 nohut genotipinde yapılan çalışmada 9 SRAP primer kombinasyonu ile 44 bant elde edilmiş ve bunların %27,2'si 12 tanesinin polimorfik olduğu belirtilmiştir (Çeker 2008). Bu çalışmada ise 211 bant skor edildi 109 tanesi %51 oranında polimorfik olduğu belirlenmiştir.

Karakterizasyon çalışmalarında fenotipik verilerin ya da moleküler verilerin tek başına kullanılması yetersiz kalabilmektedir. Bu nedenle bu verileri daha yararlı hale getirmenin bir yolunun da fenotipik ve moleküler verilerin bir arada kullanılması olduğu belirtilmektedir (Chiorato ve ark., 2006).

Moleküler çalışmalarda SRAP yöntemi kullanılarak yüksek sayıda polimorfik bant elde edilmiş ve bu sayının fasulyenin moleküler karakterizasyonunun yapılmasında yeterli olduğu görülmüştür. Daha önce yapılan birçok çalışmada da bu yöntemin genetik çeşitliliğin belirlenmesinde yeterli olduğuna dair sonuçların olduğu bu olguyu doğrulamaktadır (Ceylan ve ark., 2014; Çeker 2008; Aneja ve ark. 2013; Guindon ve ark. 2016).

Ülkemiz fasulyenin anavatanı olmasa da bölgede zengin bir genetik varyasyonun olduğu göz önündedir. Nitekim çalışmamızda kullanılan genotiplerden elde edilen sonuçlarda bu zenginliği gösteren bir kanıt niteliği taşımaktadır.

Ülkemizde fasulyede yapılan çok sayıda morfolojik karakterizasyon çalışması olsada moleküler karakterizasyon konusunda yapılan araştırmalar sınırlı sayıdadır. Bu bağlamda fenotipik karakterizasyonu yapılmış ve daha önceden çalışılmamış genotiplerin moleküler belirteçler kullanılarak genetik akrabalık derecelerinin belirlenmesinin daha etkili olacağı düşünülmektedir. Bu şekilde gelecek ıslah çalışmaları açısından önemli bir zaman ve işgücü kazancı sağlanacaktır.

Tüm bu veriler ışığında söz konusu genotiplerin ıslah çalışmalarında önemli bir materyal olacağı ve gen kaynaklarının yönetiminde kolaylık sağlayacağı düşünülmektedir. Bu genetik materyalin ileride gerek soğuk ve don stresi çalışmalarına gerek daha farklı çalışmalarda fayda sağlayacağı düşünülmektedir.



VI. KAYNAKÇA

- AKBULUT, B., 2011. "Burdur ilinde yetiştirilen fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin morfolojik ve moleküler Karakterizasyonu.", (Yüksek Lisans Tezi), Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.
- ÇEKER A. 2008. Türkiye'nin Bazı Bölgelerinden Toplanmış Nohut Genotiplerinin Moleküler Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana
- ALLARD, F., HOUDE, M., KROL, M., IVANOV, A., HUNER N.P.A., and SARHAN, F., 1998. "Betaine improves freezing tolerance in wheat." *Plant Cell Physiol.*, 39, 1194-1202.
- ANGOSTO, T., MATİLLA, A.J., 1994. "Modifications in seeds of *Festuca indigesta* from two different altitudinal habitats." *Seed Sci. Technol.*, 22, 319-328.
- ANONİM, 2012. Antalya ili Tarım Strateji Planı 2012-2016, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Antalya İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü.
- ASHWORTH, E.N., DAVIS, G.A ANDERSON I.A., 1985. Factors affecting ice nucleation in plant tissues. *Plant Physiol.* 79, 1033-1037.
- AULD, D.L., BETTİS, B.L., CROCK, J.E. ve KEPHART, K.D., 1998. Planting date and temperature effects on germination, emergence and seed yield of chickpea, *Agron. J.* 80, 909-914.
- AUSTİN, R.B. and MACLEAN, M.S., 1972. Some effects of temperature on the rates of photosynthesis and respiration of *Phaseolus vulgaris* L. *Photosynthetica* 6, 41-50.
- BALASUBRAMANIAN, P., VANDENBERG, A., HUCL, P., GUSTA, L., 2004. Resistance of *Phaseolus* species to ice crystallization at subzero temperature, *Physiologia Plantarum*, 120, 451-457.
- BALASUBRAMANIAN, P.M., 2002. Selection for chilling and freezing resistance in common bean, (PhD Thesis). The Department of Plant Sciences University of Saskatchewan Saskatoon.
- BHARTI ANEJA, NEELAM R. YADAV, RAM C. YADAV, RAM KUMAR 2013. Sequence related amplified polymorphism (SRAP) analysis for genetic diversity and micronutrient content among gene pools in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] *Physiol Mol Biol Plants* (July-September 2013) 19(3):399-407
- BOURİON, V., LEJEUNE-HE' NAUT, I., MUNIER-JOLAIN, N., SALON, C., 2003. "Cold acclimation of winter and spring peas: Carbon partitioning as affected by light intensity." *Eur. J. Agron.*, 19, 535-548.
- BUHROW, R., 1981. "Stress tolerance of Southwestern *Phaseolina*." *Annu. Rep. Bean Improv. Coop.* 24, 94-95.

- BUHROW, R., 1980. "Frost tolerance of the Phaseolinae of the Southwestern Unites States." Annu. Rep. Bean Improv. Coop., 23, 62-64.
- BUHROW, R., 1983. "The wild beans of southwestern North America.", Desert Plants 5, 67-71, 82-88.
- BURKE, M.J., GUSTA, L.V., QUAMME, H.A., WEISER, C.J. and LI, P.H., 1976. "Freezing and injury in plants." Ann. Rev., Plant Physiol. 27, 507-528.
- CECARALLI, S., VALKOUN, I., ERSKINE, W., WEIGAND, S., MILLER, R. AND VAN LEUR, J. A. G., 1992. Plant Genetic Resources and Plant Improvement and Tools to Develop Sustanaible Agriculture. Exp. Agric; 28:89-98.
- CEYLAN, A., ÖCAL, N., AKBULUT, M. 2014. Genetic diversity among the Turkish common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) as assessed by SRAP, POGP and cpSSR markers. Erciyes University, Faculty of Sciences, Department of Biology, 38039 Kayseri, Turkey Elsevier B.V.
- CHIORATO, A. F., CARBONELL, S. A. M., DIAS, L. A. S., MOURA, R. R., CHIAVEGATO, M. B. AND COLOMBO, A., 2006, Identification of common bean (*Phaseolus vulgaris*).duplicates using agomorphological and molecular data, Genetic and Molecular Biology, 29 (1): 105-111
- DAJUN, L., GUOJUN, F., YONGLIANG, Y., 2009. "Identification on chilling resistance of snap bean seedling, China vegetables." 6, 55-58.
- DİANA SVETLEVA, GRACA PEREİRA, JORGE CARLIER, LUİS CABRİTA, JOSE LEİTAO, DİMİTAR GENCHEV 2006. Molecular characterization of *Phaseolus vulgaris* L. genotypes included in Bulgarian collection by ISSR and AFLP™ analyses. Scientia Horticulturae 109 (2006) 198–206
- Dickson, M.H. and Boettger, M.A., 1984. "Emergence, growth, and blossoming of bean (*Phaseolus vulgaris*) at suboptimal temperatures.", J. Amer. Soc. Hort. Sci., 109, 257-260.
- DOSSANTOS, J.B., RAMALHO, M.A.P., 1990. "Selection of common bean progenies for fall and winter planting in South Minas-Gerais, Brazil." Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 25 (11), 1655-1661.
- ELKOCA, E., KANTAR, F., 2004. "Erzurum ekolojik koşullarına uygun erkenci ve yüksek verimli kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin belirlenmesi", Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fak. Dergisi, 35 (3-4), 137-142.
- ELKOCA, E., KANTAR, F., 2005. Erkenci ve yüksek verimli iki yeni fasulye çeşidi: Kantar-05 ve Elkoca-05, Türkiye 2. Tohumculuk Kongresi, 9-11 Kasım 2005, Adana, s. 226-229.
- ERDİNÇ E., 2012, Türkiye'deki bazı fasulye genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin ve antraknoz hastalığına (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Lambs. Scrib.) dayanıklılığın fenotipik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi, Doktora tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van

- ERSKİNE, W., TUFAİL, M., RUSSELL, A., TYAGİ, M.C., RAHMAN, M.M., AND SAXENA, M.C., 1994. "Current and future strategies in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stresses." *Euphytica* 73, 127-135.
- ESTRADA, R.N., 1982. "Breeding wild and primitive potato species to obtain frost-resistant cultivating varieties", In P.H. Li and A. Sakai (ed.), *Plant cold hardiness and freezing stress: Mechanisms and crop implications*, Vol. 2, Academic Press, London, UK. 615-633.
- FOWLER, D.B., 1979. "Selection for winter hardiness in wheat. II. Variation within field trails", *Crop Sci.*, 19, 773-776.
- FUJIKAWA, S., JİTSUYAMA, Y. AND KURODA, K., 1999. "Determination of the role of cold acclimation-induced diverse changes in plant cells from the viewpoint of avoidance of freezing injury," *J. Plant Res.*, 112, 237-244.
- FULLER, M.P., EAGLES, C.F., 1978. "A seedling test for cold hardiness in *Lolium perenne*" L., *J. Agric. Sci. (Cambridge)*, 91, 217-222.
- GAO, C., HU, J., ZHANG, S., ZHENG, Y., KNAPP, A., 2009. "Association of polyamines in governing the chilling sensitivity of maize genotypes." *Plant Growth Regul* 57, 31–38.
- GRIFFUITH, M., BOESE, S.R., HUNER, N.P.A., 1994. "Chilling sensitivity of the frost-tolerant potato *Solanum commersonii*." *Physiol. Plant*, 90, 319-326.
- GUSTA, L.V., FOWLER, D.B., 1977. "Factors affecting the cold survival of winter cereals.", *Can. J. Plant Sci.*, 57, Pp:213-219.
- GUYE, M.G., VİGH, L. AND WİLSON, J.M., 1987. "Recovery after chilling: An assessment of chill-tolerance in *Phaseolus* spp.." *J. Exp. Bot.*, 38, 691-701.
- HAMZA ULUTAŞ 2016. Bazı Ümitvar Taze Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşit Adaylarının ISSR Yöntemi İle Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya
- HIRT, H., SHINOZAKI, K., 2004. *Plant abiotic stress, Topics in current genetics* (Ed. Stefan Hohmann) ISBN 3-540-20037-1, Springer.
- Holubowicz, R. & Dickson, M.H. Cold tolerance in beans (*Phaseolus* spp.) as analyzed by their exotherms. *Euphytica* (1989) 41: 31.
- HOLUBOWİCZ, R., BRALEWSKİ, T.W., DYKAS, P., 2004. "Selection of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) for tolerance to low temperatures in the laboratorial conditions." *Buletinul Universitatii De Stiinte Agricole Si Medicina Veterinaria Cluj-Napoca Seria Horticultura Series*, 61, 26-33.
- HOMAR RENE GILL LANGARICA, RIGOBERTO ROSALES SERNA, SANJUANA HERNANDEZ DELGADO ve NETZAHUALCOYOTL MAYEK PEREZ 2014 Morphological and molecular characterization of common bean landraces cultivated in the semi-arid Mexican high plateau. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 49 (4): 525-540.

- JEFFREE, C.E., 1996. "Structure and ontogeny of plant cuticle, In: G. Kerstiens (ed.) Plant cuticles: an integrated functional approach." Bios Scientific Publishers, Oxford, UK. Pp. 33-82
- JONES, H.G., 1992. Plants and Microclimate: A quantitative approach to environmental plant physiology, 2nd ed. Canlbridge University Press, Cambridge, UK.
- PERSEGUINI, J. M. K. C., CHIORATTO, A. F., ZUCCHI, M. I., COLOMBO, C. A., CARBONELL, S. A.M., MONDEGO, J. M. C., GAZAFFI, R., GARCIA A. A. F., RUBIANO, L. B., CAMPOS, T., DE SOUZA, A. P. 2011. Genetic diversity in cultivated carioca common beans based on molecular marker analysis. Genetics and Molecular Biology, 34, 1, 88-102
- KAMPS, T.L., ISLEIB, T.G., HERNER, R.C., SINK, K.C., 1987. Evaluation of techniques to measure chilling injury in tomato, HortSci. 22, 1309-1312.
- KEMP, G.A., 1973. "Initiation and development of flowers in beans under suboptimal temperature conditions.", Can. J. Plant Sci., 53, 623-627.
- KEMP, G.A., 1978. "Growth of primary leaves in beans (*Phaseolus vulgaris* L.) under suboptimal temperatures." Can. J. Plant Sci., 58, 169-174.
- KINTAKE, S. 1998. "Various aspects of inhibition of photosynthesis under light/chilling stress: "Photoinhibition at chilling temperatures" versus "chilling damage in the light".", J. Plant Res., 111, 121-129.
- LEJEUNE-HENAUT, I., MORIN, J., FONTAINE, V., ETE'VE', G., DEVAUS, R., THOMAS, M., BOILLEAU, M., STAMPNIAK, J.J., PETIT, A., RAMEAU, C., BARANGER, A. 2004. "Towards genes to breed for freezing resistance in pea, In: AEP (Ed.), AEP Conference 2004", Dijon. AEP, Paris, France., Pp: 127.
- LEVITT, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses, Vol. 1, Academic Press New York, USA.
- LI, G., QUIROS, C.F., 2001. Sequence-Related Amplified Polymorphism (SRAP), A New Marker System Based on a Simple PCR: Its Application to Mapping and Gene Tagging in Brassica. Theor. Appl. Genet., 103: 455-461.
- LIMIN, A.E., FOWLER, D.B., 1988. « Cold hardiness expression in interspecific hybrids and amphiploids of the Triticaceae." Genome 30, 361-365.
- LOMBARD, V., DUBREUIL, P., DILLMANN, C., BARIL, C. 2001. Genetic distance estimators based on molecular data for plant registration and protection: a review. Acta Hort., 546: 55-63
- LOPEZ, J.C., BAILLE, A., BONACHELA, S., PE'REZ-PARRA, J., 2008. "Analysis and prediction of greenhouse green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) production in a mediterranean climate.", Biosystems Engineering, 100, 86 – 95.
- LUTAKTIN, A.S., BRAZAITYTĖ, A., BOBINAS, C., DUCHOVSKIS, P., 2012. "Chilling injury in chilling-sensitive plants: A review." Agriculture, 99(2), 111-124.

- LUTAKTİN, A.S., BRAZAITYTĖ, A., BOBINAS, C., DUCHOVSKIS, P., 2012. "Chilling injury in chilling-sensitive plants: A review." *Agriculture*, 99(2), 111-124.
- MAHAJAN, S. VE TUTEJA, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Arch. Biochem. Biophys.* 444, 139-158.
- MAQBOOL, A., SHAFIQ, S., LAKE, L., 2010. "Radiant frost tolerance in pulse crops a review." *Euphytica* 172, 1-12.
- MARCELLOS, H. AND SINGLE, W.V., 1979. "Supercooling and heterogeneous nucleation of freezing in tissues of tender plants, *Cryobiol.* 16, 74-77.
- MARÍA FERNANDA GUÍNDON, EUGENIA MARTÍN, ALDANA ZAYAS, ENRIQUE COINTRY, VANINA CRAVERO 2016. Evaluation of SRAP markers for mapping of *Pisum sativum* L.. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 16: 182-188,
- MAYER, A.M. AND POLJAKOFF-MAYBER, A., 1989. The germination of seeds, 4th ed. Pergamon Press, Oxford, UK.
- MELO, L.C., DOS SANTOS, J.B., RAMALHO, M.A.P., 1997. "Choice of parents to obtain common bean (*Phaseolus vulgaris*) cultivars tolerant to low temperatures at the adult stage.", *Brazilian Journal Of Genetics*, 20 (2), 283-292.
- NUNES, G.H.D., DOS SANTOS, J.B., RAMALHO, M.A.P., ABREU, A.D.B., 1999. "Selection of common bean families adapted to the winter conditions of the South of Minas Gerais State", *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 34 (11), 2051-2058.
- OTUBO, S.T., RAMALHO, M.A.P., ABREU, A.D.B., 1999. "Genetic control of low temperature tolerance in germination of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L)", *Euphytica*, 89 (3), 313-317.
- ÖZDEMİR, S., 2002. Yemeklik tane baklagiller, Hasad Yayıncılık, İstanbul. 142 s.
- TURAN, Ö., EKMEKÇİ, Y., 2008, Soğuk Stresinin Bitkiler Üzerine Etkileri Ve Tolerans Mekanizmaları *Anadolu University Journal Of Science And Technology Cilt/Vol.:9-Sayı/No: 2: 177-198*
- PACHICO, D., 1989. Trends in world common bean production, Editörler: Schwartz H.F. and Pastor-Corrales M.A. *Bean Production Problems in the Tropics*, CIAT, Cali, Colombia, pp.1-8.
- PATTERSON, B.D., PAULL, R., SMILLIE, R.M., 1978. "Chilling resistance in *Lycopersicon hirsutum* Humb. & Bonpl., a wild tomato with a wide altitudinal distribution." *Aust. J.Plant Physiol.*, 5, 609-617.
- PEARCE, R.S. 1999. Molecular analysis of acclimation to cold. *Plant Growth Regul.* 29, 47-76.
- PEARCE, R.S., 2001. Molecular analysis of acclimation to cold. *Plant Growth Regul.*, 29, 477-6.

- PHILLEY, H.W., WATSON, C.E., JR, J.V., KRANS, L.M., GOATLEY, JR. AND MATTA, F.B., 1995. Differential thermal analysis of St. Augustinegrass, HortSci., 30, 1388-1389.
- IŞIK R., 2012. Bazı Taze Fasulye (*Phaseolus Vulgaris l.*) Genotiplerinin Morfolojik Ve Moleküler Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya
- ROLDAN, R. I., J. DENDAUW, E. VAN BOCKSTAELE, A. DEPICKER & M. DE LOOSE. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium spp.*). Mol. Breeding 6: 125134.
- ŞALK, A., ARIN, L., DEVECİ, M., POLAT, S., 2008, Özel sebzecilik, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tekirdağ
- ŞENSOY, S. 2005. Türkiye kavunlarındaki genetik varyasyonun ve fusarium solgunluğuna dayanıklılığın fenotipik ve moleküler yöntemlerle araştırılması. Doktora Tezi, YYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- SEPETOĞLU, H., ALTINTAŞ, M., 1994. Mercimekte dane verimi ve kimi agronomik özelliklerde stabilite parametrelerinin belirlenmesi üzerinde bir çalışma. Tarla Bitkileri Kongresi 25-29 Nisan 1994. Bitki Islahı Bildirileri Cilt 2. s: 116120.
- SİNGH, K.B., MALHOTRA, R.S., SAXENA, M.C., 1989. "Chickpea evaluation for cold tolerance under field conditions." Crop Sci., 29, 282-285.
- SÖZEN, Ö., 2012. "Kelkit vadisi'nden toplanan yerel fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) populasyonlarından teksel seleksiyon metodu ile şeker tane tipinde çeşit geliştirilmesi Üzerine bir araştırma" (Doktora Tezi), O.M.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, Pp:105
- SQUEO, F.A., RADA, F., GARCÍA, C., PONCE, M., ROJAS, A., AZOCAR, 1996. "A Cold resistance mechanisms in high desert Andean plants." Oecologia, 105, 552-555.
- SUKURNARAN, N.P., WEISER, C.J., 1972. An excised leaflet test for evaluating potato frost tolerance, HortSci., 75, 467-468.
- SWENSEN, J.B., MURRAY, G.A., 1983. "Cold acclimation of field peas in a controlled environment" Crop Sci., 23, 27-30.
- TAYLOR, A.O., JA ROWLEY, J.A., 1971. "Plants under climatic stress I. Low temperature, high light effects on photosynthesis." Plant Physiology 47 (5), 713-718.
- TEUTONICO, R.A., PALTA, J.P., OSBORN, T.C., 1993. "In vitro freezing tolerance in relation to winter survival of rapeseed cultivars." Crop Sci., 33, 103-107.
- THAKURA, P., KUMARA, S., MALIKA J., BERGERB, J.D., NAYYARA, H., 2010. "Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview, Environmental and Experimental Botany, 67, 429-443.

- THAKURA, P., KUMARA, S., MALİKA J., BERGERB, J.D., NAYYARA, H., 2010. "Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview, Environmental and Experimental Botany, 67, 429–443.
- ULUKAPI, K., ONUS, A.N., 2012. "Selekte edilmiş bazı yerel taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin moleküler karakterizasyonu." Journal of Agricultural Sciences, 18, 277-286.
- WISNIEWSKI, M., FULLER, M., 1999. Ice nucleation and deep supercooling in plants: New insights using infrared thermography. p. 105-118, Editörler: R. Margesin, F. Schinner. Cold-adapted organisms: Ecology, physiology, enzymology and molecular biology, Springer-Verlag, Berlin.
- WOLFE, D.W., 1991. "Low temperature effects on early vegetative growth, leaf gas exchange and water potential of chilling sensitive and chilling tolerant crop species.", Ann. Bot., 67, 205-212.
- YOSHIDA, S., HOTSUBO, K., KAWAMURA, Y., MURAI, M., ARAKAWA, K., TAKEZAWA, D., 1999. "Alterations of intracellular pH in response to low temperature stresses.", J. Plant Res., 112, 225-236.
- ZAİTER, H., BAYDOUM, E., SAYYED-HALLAK, M., 1994. "Genotypic variation in the germination of common bean in response to cold temperature stress.", Plant and Soil 163, 95-101.
- ZHANG, Y.M., WANG, C.C., HU, H.H., YANG, L., 2011. "Cloning and expression of three fatty acid desaturase genes from cold-sensitive lima bean (*Phaseolus lunatus* L.)", Biotechnol Lett., 33, 395-401.

VII. EKLER

Ek 1: Benzerlik indeksi değerleri

	ÇAYIRLI	ELKOCA	ERZİNCAN	HANOĞLU	GÖYNÜK	KANTAR	ÖNCELİ	IR-1	ML 6	BN 8	PI-4768	BT 16	HK 22	HK 26	PI-4770	EL 30	HK 37
ÇAYIRLI	1,00																
ELKOCA 05	0,96	1,00															
ERZİNCAN 2	0,83	0,83	1,00														
HANOĞLU	0,91	0,93	0,83	1,00													
GÖYNÜK	0,90	0,91	0,86	0,91	1,00												
KANTAR 05	0,60	0,63	0,66	0,61	0,60	1,00											
ÖNCELİ	0,94	0,93	0,86	0,93	0,92	0,61	1,00										
IR-1	0,65	0,65	0,73	0,67	0,66	0,93	0,66	1,00									
ML 6	0,89	0,91	0,85	0,96	0,92	0,62	0,92	0,69	1,00								
BN 8	0,81	0,83	0,88	0,89	0,84	0,61	0,84	0,67	0,92	1,00							
PI-4768 60	0,69	0,71	0,75	0,65	0,69	0,84	0,69	0,87	0,69	0,67	1,00						
BT 16	0,64	0,66	0,71	0,62	0,63	0,81	0,65	0,84	0,64	0,65	0,91	1,00					
HK 22	0,86	0,90	0,84	0,93	0,87	0,63	0,89	0,66	0,92	0,90	0,66	0,61	1,00				
HK 26	0,70	0,70	0,78	0,73	0,73	0,84	0,72	0,89	0,73	0,72	0,83	0,82	0,72	1,00			
PI-4770 39	0,55	0,53	0,63	0,56	0,52	0,55	0,57	0,54	0,59	0,58	0,56	0,55	0,55	0,58	1,00		
EL 30	0,93	0,91	0,82	0,91	0,88	0,62	0,92	0,67	0,87	0,80	0,70	0,66	0,84	0,73	0,59	1,00	
HK 37	0,70	0,71	0,79	0,72	0,73	0,81	0,72	0,87	0,73	0,72	0,85	0,83	0,69	0,94	0,58	0,73	1,00
HK 44	0,91	0,94	0,88	0,96	0,94	0,65	0,94	0,70	0,98	0,92	0,70	0,66	0,91	0,74	0,57	0,89	0,74
ML 49	0,71	0,74	0,71	0,70	0,72	0,86	0,74	0,87	0,73	0,70	0,87	0,86	0,72	0,84	0,51	0,74	0,80
HK 51	0,84	0,85	0,87	0,88	0,86	0,55	0,88	0,62	0,92	0,91	0,62	0,58	0,91	0,68	0,57	0,84	0,69
BT 52	0,86	0,90	0,84	0,91	0,89	0,67	0,89	0,68	0,94	0,86	0,69	0,67	0,89	0,75	0,59	0,86	0,74
MŞ 52	0,87	0,87	0,86	0,90	0,90	0,69	0,90	0,71	0,92	0,85	0,72	0,66	0,88	0,79	0,56	0,87	0,76
HK 54	0,70	0,71	0,72	0,71	0,67	0,84	0,71	0,87	0,73	0,71	0,83	0,84	0,69	0,90	0,57	0,73	0,86
BN 56	0,66	0,67	0,77	0,67	0,65	0,81	0,67	0,85	0,67	0,72	0,81	0,85	0,68	0,94	0,54	0,70	0,88
HK 57	0,76	0,80	0,76	0,86	0,79	0,70	0,77	0,73	0,83	0,80	0,72	0,69	0,80	0,78	0,60	0,80	0,78
58	0,87	0,89	0,83	0,94	0,90	0,60	0,90	0,67	0,94	0,88	0,67	0,62	0,88	0,73	0,55	0,89	0,73
HK 59	0,56	0,52	0,54	0,55	0,53	0,45	0,54	0,47	0,55	0,54	0,45	0,45	0,56	0,50	0,57	0,55	0,48
HK 60	0,47	0,46	0,55	0,49	0,47	0,39	0,45	0,43	0,49	0,51	0,42	0,38	0,49	0,41	0,54	0,44	0,39
61	0,64	0,66	0,72	0,62	0,65	0,84	0,65	0,86	0,64	0,67	0,87	0,89	0,61	0,84	0,52	0,68	0,81
62	0,63	0,66	0,73	0,67	0,68	0,80	0,67	0,78	0,67	0,68	0,82	0,84	0,63	0,79	0,59	0,66	0,78
65	0,90	0,92	0,84	0,95	0,91	0,61	0,93	0,66	0,95	0,89	0,66	0,61	0,91	0,72	0,56	0,90	0,72
TR 64907	0,60	0,63	0,70	0,59	0,62	0,78	0,63	0,81	0,61	0,66	0,89	0,88	0,63	0,82	0,53	0,63	0,82
BT 67	0,86	0,90	0,82	0,93	0,89	0,62	0,89	0,64	0,95	0,89	0,67	0,63	0,89	0,71	0,56	0,86	0,71
68	0,88	0,90	0,85	0,93	0,91	0,59	0,91	0,66	0,95	0,89	0,66	0,62	0,89	0,72	0,55	0,88	0,72
BT 69	0,83	0,84	0,87	0,93	0,84	0,59	0,84	0,64	0,86	0,83	0,64	0,60	0,84	0,70	0,56	0,83	0,71
75	0,57	0,55	0,51	0,57	0,53	0,42	0,52	0,46	0,54	0,52	0,43	0,39	0,54	0,47	0,53	0,55	0,47
BT 75	0,89	0,90	0,84	0,96	0,91	0,62	0,92	0,68	0,97	0,90	0,68	0,63	0,92	0,74	0,57	0,91	0,75
80	0,88	0,89	0,85	0,93	0,89	0,63	0,91	0,69	0,94	0,88	0,68	0,64	0,89	0,76	0,58	0,88	0,76
102	0,87	0,89	0,88	0,92	0,90	0,63	0,90	0,70	0,94	0,92	0,69	0,64	0,92	0,75	0,58	0,87	0,76
BT 106	0,88	0,88	0,90	0,87	0,89	0,66	0,93	0,73	0,90	0,87	0,76	0,71	0,87	0,76	0,60	0,89	0,77
110	0,66	0,68	0,75	0,66	0,69	0,78	0,65	0,84	0,67	0,71	0,88	0,89	0,66	0,87	0,56	0,69	0,87
115	0,86	0,86	0,85	0,88	0,84	0,72	0,87	0,78	0,90	0,89	0,71	0,71	0,88	0,82	0,58	0,83	0,80
123	0,71	0,73	0,73	0,76	0,76	0,78	0,72	0,82	0,76	0,77	0,81	0,78	0,73	0,90	0,56	0,75	0,93
BT 124	0,90	0,89	0,87	0,95	0,89	0,63	0,93	0,67	0,96	0,90	0,68	0,63	0,93	0,74	0,61	0,88	0,73
127	0,84	0,84	0,85	0,89	0,85	0,70	0,89	0,77	0,94	0,88	0,73	0,71	0,89	0,78	0,60	0,85	0,78
201	0,62	0,65	0,70	0,61	0,64	0,80	0,65	0,83	0,64	0,65	0,91	0,89	0,65	0,80	0,51	0,66	0,81
238	0,64	0,66	0,76	0,67	0,66	0,74	0,63	0,79	0,68	0,73	0,75	0,79	0,69	0,90	0,56	0,66	0,85
247	0,57	0,56	0,55	0,55	0,54	0,47	0,52	0,49	0,58	0,56	0,51	0,48	0,55	0,50	0,59	0,55	0,52
303	0,58	0,54	0,52	0,56	0,53	0,47	0,54	0,50	0,55	0,55	0,47	0,43	0,54	0,52	0,55	0,56	0,51
323	0,84	0,86	0,85	0,87	0,86	0,54	0,87	0,61	0,91	0,88	0,65	0,62	0,88	0,66	0,55	0,81	0,67
329	0,57	0,53	0,54	0,55	0,52	0,50	0,54	0,54	0,55	0,55	0,52	0,49	0,52	0,49	0,58	0,55	0,51
338	0,68	0,72	0,72	0,67	0,70	0,79	0,67	0,83	0,68	0,68	0,90	0,88	0,67	0,83	0,54	0,72	0,84
390	0,84	0,86	0,86	0,89	0,88	0,61	0,87	0,65	0,92	0,89	0,64	0,61	0,89	0,71	0,55	0,84	0,73
395	0,89	0,92	0,84	0,95	0,91	0,65	0,92	0,69	0,96	0,90	0,67	0,61	0,91	0,70	0,53	0,89	0,69
TR 64995	0,85	0,87	0,90	0,89	0,92	0,63	0,91	0,69	0,94	0,86	0,70	0,63	0,89	0,75	0,58	0,84	0,74

HK 44 ML 49 HK 51 BT 52 MŞ 52 HK 54 BN 56 HK 57 58 HK 59 HK 60 61 62 65 TR 64/6 BT 67 68 BT 69 75

[illegible]

BT 75 80 102 BT 106 110 115 123 BT 124 127 201 238 247 303 323 329 338 390 395 TR 648

1,00
 0,95 1,00
 0,95 0,96 1,00
 0,91 0,93 0,95 1,00
 0,69 0,69 0,70 0,74 1,00
 0,89 0,90 0,93 0,90 0,74 1,00
 0,80 0,81 0,80 0,79 0,89 0,85 1,00
 0,95 0,93 0,94 0,92 0,68 0,91 0,79 1,00
 0,93 0,91 0,94 0,92 0,70 0,93 0,77 0,92 1,00
 0,65 0,64 0,67 0,75 0,88 0,72 0,82 0,65 0,73 1,00
 0,69 0,72 0,71 0,69 0,84 0,76 0,82 0,70 0,68 0,77 1,00
 0,55 0,57 0,60 0,55 0,51 0,56 0,57 0,56 0,53 0,47 0,56 1,00
 0,57 0,58 0,59 0,54 0,52 0,58 0,60 0,58 0,52 0,45 0,50 0,81 1,00
 0,89 0,88 0,91 0,89 0,64 0,84 0,72 0,91 0,86 0,64 0,73 0,62 0,49 1,00
 0,53 0,54 0,56 0,53 0,49 0,55 0,53 0,52 0,55 0,45 0,47 0,88 0,86 0,48 1,00
 0,71 0,71 0,72 0,76 0,93 0,77 0,88 0,69 0,72 0,90 0,81 0,53 0,51 0,66 0,48 1,00
 0,92 0,93 0,96 0,92 0,66 0,89 0,76 0,91 0,92 0,64 0,69 0,56 0,55 0,90 0,52 0,69 1,00
 0,94 0,93 0,93 0,89 0,65 0,89 0,76 0,93 0,88 0,63 0,66 0,58 0,55 0,88 0,55 0,68 0,90 1,00
 0,92 0,92 0,94 0,92 0,69 0,87 0,76 0,92 0,92 0,70 0,73 0,55 0,52 0,91 0,50 0,68 0,92 0,92 1,00

VII. ÖZGEÇMİŞ



Erzurum ili 1990 yılında doğan Bilgehan Turan CERTEL 1997 yılında eğitim hayatına Antalya’da başlamıştır. 2004 yılında Lise eğitimine başlamıştır. 2007 yılında orta öğretim öğrencileri arasın proje yarışmasında TÜBİTAK Türkiye Kimya dalında 2. Olmuştur ve TÜBİTAK tarafından Amerika’ya MİT Üniversitesine eğitime gönderilmiştir. 2008 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Programında lisans eğitimine başlamıştır. 2011 yılında ERASMUS programı kapsamında bir dönem eğitimini Çek Cumhuriyeti’nde görmüştür. 2012 yılında Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi İşletme bölümünde ikinci lisans eğitimine başlamış ve halen devam etmektedir. 2013 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünden mezun olmuştur. 2013 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır.