

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SELEKTE EDİLMİŞ BAZI FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) HAT VE
ÇEŞİTLERİNİN MORFOLOJİK ve MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

KAMİLE ULUKAPI

**DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

2009

**SELEKTE EDİLMİŞ BAZI FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) HAT VE
ÇEŞİTLERİNİN MORFOLOJİK ve MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU**

KAMİLE ULUKAPI

**DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez 2006.03.0121.011no'lu proje numarası ile Akdeniz Üniversitesi Bilimsel
Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir.**

Ağustos 2009

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SELEKTE EDİLMİŞ BAZI FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) HAT VE
ÇEŞİTLERİNİN MORFOLOJİK ve MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

KAMİLE ULUKAPI

DOKTORA TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 14.08.2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Jüri: Prof. Dr. A. Naci ONUS (Danışman)

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. Sezgin UZUN

Doç. Dr. Mehmet KARACA

Yrd. Doç. Dr. Ersin POLAT

ÖZET

SELEKTE EDİLMİŞ BAZI FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) HAT VE ÇEŞİTLERİNİN MORFOLOJİK VE MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Kamile ULUKAPI

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Ağustos 2009, 98 Sayfa

Bu çalışmada, Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Çarşamba ovasında bulunan Terme, Tekkeköy ve Çarşamba ilçeleri ile Ladik ilçesi ve Samsun merkezden toplanan toplam 36 adet bodur fasulye hattının morfolojik ve moleküler karakterizasyonu yapılmıştır. Fasulye hatları iki yıl Antalya koşullarında açık tarlada yetiştirilmiş ve morfolojik verileri Uluslararası Yeni Çeşitleri Koruma Birliği (UPOV) kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Fasulye hatlarının moleküler karakterizasyonu için Karakterize Edilmiş Çoğaltılan Alanlar (SCAR) ve Basit Tekrarlı Sekanslar (SSR) DNA moleküler analiz teknikleri kullanılmıştır.

Morfolojik gözlemler sonucu elde edilen verilerin Temel Bileşen Analizi yapılmıştır ve analiz sonucuna göre ilk üç bileşen toplam varyasyonun % 50'sini açıklamaktadır ki bu da hatlar arasındaki genetik çeşitliliğin yüksek olmadığını göstermektedir.

Kullanılan SSR primer çiftlerinin yaklaşık % 27'si monomorfik iken % 73'ü polimorfik sonuçlar vermiştir. SSR primer çiftlerinin polimorfizm bilgi içeriği (PBI) 0.047- 0.373 arasında değişim göstermiştir. SCAR primer çiftlerinin tamamı araştırma yapılan bitkiler için polimorfik bulunmuştur. SCAR primer çiftlerinin PBI değerleri 0.071- 0.379 arasında değişim göstermiştir. İstatistik analiz sonuçlarına göre fasulye hat

ve eşitleri arası genetik benzerlik indeksi 0.52–0.98 arasında değişim göstermiştir. Hat ve çeşitler, elde edilen dendogramda öncelikle 2 ana gruba ayrılmışlardır. İlk grupta antraknoza dayanıklılık ayırım setinin  yesi olan ve Orta Amerika gen havuzunda yer alan Cornell (36) ve Widusa (37) eşitleri yer almaktadır. Bu iki çeşit diğer gruptan ayrılmıştır. Antraknoz ayırım setinin bir çeşidi olan ve And Dağları gen havuzunda yer alan Kaboon (38) eşidi ile yine And Dağları gen havuzunda yer alan bir Amerikan eşidi olan Redland Pioneer (39) eşidi ise denemeye alınan tüm hat ve çeşitler ile birlikte aynı ana grup altında toplanmıştır. Bu durum, üzerinde çalışılan hatların And Dağları gen havuzu ile daha yakın bir genetik ilişkiye sahip olabileceğini göstermiştir. İkinci ana grup incelediğinde, bu grubun kendi arasındaki genetik benzerlik indeksinin 0.71–0.98 arasında değişim gösterdiği g r lmektedir. Morfolojik ve moleküler verilere dayanarak oluşturulan dendogramlar kıyaslandığında moleküler verilerle elde edilen bilgilerin morfolojiklere göre daha gerçeğe yakın olduğu görülmüştür.

ANAHTAR KEL MELER: Fasulye, morfolojik özellikler, moleküler işaretleyiciler, SSR, SCAR

J R : Prof. Dr. A. Naci ONUS (Danışman)

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. Sezgin UZUN

Doç. Dr. Mehmet KARACA

Yrd. Doç. Dr. Ersin POLAT

ABSTRACT

MORPHOLOGIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SOME SELECTED COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) LINES AND CULTIVARS

Kamile ULUKAPI

Ph. D. Thesis in Horticulture

Adviser: Prof. Dr. A. Naci ONUS

August 2009, 98 pages

This study was conducted to reveal the morphological and molecular characterization of some common bean cultivars and lines collected by Karadeniz Agricultural Research Institute in Terme, Ladik, Tekkeköy and  ar amba provinces. All lines were grown under Antalya ecological conditions and morphological characteristics of all 36 lines were evaluated in accordance with UPOV criteria while Sequence Characterized Amplified Region (SCAR) and Simple Sequence Repeat (SSR) markers were employed for molecular characterization.

Principles Component Analyze of the data obtained from morphological characterization were conducted. Analyze results revealed that first three components can be used to explain the 50 % of the variation among lines and cultivars and this result indicate that genetic variation among bean lines and cultivars is not high.

In terms of molecular characterization while 27 % of SSR primer pairs were monomorphic while 73 % of them were polymorphic. Polymorphism information content (PIC) of SSR primer pairs varied between 0.047 and 0.373. On the other hand all SCAR primers used in this present study were found to be polymorphic and PIC values of SCAR primers were between 0.071 and 0.379. According to statistical analyses results genetic similarity index among bean cultivars and lines showed variation between 0.52- 0.98. Results revealed that there were two main groups among

the bean lines and cultivars. In the first group was consisted of Cornell and Widusa cultivars, which belong to Mesoamerican gene pool and in disease resistance differential set. Kabon cultivar, belong to Andean gene pool member and in anthracnose differential set, and Redland Pioneer cultivar belong to Andean gene pool, took a place with other all cultivars and lines used in the present study. This result may indicate that all selected lines may have on close genetic relationship with Andean gene pool. Genetic similarity index of the second group varied between 0.71 and 0.98. In a comparison between dendrogram constructed by using morphologic and molecular analyses data it is possible to say that molecular data much more reliable than morphologic data.

KEYWORDS: Common bean, morphological characters, molecular markers, SSR, SCAR

COMMITTEE: Prof. Dr. A. Naci ONUS (Adviser)

Prof. Dr. Kenan TURGUT

Prof. Dr. Sezgin UZUN

Assoc. Prof. Dr. Mehmet KARACA

Asst. Prof. Dr. Ersin POLAT

ÖNSÖZ

Phaseolus cinsinin en önemli üyesi olan *Phaseolus vulgaris* L., kültürü yapılan fasulyelerin % 90'ını oluşturmaktadır. Amerika orijinli olan fasulyenin ülkemizde 250 yıllık geçmişi bulunmaktadır. Açıkta taze fasulye yetiştiriciliğinin en yaygın olduğu ilimiz Samsun'dur ve bunu Antalya, Hatay, Bursa ve Aydın illeri izlemektedir. Samsun ili Çarşamba Ovası'nda ve Ladik ilçesinde bölge şartlarına uymuş çok sayıda yerel fasulye tipi bulunmakta olup, burada büyük bir populasyon zenginliği söz konusudur. Genetik yönden büyük zenginlik gösteren bu potansiyelin değerlendirilmesi ulusal açıdan önemlilik göstermektedir.

Bu çalışma ile Samsun İlinin Çarşamba, Tekkeköy, Terme ve Ladik içlerinden elde edilen ve ıslah çalışmalarına alınan bodur fasulye hatlarının morfolojik ve moleküler karakterizasyonu yapılarak genetik karışıklığının giderilmesi ve bu genetik kaynakların Ulusal Gen Bankası Veri Tabanında yer alarak, fasulye gen kaynaklarımızın değerlendirilmesine yönelik ileride yapılacak ıslah çalışmalarına katkı sağlayacak nitelikte bilgiler sunulacaktır.

Tez konusunun belirlenmesi ve çalışmanın her aşamasındaki desteğinden dolayı Danışman hocam Sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS'a (Akd. Ün., Ziraat Fak., Bahçe Bitkileri Bölümü), tez izleme komitesinde yer alan, yaptıkları uyarı ve önerilerle değerli katkılarda bulunan Sayın Doç. Dr. Mehmet KARACA'ya (Akd. Ün., Ziraat Fak., Tarla Bitkileri Bölümü), istatistik analizlerin yapılmasında yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Mehmet Ziya FIRAT'a (Akd. Ün., Ziraat Fak., Zootehni Bölümü) teşekkürlerimi sunarım.

Tohumların temin edilmesinde yardımcı olan, araştırmanın her döneminde bilgisini ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen arkadaşım Dr. Seher MADAKBAŞ'a (Kardemir Tarımsal Araştırma Enstitüsü), çalışmanın moleküler karakterizasyon aşamalarında ki desteklerinden dolayı arkadaşlarım Arş. Gör. Safnaz ELMASULU ve Arş. Gör. Ahu ÇINAR'a (Akd. Ün., Ziraat Fak., Tarla Bitkileri Bölümü), çalışmanın morfolojik karakterizasyonu aşamasında iki yıl süresince fasulye

hat ve çeşitlerinin yetiştirilmesinde ve arazi temininde desteğini esirgemeyen Sayın Ahmet SEÇİM'e, tezi titizlikle okuyarak gerekli düzeltmeleri yapmamda yardımcı olan sevgili arkadaşlarım Dr. Köksal AYDINŞAKİR ve Dr. Özgül KARAGÜZEL (Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü)'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalışmam süresince maddi manevi destekleriyle hep yanımda olan ve beni sabırla destekleyen annem Sabriye ÖNAL'a, babam Prof. Dr. Mustafa ÖNAL'a ve eşim Kenan ULUKAPI'ya ayrıca varlıklarından güç aldığım çocuklarım Yağmur ULUKAPI ve Yavuz Kemal ULUKAPI'ya teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Fasulyenin Taksonomisi ve Gen Kaynakları	1
1.1.1. Birincil gen havuzu	1
1.1.2. İkincil gen havuzu	2
1.1.3. Üçüncül gen havuzu	3
1.1.4. Dördüncül gen havuzu	3
1.2. Fasulyenin Önemi	3
2. KURAMSAL BİLGİLER VE KAYNAK TARAMALARI	6
2.1. Fasulyenin Morfolojik Özellikleri	6
2.1.1. Çiçek yapısı	7
2.1.2. Meyve yapısı	7
2.2. Morfolojik Karakterizasyon ile İlgili Kaynak Taramaları	8
2.3. Moleküler Karakterizasyon ile İlgili Kaynak Taramaları	16
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Materyal	29
3.1.1. Bitki materyali	29
3.1.1.1. Morfolojik gözlemler için kullanılan bitki materyali	29
3.1.1.1.1. Morfolojik gözlemleri yapılan bitki materyallerinin Antalya koşullarında yetiştirilmesi ve iklim koşulları	31
3.1.1.2. Moleküler karakterizasyon yapmak için kullanılan bitki materyali	32
3.2. Metot	33
3.2.1. Genotiplerin morfolojik olarak değerlendirilmesi	33
3.2.2. Genotiplerin moleküler işaretleyiciler kullanılarak değerlendirilmesi	36
3.2.2.1. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar	37

3.2.2.2. DNA izolasyonu.....	39
3.2.2.3. DNA miktarının spektrofotometre ile belirlenmesi	40
3.2.2.4. DNA işaretleyici yöntemleri ile fasulye hatlarının analizi.....	41
3.2.2.5. Agaroz jelin hazırlanması ve elektroforezis.....	46
3.2.3. Elde edilen verilerin istatistik analizleri.....	47
3.2.3.1. Morfolojik gözlemler sonucunda elde edilen verilerin istatistik analizleri	47
3.2.3.2. Moleküler çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin istatistik analizi ..	47
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	49
4.1. Morfolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi	49
4.2. Moleküler Analizlerin Değerlendirilmesi	60
4.2.1. DNA izolasyonu verilerinin değerlendirilmesi	60
4.2.2. Moleküler işaretleyicilerle yapılan analizlerin değerlendirilmesi.....	61
4.2.2.1. SSR primer çiftleri ile yapılan analizlerin değerlendirilmesi.....	61
4.2.2.2. SCAR primer çiftleri ile yapılan analizlerin değerlendirilmesi	74
4.2.2.3. SSR ve SCAR analizleri sonucunda elde edilen dendogramın benzerlik indeksinin ve PCO grafiğinin değerlendirilmesi.....	77
5. SONUÇ	84
6. KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

A	Adenin
bp	Basepair
C	Sitozin
°C	Derece santigrad
cm	Santimetre
cM	CentiMorgans
da	Dekar
g	Gram
G	Guanin
HCl	Hidroklorik asit
Kb	Kilobase
kg	Kilogram
l	Litre
BME	beta-mercaptoethanol
M	Molar
Mb	Megabase
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum klorür
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
NaOAc	Sodyum asetat
NaCl	Sodyum klorür

ng	Nanogram
nm	Nanometre
rpm	Revolution per minute (Devir/dakika)
T	Timin
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
V	Volt

Kısaltmalar

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
BAF	Biyolojik azot fiksasyonu
BB	Bakla boyu
BBe	Baklada beneklilik
BE	Bakla eni
BETK	Bakla eti kalınlığı
BEŞ	Bakla eti şekli
BKD	Baklanın kılçıklılık durumu
BKvD	Bakla kıvrılma durumu
BR	Bakla renginin yoğunluğu
BŞ	Brakte şekli
BTB	Baklada tohum belirginliği
BU	Brakte uzunluğu
BUŞ	Bakla ucunun şekli
CAPS	Cleaved Amplified Polymorphic Sequence

CBB	Yaygın bakteriyel yanıklık
CIA	Chloroform: isoamylalcohol
CIAT	International Center of Tropical Agriculture
CpSSR	Chloroplast Simple Sequence Repeat
CTAB	Cetyltrimethylammonium bromide
CV	Varyans katsayısı
ÇR	Çiçek rengi
ÇS	Çıkış süresi
DAF	DNA Amplification Fingerprinting
DAMD	Directed Amplification of Minisatellite DNA
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoxyribonucleotide triphosphate
EDTA	Ethylenediaminetetracetate
EtBr	Etidyum bromid
GU	Gaga uzunluğu
IPBGR	International Board for Plant Genetic Resources
IPGRI	The International Plant Genetic Resources Institute
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
İÇKGS	İlk çiçeklenme tarihine kadar geçen gün sayısı
PCR	Polymerase Chain Reaction
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidone
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RNase	Ribonuclease
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region

SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
SSCP	Single Stranded Conformational Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeat
SSRLP	Simple Sequence Repeat Length Polymorphism
TAE	Tris asetat-EDTA tamponu
TE	Tris-EDTA tamponu
TAR	Tanenin ana rengi
TİRS	Tanede ikinci renk sayısı
TR	Tane rengi
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean
UPOV	The international Union for the Protection of new varieties of Plants
UV	Ultra viole
VNTR	Variable Number Tandem Repeat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fasulye çiçeğinin görünümü ve kısımları (a), fasulye çiçeğinin boyuna kesiti (b) (Madakbaş vd 2009)	8
Şekil 3.1. Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen ve Antalya koşullarında yetiştirilen fasulyelerin genel görünümleri.....	29
Şekil 3.2. Genotiplerin toplandığı Samsun Merkez, Terme, Çarşamba, Tekkeköy ve Ladik ilçelerinin harita görüntüsü	31
Şekil 3.3. Fasulye bitkilerinde görülen farklı çiçek renkleri (a) koyu eflatun (b) beyaz (c) eflatun (d) açık eflatun	34
Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan farklı renklere sahip bazı fasulye hatlarının tohumlarının görünümü.....	35
Şekil 4.1. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2 temsil ettiği özellikler bakımından fasulye hatlarının ve çeşitlerinin dağılımı	55
Şekil 4.2. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA3 ve TBA1 temsil ettiği özellikler bakımından fasulye hatlarının ve çeşitlerinin dağılımı	56
Şekil 4.3. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA3 ve TBA2 temsil ettiği özellikler bakımından fasulye hatlarının ve çeşitlerinin dağılımı	56
Şekil 4.4. Fasulye hatlarının ve çeşitlerinin Kümeleme Analizi ile sınıflandırılması....	58
Şekil 4.5. Moleküler analizlerde kullanılan hatların ve çeşitlerin genomik DNA fotoğrafları	61
Şekil 4.6. BM210 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	64
Şekil 4.7. BM146 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	64
Şekil 4.8. PH10B11 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	65
Şekil 4.9. PH7B3 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	66

Şekil 4.10. DROUGH 1 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	67
Şekil 4.11. BMd-45/AIA SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	67
Şekil 4.12. PV-atcc001 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	68
Şekil 4.13. PV-ag004 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	69
Şekil 4.14. PV-atcc003 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	69
Şekil 4.15. PV-tttc001 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	70
Şekil 4.16. PV-gaat001 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	70
Şekil 4.17. SSR-IAC14 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	71
Şekil 4.18. PV-at007 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	72
Şekil 4.19. PV-at008 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	72
Şekil 4.20. SSR-IAC116 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	73
Şekil 4.21. PV-atct001 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	74
Şekil 4.22. SAP6 SCAR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	74
Şekil 4.23. SB10 SCAR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	75

Şekil 4.24. SI19 SCAR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	76
Şekil 4.25. SN02 SCAR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili.....	77
Şekil 4.26. SSR ve SCAR primer çiftlerinin analizi sonucu elde edilen dendogram	78
Şekil 4.27. SSR ve SCAR primer çiftlerinin analizi sonucu elde edilen PCO grafiği...	82

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Morfolojik gözlemleri yapılan hat ve çeşitler ile toplandıkları lokasyonlar	30
Çizelge 3.2. Yetiştiricilik yapılan dönemde Antalya iline ait bazı iklim verileri	32
Çizelge 3.3. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan hatlar ve çeşitler	33
Çizelge 3.4. SSR tekniğinde kullanılan primer çiftleri	42
Çizelge 3.5. SCAR tekniğinde kullanılan primer çiftleri	44
Çizelge 3.6. PCR’da kullanılan parametreler ve miktarları (Bioron)	45
Çizelge 3.7. PCR’da kullanılan parametreler ve miktarları (Vivantis)	45
Çizelge 3.8. SSR Primer çiftleri için kullanılan PCR profili	45
Çizelge 3.9. SCAR Primer çiftleri için kullanılan PCR profili	46
Çizelge 4.1. Morfolojik karakterizasyonu yapılan fasulye hatlarının ve standart çeşitlerinin sabit olmayan özelliklerinin varyans analizinin sonuçları	49
Çizelge 4.2. Fasulye hatlarının ve standart çeşitlerinin karakterizasyonunda kullanılan sabit olmayan morfolojik ve fenolojik özelliklerin korelasyonu	50
Çizelge 4.3. Fasulye hatlarının ve standart çeşitlerinin karakterizasyonunda kullanılan sabit olmayan morfolojik ve fenolojik özelliklerin Duncan test grupları	51
Çizelge 4.4. Temel Bileşen Analizi (TBA) sonucu korelasyon matrisi ilk altı Eigen değeri	53
Çizelge 4.5. Fasulye hatları ve standart çeşitlerinde incelenen morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Analizi değerleri (Eigen Vektör)	54
Çizelge 4.6. Moleküler analizlerde kullanılan hatların ve çeşitlerin DNA miktarları ve absorbans değerleri	62
Çizelge 4.7. SSR ve SCAR işaretleyicileri ile oluşturulmuş genetik ilişki	79

Çizelge 4.8. İkinci ana grupta oluşan alt gruplar ve bu alt gruplarda yer alan hat ve çeşitler	80
--	----

1. GİRİŞ

1. 1. Fasulyenin Taksonomisi ve Gen Kaynakları

Phaseolus cinsi, Amerikan orijinli bir bitkidir ve toplam 55 türü içermektedir. Sınıflandırması aşağıda verilmektedir.

Aile : *Fabaceae* veya *Leguminoseae*

Alt aile : *Popilionoideae*

Oymak : *Phaseoleae* DC.

Alt oymak : *Phaseolinae* Berith

Cins : *Phaseolus*

Tür : Ekonomik öneme sahip 5 fasulye türü olmasına karşın yaygın olarak aşağıda belirtilen ilk 4 fasulye türünün kültürü yapılmaktadır.

1. *Phaseolus acutifolius* A. Gray
2. *Phaseolus coccineus* L.
3. *Phaseolus lunatus* L.
4. *Phaseolus vulgaris* L.
5. *Phaseolus polyanthus* Greeman (Gaitan-Solis vd 2002, Debouck vd 1993, Şehirali 1988).

Phaseolus vulgaris, *Phaseolus* cinsinin en önemli üyesidir. Kültürü yapılan fasulyelerin % 90'ını *P. vulgaris* oluşturmaktadır. *Phaseolus*'un evrimi hem karışık hem de şaşırtıcı olup dört gen havuzu (birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül) bulunmaktadır.

1.1.1. Birincil gen havuzu

Birincil gen havuzu coğrafik olarak birbirinden ayrılan 3 farklı gen havuzdan oluşmaktadır. Bunlar; Evans'ın (1973) belirttiği gibi; Orta Amerika (Meksika), And Dağları (Peru) ve daha sonra keşfedilen Kuzey And Dağları (Ekvator) gen havuzudur. Bu gen havuzlarından en zengin olanı 40'dan fazla türe sahip olan Orta Amerika'dır (Debouck vd 1993). Thome vd (1996), bunların yanı sıra Kolombiya'nın merkezi'nin

bir diğ er birincil gen havuzu olduğunu ancak bu g r     destekleyecek yeterli kanıt bulunmadığını bildirmişlerdir.

Fasulye için üç adet birincil gen havuzunun olduğu bazı kanıtlarla desteklenmektedir. İlk olarak, Shii vd (1980), Orta Amerika (k    k tohumlu) ve And Dağları (b    k tohumlu) germplazmları arasında tohum b    kl  kleri açısından önemli bir fark olduğunu ortaya koymuşlardır. İkinci olarak, Singh vd (1991), Orta Amerika gen havuzuna ait örneklerden elde edilen ekstraktlardaki tohum depo proteini phaseolinin ‘S’ ve ‘M’ formlarında, And Dağları gen havuzuna ait olanlarda ‘T’, ‘B’ ve ‘CH’ formlarında, Kuzey And Dağları gen havuzuna ait olanlarda ise ‘I’ formunda olduğunu tespit etmişlerdir.     nc  olarak, dokuz izoenzim işaretleyici kullanılarak birincil gen havuzuna ait farklı gen havuzları tespit edilmiştir. Dördüncü olarak, bazı morfolojik i aretleyiciler incelenmiştir; pigmentasyon (hücrelerin renkli madde oluşturması, hücrelerin renklenmesi), b    me Şekli, yaprakçık, tohum özellikleri ve dört hastalığa karşı gösterdiği reaksiyonlardaki farklılıklar birincil gen havuzu içindeki farklılıkları kanıtlamıştır (Larsen 2005, Debouck 1988).

1.1.2. İkincil gen havuzu

İkincil gen havuzunu *P. vulgaris* ile çok yakından ilişkili olan türler oluşturmaktadır. Örneğin, *P. coccineus*’un başlangıçta *P. vulgaris* ile aynı olduğu sanılmaktaydı. Ancak Linnaeus ve Mendel iki tür arasındaki farklılıklar üzerine çalışarak *P. coccineus*’un kökenini bulabilmişlerdir. *P. polyanthus*, *P. vulgaris* ile çok yakın olan bir diğ er türdür. Schmit vd (1993), *P. coccineus*’un nüklear DNA’sının *P. vulgaris* ile benzerlik gösterdiğini, Llaca vd (1994) ise *P. polyanthus*’un kloroplast DNA’sı ile *P. vulgaris*’in kloroplast DNA’sının benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir (Larsen 2005). Kesin olmamakla birlikte İspanya, Balkanlar, Türkiye, Hindistan, İran, Afganistan, Burma,   in, Filipinler, Nijerya’dan Etiyopya’ya kadar olan bazı bölgeler, Doğu Afrika  lkeleri (Etiyopya’dan Zambiya’ya) ve Madagaskar’ın ikincil gen merkezleri olabileceği sanılmaktadır (Debouck 1988).

1.1.3. Üçüncül gen havuzu

Üçüncül gen havuzu *P. acutifolius*, *P. filiformis* ve *P. augustissimus* türlerinden oluşmaktadır. Üçüncül gen havuzu *P. vulgaris*'ten oldukça büyük genetik uzaklık ile ayrılarak karakterize edilmiştir. Sonuç olarak, *P. vulgaris* ile üçüncül gen havuzu üyeleri arasında yapılan bir melezlemeden yaşayabilir döllere elde etmek oldukça zordur. *P. acutifolius*; yüksek sıcaklığa ve kuraklığa toleranslı, ayrıca yaygın bakteri yanıklığına da dayanıklıdır. Birincil ve üçüncül gen havuzları arasında yapılan bir melezleme ile yaşayabilen bir döl elde etmek için embriyo kurtarma yönteminin kullanılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Larsen 2005).

1.1. 4. Dördüncül gen havuzu

Dördüncül gen havuzu, üçüncül gen havuzundan daha uzak ilişkili türlerden oluşmaktadır. *P. lunatus*, bu gen havuzunun başarıyla kültüre alınmış bir üyesidir. Ayrıca verimliliği ve tropikal koşullara adaptasyonu çok iyidir. Bununla birlikte, Singh'in (1999) belirttiği gibi *P. vulgaris* ile bu gen havuzuna ait bireyler arasında yaşama kabiliyetinde olan döllere elde edilememiştir. Bu da bize *P. lunatus* ve *P. vulgaris* arasında farklılıklar bulunduğunu göstermektedir (Larsen 2005).

1.2. Fasulyenin Önemi

P. vulgaris, Antarktika hariç tüm kıtalarda yetiştirilmekle birlikte dünya fasulye üretim alanlarının % 90'ından fazlasında bu türün üretimi yapılmaktadır (Singh 1999). Ülkemizin bütün bölgelerinde kolayca yetiştirilebilmesi üretimin yayılmasını da kolaylaştırmıştır. Fasulye, dünya ve ülkemizde ekonomik olarak yetiştiriciliği yapılan ve üretimi her geçen gün artış gösteren ürünlerin başında gelmektedir. Nitekim dünya fasulye üretimi 1985 yılında 18 902 337 ton iken, 2005 yılında bu üretim 25 419 286 ton'a ulaşmıştır. Ülkemizde de fasulye üretimi, dünya fasulye üretimine paralel olarak yıllara göre artış göstermiş ve 1985 yılında 570 000 ton olan üretimimiz, 2005 yılında yaklaşık % 50'lik bir artış göstererek 760 000 ton'a ulaşmıştır. Ancak, 2008 yılı verilerine göre toplam kuru fasulye üretim alanı ve üretim rakamlarında düşüş

bulunmaktadır. 2005 yılında 1 412 000 dekar olan toplam kuru fasulye yetiştirme alanı 982 326 da'a, üretim miktarı ise 210 000 ton'dan 154 630 ton'a gerilemiştir. Taze fasulye üretiminde ise çok az bir artış yaşanmış, üretim miktarı 555 000 ton'dan 563 056 ton'a yükselmiştir (Anonim 2006, Anonim 2008). Türkiye, taze fasulye üretiminde Çin ve Endonezya'nın arkasından üçüncü sırada yer alırken, kuru fasulye üretiminde ise ondördüncü sırada bulunmaktadır (Anonim 2005). Açıkta taze fasulye yetiştiriciliğinin en yaygın olduğu ilimiz 89 450 ton'luk üretimi ile Samsun'dur ve bunu Antalya, Hatay, Bursa ve Aydın illeri izlemektedir (Madakbaş vd 2007).

Fasulye bitkisi toprağın yapısını düzeltmesi, organik maddesini arttırması, azot biriktirmesi ve çapa bitkisi olması sebebiyle kendisinden sonraki bitkilere temiz ve verimli bir tarla bırakmaktadır (Akçin 1988, Işık 2001). Bu özelliklerinden dolayı fasulye tarımı, çevrecilik ve sürdürülebilir tarım uygulamalarının yaygınlaştığı günümüzde, önemini daha da arttırmaktadır (Ülker ve Ceyhan 2006, Direk vd 2002, Cebel 1989).

Fasulye, insan beslenmesinde çok önemli yeri olan bir sebzedir. Günlük protein ihtiyacını karşılamak için birçok gelişmekte olan ülkede yetiştirilen başlıca gıdalar arasında yer almaktadır. Bu ülkelerde yetiştirilen fasulyelerin ortalama verimi hala oldukça düşüktür. Bunun nedenleri; biyotik ve abiyotik stres koşullarına hassasiyet, geliştirilen çeşitlerin adaptasyonunun sınırlı olması ve farklı yetiştiricilik sistemleri olarak sıralanabilir. Islah programlarının genetik esaslarının dar olması bazı ürünlerden BElenen genetik gelişme oranını sınırlandırmaktadır ve bu durum muhtemelen fasulye için de geçerlidir. Islah programları için genetik çeşitlilik kaynağı olarak gen bankalarında depolanmış germplazmın kullanımı yüksek verimli çeşitlerin geliştirilmesini kesinlikle etkileyecektir (Broughton vd 2003). Hastalıklara dayanıklılık gibi özelliklerle bağdaşan moleküler işaretleyicilerin tespit edilmesi, tarımın gelişimini amaçlayan işaretleyicilere dayalı ıslahı büyük oranda olanaklı hale getirecektir (Yu vd 2000). Genetik kaynağın kullanımı için öncelikle gerekli olan, kültüre alınmış türlerin ve bunların yabani akrabalarının genetik çeşitliliğinin dağılımı ve yayılımının detaylarının bilinmesidir. Bu da, DNA sekans polimorfizmine dayanan teknolojilerinin kullanılmasını içeren bazı yöntemler aracılığıyla başarılabilir.

Ülkemizdeki fasulye populasyonları değişik zamanlarda farklı bölgelerden araştırmacılar tarafından toplanarak Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Ulusal Gen Kaynakları Bankası'nda muhafaza edilmektedir. Bugün bu gen bankasında ve Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde oldukça fazla sayıda fasulye populasyonunun olduğu bilinmektedir. Üretim özellikle Çarşamba Ovası'nda yoğunlaşmış olup ovada bölge şartlarına uyumuş çok sayıda yerel tip bulunmaktadır ve büyük bir populasyon zenginliği söz konusudur. Geniş alanlarda kapama olarak yapılan taze fasulye yetiştiriciliğinde işçilik ve sırk maliyetinden dolayı bodur çeşitlerin kullanımı daha fazladır (Madakbaş vd 2007).

Ülkemizde farklı türlerde geniş koleksiyona sahip gen kaynaklarındaki populasyonlar etkin bir şekilde morfolojik veya moleküler yöntemlerle tanımlanmadığından ülkemizdeki fasulye populasyonlarının, populasyon içi veya arasındaki genetik varyasyonu tam olarak ortaya konamamıştır. Bu noktadan hareketle planlanan çalışmada Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden ve yurtdışından temin edilen bazı fasulye genotipleri UPOV (The International Union for the Protection of New Varieties of Plants) tanımlama listesine (deskriptör) uygun olarak morfolojik özellikler bakımından tanımlanmışlardır. Aynı populasyonlarda morfolojik özelliklerin belirlenmesine paralel olarak 22 SSR ve 6 SCAR primeri kullanılmak suretiyle genetik tanımlamaları da yapılmıştır.

Çalışmada yer alan hatların birbirleri ile olan genetik ilişkilerin morfolojik ve moleküler yöntemlerle tanımlanması, ıslah amacına yönelik hatların seçiminde kullanılabilecek materyallerin elde edilmesini mümkün kılacaktır. Bu çalışmanın ışığında elde edilen sonuçlar ile kendi kaynaklarımızın yeni çeşitler geliştirmeye yönelik ıslah programlarında daha etkin şekilde yer alması mümkün olacaktır. Araştırma sonucunda elde edilecek verilerin Ulusal Gen Bankası Veri Tabanında yer alarak, fasulye gen kaynaklarımızın değerlendirilmesine yönelik gelecekteki projelere ışık tutması amaçlanmaktadır.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

Fasulyede büyük bir genetik varyasyon bulunmaktadır. Dünyadaki başlıca gen bankalarında *Phaseolus* cinsine ait yaklaşık 65 000 aksesyon bulunmakta olup bunların yaklaşık % 90'ı *Phaseolus vulgaris*'e aittir (CIAT 2001). Dünyanın en büyük koleksiyonuna sahip olan International Center of Tropical Agriculture (CIAT) koleksiyonunda 26 500'ü kültürü yapılan, 1 300'ü yabani ve geri kalanı uzak akraba olmak üzere 40 000'in üzerinde fasulye tipi muhafaza edilmektedir (CIAT 2001). Fasulye, ilk olarak Orta Amerika ve And Dağları (Güney Amerika) orijinli olarak belirlenmiştir. Bu iki orijinde yer alan fasulyeler; yaprak, gövde, çiçek dizilişi, çiçek, tohum kabuğu, tohum özellikleri, melezlemeye uygunluk ve kromozom özellikleri bakımından değerlendirilmişlerdir. Orta Amerika ve And Dağları orijinli fasulyelerin tohum irilikleri bakımından birbirinden farklı oldukları; Orta Amerika orijinli fasulyelerin tohum iriliklerinin küçük ve orta, And Dağları orijinli fasulyelerin ise iri tohumlu olduğu belirlenmiştir. Orta Amerika orijinli fasulyelere ait tohumların 100 adedinin 25 g'dan az ya da 25–40 g arasında olduğu tespit edilmiştir. Andean orijinli fasulyelere ait tohumların 100 adedinin 40 g'dan fazla olduğu için geniş tohumlu fasulyeler olarak gruplandırılmışlardır (Singh vd 1988, Singh vd 1991, Rodino vd 2003).

2.1. Fasulyenin Morfolojik Özellikleri

Ülkemizde yetiştirilen fasulyelerin tamamına yakını *P. vulgaris* türü içerisinde yer almaktadır. Bunun yanında iri tohumlu *P. coccineus* ise büyük ölçüde süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir. Zira bu türün çiçekleri büyük ve çok dikkat çekici renklere sahiptir. Çok iri tohumlara sahip olan *P. coccineus*, çok yıllıktır ve ülkemizde nadir olarak kullanılmaktadır. *P. vulgaris* tek yıllık bir bitkidir ve meyvelerinin büyük bölümünü bir defada olgunlaşması nedeniyle makineli hasat için ideal bir yapıya sahiptir. Son derece düzgün meyvelere sahiptir. *P. vulgaris*'in iki formu bulunmaktadır. Bunlar; *P. vulgaris* var. *comminus* (sırık fasulye) ve *P. vulgaris* var. *nannus* (yer fasulyesi)'dur.

Yer fasulyesinde gövde 4-8 arasında değişen oldukça kısa yapıda olan internodyum taşımaktadır. Gövdenin uç kısmı bir çiçek ile son bulur. Gövde birkaç dallı

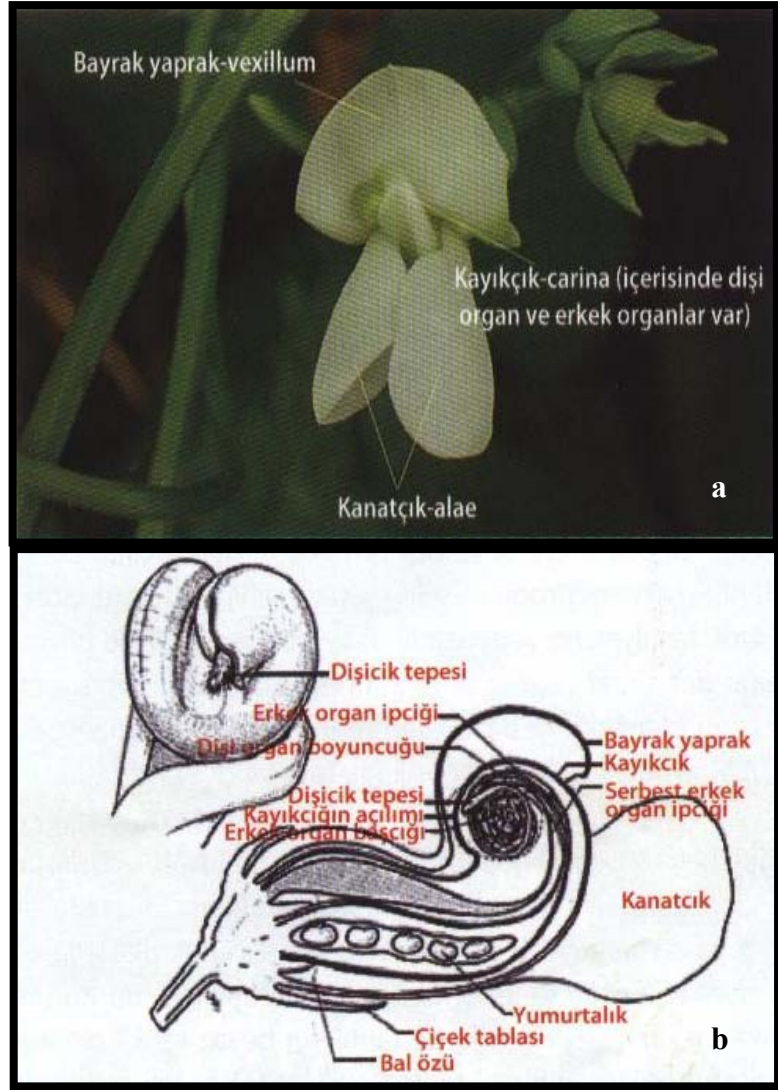
olarak gelişir. Fasulyelerde gövde rengi kırmızı, pembe ve yeşil olabilir. Gövde rengi ile çiçek rengi arasında ilişki bulunmaktadır. Renkli gövdelilerde çiçek de renklidir (Davis 1997, Vural vd 2000).

2.1.1. Çiçek yapısı

Fasulye, çiçeğinin yapısı nedeniyle mutlak kendine döllen bitkiler grubunda yer almaktadır. Çiçeğin alt kısmında bayrak olarak adlandırılan orta kısmından geriye doğru kıvrılmış taç yaprak, iki adet kanatçık olarak adlandırılan taç yaprak, bunların içinde de erkek ve dişi organları içine alan boru şeklinde kapalı bir yapıya sahip olan ve uç kısmı spiral şeklinde kıvrılmış kayıkçık yer almaktadır. Dişi organın uç kısmı yukarıya doğru fırça şeklindedir (Şekil 2.1). Başlangıçta erkek organdan kısa olan dişicik borusu, polen keselerinin ve polen tozlarının olgunlaşmasına eş zamanlı olarak büyüyerek uzar ve polen tozu keselerinin oluşturduğu boru içinden yukarıya doğru geçerken fırça şeklinde tepcik üzerine polenleri alır ve döllenir. Fasulye çiçekleri 10 tane polen tozu kesesine sahiptir ve bunlardan 9 tanesinin sapları birleşerek bir boru oluştururlar. Çiçek tomurcuk durumunda iken bayrak, kanatçık ve kayıkçığı sarar. Kanatçıklardan birisi de kendini sarmış durumdadır. İşte bu çiçek yapısı nedeniyle yabancı döllenme hemen hemen hiç söz konusu değildir (Davis 1997, Vural vd 2000).

2.1.2. Meyve yapısı

Fasulye, optimum koşullarda 6-8 gün arasında çimlenmekte ve taze fasulye üretimi için hasat süresi 45-65 gün arasında değişmektedir. Fasulyede meyve, bakla şeklindedir. Meyve gelişimi için ideal sıcaklık 15-25°C arasında değişmektedir. Baklalar çeşit özelliğine bağlı olarak 6-90 cm uzunluğunda, yassı, yuvarlak ve oval şekilli olabilmektedir. Fasulye, baklaların kılçıklı olup olmama durumuna göre de sınıflandırılmaktadır. Bakla rengi de çeşitlere göre önemli farklılık göstermektedir. Baklanın şekli de önem taşımaktadır. Çeşitler, orak şeklinde kıvrık baklalı olabildiği gibi kalem gibi düzgün baklalara sahip çeşitler de bulunmaktadır.



Şekil 2.1. Fasulye çiçeğinin görünümü ve kısımları (a), fasulye çiçeğinin boyuna kesiti (b) (Madakbaş vd 2009).

Düzgün şekilli baklalara sahip çeşitler tercih edilmektedir. Değerlendirilen kısmın bakla oluşu, fasulyelerde bakla özelliklerini birinci derecede önemli kılmaktadır (Davis 1997, Vural vd 2000).

2.2. Morfolojik Karakterizasyon İle İlgili Kaynak Taramaları

Anavatanı Amerika olan fasulye, Amerika'nın keşfinden sonra tüm dünyada hızla yayılmıştır. Fasulyenin ülkemizde 250 yıllık bir geçmişi bulunmakta olup hem sahil, hem de iç bölgelerimizde yetiştiriciliği yapılmaktadır (Tunar ve Kesici 1998). Samsun

ili arşamba Ovası'nda ve Ladik İlçesi'nde bölge şartlarına uyum gösteren çok sayıda yerel fasulye tipi mevcut olup, burada büyük bir populasyon zenginliği söz konusudur. Genetik yönden büyük zenginlik gösteren bu potansiyelin değerlendirilmesi gerekmektedir. Gerek tarımsal üretimin arttırılması için yeni çeşitlerin geliştirilmesi, gerekse genetik kaynakların erozyona uğratılmadan gelecek nesillere aktarılması ancak mevcut populasyonların korunması ve saklanması ile mümkün olacaktır (Balkaya ve Yanmaz 2001).

Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından yürütölen "Taze Fasulyede Seleksiyon ve Melezleme Islahı ile Yeni eşit Geliştirme" ıslah projesi kapsamında arşamba Ovası (Terme, Tekkeköy, arşamba ilçeleri) ve Ladik ilçelerinden 2002–2003 yıllarında taze fasulye populasyonu toplanmış ve bunlardan daha sonraki çalışmalar için başlangıç materyali olarak kullanılacağı düşünölmüşür. Toplanan populasyonun hepsi *P. vulgaris* türü içine girmektedir (Madakbaş 2006).

Madakbaş vd (2006a)'nin yaptığı çalışmada, 2002–2003 yıllarında arşamba Ovası (Terme, Tekkeköy, arşamba ilçeleri) ve Ladik ilçelerinden toplanan 155 populasyonun arasından seçilen 31 hat arasındaki farklılıklar UPOV kriterleri kullanılarak belirlenmiştir. UPOV kriterlerine göre yapılan karakterizasyon sonucunda elde edilen değerlerle hatlar arasındaki genetik uzaklığı göstermek için ayırma (discriminant) analizi ve grupları ayırt etmek için de kümeleme (cluster) analizleri yapılmıştır. Ayırma analizinde birbirine en az benzeyen iki hattın TK14 ve T39; en çok benzeyen iki hattın ise TK55 ve Karaayşe olduğu tespit edilmiştir. Ön verim denemesi aşamasından itibaren ayırma analizinin kullanılmasıyla benzer olan hatların erken dönemde birbirinden ayırt edilerek kaynak israfının önüne geçilebileceği ortaya koyulmuştur. Ayırma analizi ve kümeleme analizleri sonucu tespit edilmiş olan yakın ve uzak hatların birbirine benzemediği belirlenmiştir.

Madakbaş vd (2007) yaptıkları diğer bir çalışmada ise, 2003–2005 yılları arasında arşamba Ovası'nda ve Ladik İlçesi'nde 100 köyden 45 yerel isimle anılan 155 bodur taze fasulye populasyonu toplamışlardır. Araştırmacılar, 2003 yılında gözlem bahçesi kurup bitkileri seçmişler; 2004 yılında tek bitki sıraları oluşturup hatları belirlemişler ve

2005 yılında ise bu hatlara göre ön verim denemesi kurmuşlardır. UPOV kriterlerine göre bitkisel ve bakla özellikleri, erkencilik, kalite, verimlilik, yatma özelliklerine bakılarak Çarşamba Ovası'nda taze tüketime uygun bodur formu 11 taze fasulye hattı (T17, TK15, Ç31, TK1, T23, T21, TK57, T7, KO, Ç28 ve T26) belirlemişlerdir.

Stoilova vd (2005), Portekiz ve Bulgaristan'ın farklı coğrafik orijinlere sahip 30 yerel fasulye genotipinin IPGRI kriterleri kullanarak morfolojik karakterizasyonunu yapmışlardır. Genotipler arasındaki farklılıkların ortaya konabilmesi için morfolojik, fenolojik ve agronomik olmak üzere toplam 20 özelliği değerlendirmişlerdir. Fenotipik değişkenliğin belirlenmesinde kümeleme analizi kullanmışlar ve kümeleme analizine göre populasyonları 5 ana gruba ayırmışlardır. Araştırma sonucunda genotipler arasında büyük varyasyon bulunduğunu bildirmişlerdir.

Durán vd (2005); 54 tanesi Karayip Bölgesi'nden (16 tanesi Dominik Cumhuriyeti'nden, 14 tanesi Haiti'den, 23 tanesi Porto Riko'dan ve 1 tanesi Jamaika'dan) kırmızı benekli ve orta büyüklükte tohumlara sahip, 11 tanesi ise Amerika, Peru ve Kolombiya olmak üzere And Dağları tipi toplam 65 fasulye aksesyonunda morfolojik ve moleküler karakterizasyon yapmışlardır. CIAT (1987) kriterlerine göre toplam 9 morfolojik özellik incelenmiş olup bunlar; yaprak kalınlığı, yaprak uzunluğu, yaprak şekli, büyüme yapısı, ana gövde üzerindeki beşinci boğum arasının uzunluğu, brakte şekli, brakte büyüklüğü, korollanın dışarıdan görünümü ve gaganın pozisyonudur. Bunların yanı sıra iki tane de fenolojik özellik (çiçeklenme gün sayısı ve hasat olgunluğuna erişme gün sayısı) incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, ortadan büyüğe doğru değişen ölçülerde tohumlara sahip Karayip fasulyeleri 2 gruba ayrılmış ve bunlardan bir grubun Orta Amerikan fenotipinde diğerinin ise And Dağları fenotipinde olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte RAPD ve phaseolin ile yapılan gruplandırmada gruplar arasında bazı sınırlı introgresyonların meydana geldiği görülmektedir. Orta Amerikan ve And Dağları hastalıklara dayanıklılık genleri daha geniş ve/veya daha fazla dayanıklılık sağlayabilecekleri için Karayip germplazmalarında bulunan Orta Amerikan ve And Dağları özelliklerinin rekombinasyonlarının ıslah programları için eşsiz bir kaynak olabileceği sonucuna varmışlardır.

Flores vd (2003), Kuzey İspanya'nın farklı bölgelerinden topladıkları 112 fasulye aksesyonunun morfolojik farklılıklarını ve benzerliklerini belirlemek amacıyla 27 özellik için IPBGR kriterlerini kullanarak iki yıl boyunca değerlendirmeler yapmışlardır. Yapılan araştırmada; % 50 çiçeklenme tarihi, çiçeklenme bitiş tarihi, % 50 olgunluk tarihi, yaprak uzunluğu, yaprak kalınlığı, çiçek uzunluğu, brakte uzunluğu, çanak yaprak (kaliks) uzunluğu, çiçek sapı uzunluğu, brakte/kaliks oranı, olgunlaşmamış baklanın uzunluğu, olgunlaşmış baklanın uzunluğu, bakla kalınlığı, olgunlaşmamış baklanın genişliği, olgunlaşmış baklanın genişliği, bitki başına bakla sayısı, gaga uzunluğu, gaga pozisyonu, 100 dane ağırlığı, tohum uzunluğu, tohum kalınlığı, tohum genişliği, bakla başına tohum sayısı, bitki çapı, bitkinin büyüme şekli kriterlerini değerlendirmişlerdir. İstatistik analizleri sonucunda aksesyonlar üç grupta kümelendiğini bildirmişlerdir. İki grubun Güney Amerika orijinli ırklar ile akraba olduğu tespit edilirken diğer grubun ise Orta Amerikan ırkları ile akraba olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar aksesyonların, toplandığı bölgenin batı kısmının doğu kısmına kıyasla daha yüksek varyasyona sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Artvin İli'nin yerel fasulyelerinde yapılan çalışmada, 7 ilçenin 74 köyünden ve 279 noktadan genotipler toplanarak dane renk ve şekillerine göre 400 örneklik bir populasyon oluşturulmuştur. Populasyonun bitki boyu, bakla sayısı, bakla uzunluğu, 100 dane ağırlığı, dane verimi ve hasat süresi bakımından genel durumunun belirlenmesi için her örnekten elde edilen tüm gözlem değerleri kullanılarak özelliklerin frekans dağılımları çıkartılmıştır. Özellikle, bölgede kurulmakta olan barajlar altında kalacak yerel populasyonun kaybolmadan toplanıp bazı agronomik özelliklerin tespit edilmesi amacıyla yürütülen araştırmada, populasyonun gerek kuru gerekse taze tüketim amaçlı çeşit geliştirme ve ıslah çalışmalarında kullanılabileceği tespit edilmiştir (Bozoğlu ve Sözen 2007).

Çevre ve genotipin bakla özellikleri üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, İspanya ve Portekiz'den toplanmış 121 yerel fasulye çeşidi, 3 farklı bölgede ve 6 farklı çevre koşulunda yetiştirilerek iki yıl süre ile değerlendirilmiştir. Değerlendirmeler için; % 50 çiçeklenme zamanı (gün), taze bakla olgunlaşma zamanı (gün), bakla ağırlığı(g), bakla uzunluğu (mm), bakla genişliği (mm), bakla genişlik/kalınlık oranı, bitkinin

büyüme şekli, bakla rengi ve baklanın liflilik durumu incelenmiştir. Bölge x yıl ve çeşit x yıl x bölge interaksyonları bakla kıvrılma durumu hariç diğer tüm özellikler için istatistiksel olarak önemli bulunmasına rağmen çevre koşullarının etkisi önemsiz bulunmuştur. Üzerinde çalışılan çeşitlerden 51 tanesi özel çevre koşullarına adapte olmuş ve bunlardan sadece 4 tanesi farklı koşullarda benzer performans göstererek geniş bir coğrafik adaptasyon sergilemiştir (De Ron vd 2004).

İspanya'nın kuzeybatı kesiminde fasulyede yemeklik ve besinsel özelliklerdeki varyasyonu tespit etmek amacıyla gerçekleştirilen bir çalışmada, 59 populasyon ve 5 ticari çeşit, 3 farklı çevre koşulunda yetiştirilerek 16 morfolojik ve fenolojik özellik bakımından incelenmiştir. Populasyonlar bakla kıvrıklığı, bakla ve tohumların uzunluk/genişlik ile genişlik/kalınlık oranları, bakla ve tohumların yapısı, hacmi, sertliği, tohum kabuğu yüzdesi, tohumun su absorpsiyonu, ham protein, ham yağ, ham lif, toplam şeker ve nişasta içerikleri bakımından farklılıklar göstermiştir. Çevre x genotip interaksyonu, taze bakla ve kuru tohum özellikleri için önemli bulunmuştur. Tohum uzunluk/genişlik ve tohum genişlik/kalınlık oranları, tohum kabuğu yüzdesi, tohumun su absorpsiyonu, ham yağ, ham lif, toplam şeker ve nişasta içeriği ile bakla yapısı arasında yüksek korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Böylece bakla yapısının, tohumun hem yemeklik hem de besinsel kalitesinin değerlendirilmesinde önemli bir parametre olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur. Ayrıca incelenen populasyonlardan 17 tanesinin hem bakla hem de tohum yemeklik kalitesi açısından ıslah programlarında ebeveyn olarak uygun materyaller oldukları sonucuna varılmıştır (Escribano vd 1997).

Anlarsal vd (2000), Çukurova koşullarında kuru dane üretimine uygun fasulye çeşitlerini saptamak ve bununla birlikte dane verimi ve verimle ilgili bazı özellikler arasındaki ilişkileri ortaya koymak amacıyla yürüttükleri çalışmada; bitki boyu, sayısı, toplam bakla sayısı, dolu bakla sayısı, boş bakla sayısı, 100 dane ağırlığı, dane sayısı, dane ağırlığı, ilk bakla yüksekliği, baklada dane sayısını incelemişlerdir. İki yıllık ortalamalara göre elde edilen dane verimlerinin bodur formlarda 57.4–119.6 kg/ da arasında, sarılıcı formlarda 16.5–97.5 kg/ da arasında oldukça geniş sınırlar içerisinde değişim göstermesi, bölge için çeşit seçiminde çok dikkat edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Çalışma sonucunda; bodur formlarda, birim alan dane verimi ile 100 dane

ağırlığı arasında, sarılcı formlarda ise dane verimi ile toplam bakla ile dolu bakla sayısı, bitki başına dane sayısı, bitki başına dane ağırlığı arasında olumlu ve önemli ilişkiler bulunmuştur.

García vd (1997)'nin yaptıkları çalışmada; Saltito, Durango, Mexico (yabani) ve cv. Bayo Mecentral'den (kültüre alınmış) aksesyonlar, tohum renklerinin homojenliği göz önüne alınarak seçilmişlerdir. Aksesyonlar CIAT tarafından hazırlanan tanımlama kriterlerine göre (büyüme tipi, çiçek rengi, bakla rengi, hipokotil rengi, çiçeklenmenin başlangıç ve bitiş günleri, fizyolojik olgunluğa ulaşma günü, hipokotil ve gövde uzunluğu (cm), toplam dal sayısı, bitki başına düşen bakla sayısı, bakla başına tohum sayısı ve ana gövde üzerindeki boğum sayısı) değerlendirilmiştir. Analiz sonucunda yabani populasyonların büyüme tipinin oldukça farklı olduğu ve 13 değişken ile pozitif ve önemli korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. İslah edilmiş olanlarda ise çok önemli birkaç korelasyon tespit edilmiştir. Temel Bileşen Analizi (TBA)'nin; tarımsal ve morfolojik değişkenlerin, doğrusal kombinasyonun toplam varyasyonun % 70'ini açıkladığını göstermiştir ve populasyonlar ilk Temel Bileşen (TB)'e göre açık olarak iki kısma ayrılmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda araştırmacılar, varyasyonun kaybolmasında ıslah işlemlerinin önemli rol oynadığını bir kez daha ortaya koymuşlardır.

Bir diğer çalışmada, fasulyeler arasındaki genetik ilişkiler değerlendirilmiş ve bu değerlendirme için 18 genotipte 9 özellik incelenmiştir. 100 dane ağırlığı ve bitki başına düşen bakla sayısı, genetik ayrımın açıklanmasında en önemli iki özellik olmuştur. Bu iki özellik, toplam varyasyonun % 46'sından daha fazlasını açıklamaktadır. İlk iki doğal değişken, dört çevre koşulu ortalamasından elde edilen toplam varyasyonun yaklaşık % 88.23'ünü açıklamak için yeterli olmuştur (Ceolin vd 2006).

Balkaya ve Yanmaz (2003), tekssel seleksiyon yöntemi ile taze tüketime uygun olarak geliştirilen 15 fasulye çeşit adayları ile ülkemizde ticari olarak yetiştirilen 5 taze fasulye çeşidini hem morfolojik çeşit özelliklerini dikkate alarak hem de protein işaretleyiciler yardımı ile tanımlamışlardır. Tarla koşullarında yürütülen çalışmalarda; erkencilik yanında morfolojik özelliklerden bitki (boy), yaprak (renk, uç ve yan yaprak

boyu ve eni, uç yaprak şekli), çiçek (brakte büyüklüğü, renk), bakla (boy, en, enine kesit şekli, renk, kılçıklılık, pürüzlülük, kıvrılma düzeyi ve tohum belirginliği) ve tohum (irilik, şekil, renk) özelliklerini değerlendirmişlerdir. Araştırma sonucunda çeşit adaylarının birbirlerinden ve mevcut çeşitlerden hem morfolojik özellikler hem de protein bant sayısı ve bant uzunlukları yönünden farklılık gösterdiklerini ortaya koymuşlardır.

Cruz vd (2003), Meksika'nın Guanajuato ve Michoacan Bölgeleri'nden topladıkları yabani fasulye populasyonlarındaki genetik farklılığın bölgesel dağılımını morfolojik ve moleküler yöntemlerle ortaya koymuşlardır. Araştırmada her biri ortalama 29 bitkiden oluşan 7 yabani populasyonu değerlendirmişlerdir. Tohum büyüklüğü ve tohum rengini, hem kalıtımı yüksek hem de laboratuvar ve arazide ölçümü kolay olduğu için morfolojik işaretleyici olarak kullanmışlardır. Morfolojik veriler açısından populasyonlar arasında istatistiksel olarak önemli farklar ($P < 0.05$) olduğu tespit edilmiş ve populasyonlar 4 gruba ayrılmıştır. Moleküler olarak populasyonlar arasındaki genetik ilişkilerin ortaya konması amacıyla 7 adet ISSR primeri kullanmışlardır. Populasyonlardan beşinde lokusların % 89'u polimorfik bulunurken, diğerlerinde bu oran % 35 ve % 64 olarak tespit edilmiştir. UPGMA (Unweighted Pair Group Method of Arithmetic Analysis) dendogramına göre 5 populasyon arasında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

Hornakova vd (2003) Batı Slovenya ve Doğu Karpetya'nın farklı bölgelerinden topladıkları 82 yerel fasulye hattında karakterizasyon yapmak amacıyla 33 morfolojik özelliği değerlendirmişlerdir. Tohum ve bitki özelliklerinde büyük bir varyasyonun tespit edildiği araştırmada, kümeleme analizi sonucunda büyüme tipi, tohum büyüklüğü ve 100 tohum ağırlığına göre genotipler 3 ana gruba ve 12 alt gruba ayrılmıştır. Diğer taraftan moleküler ayırım çalışmaları, mikrosatellit ve minisatellit DNA primerleri kullanılarak yapılmıştır. Moleküler çalışma sonuçlarına göre yapılan kümeleme analizinde genotipler gruplanmış, ancak yapılan gruplamanın morfolojik özelliklerle hiçbir ilişki göstermediği tespit edilmiştir.

Solmaz ve Sarı (2008), yaptıkları çalışmada Türkiye’de bulunan karpuz gen kaynaklarını toplamışlar ve 135 tane aksesyonu UPOV kriterlerine göre 56 farklı özellik bakımından incelemişler ve morfolojik karakterizasyonunu yapmışlardır. Belirleyici Unsur Analizine göre aksesyonlar 5 gruba ayrılmıştır. Elde edilen veriler, aksesyonların birçok morfolojik özellik bakımından önemli varyasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak aksesyonların coğrafik orijini ile morfolojik özellikleri ilişkilendirilememiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda çekirdek bir koleksiyon oluşturmak için üzerinde çalışılan aksesyonlardan yaklaşık 30 bireyin böyle bir koleksiyon için uygun olduğu ve gelecekte yapılacak çalışmalarda belirli bölgelere odaklanılmasına gerek olmadığı sonucuna varılmıştır.

Balkaya vd (2005) yaptıkları çalışmada, Türkiye’nin farklı coğrafik bölgelerinden topladıkları beyaz baş lahanaların (*Brassica oleracea* var. *capitata* subvar. *alba*) genetik kaynaklarındaki farklılıkları ve benzerlikleri tespit etmeyi amaçlamışlardır. 1999–2001 yılları arasında yürüttükleri tarla denemeleri sonucu UPOV kriterlerine göre değerlendirilen verilerde çoklu varyans analizi, 12 kantitatif ve 10 kalitatif değişken için ise kümeleme analizi yapmışlardır. Bu çalışma, oldukça fazla morfolojik çeşitlilik olduğunu göstermiştir. Kümeleme analizi sonucunda 10 grup ve bunların da kendi içlerinde değişik sayıda alt grupları tespit edilmiştir.

Sözen (2006)’in bildirdiğine göre; Öz ve Kapar (2003), bitkilerde ekonomik öneme sahip olan birçok özelliğin poligenik kalıtım göstermesinden dolayı karakterlerin tek tek ele alınmasının zaman zaman hatalı yorum ve önerilere yol açtığını ifade etmişlerdir. Araştırmacıların Türkiye’de üretimi yapılan mısır çeşitlerinde yaptıkları çalışmada ayırım ile kümeleme analizlerinin sonuçlarının örtüşmediği sonucuna varmışlardır.

Tar’an vd (2002) fasulyede de, verimi ve diğer kantitatif özellikleri geliştirmek için yapılan ıslah çalışmalarının zor olduğunu, moleküler işaretleyicilerin kullanımının genetik faktörleri anlamamıza ve süper genotiplerin seçilmesine yardımcı olacağını umduklarını belirtmişlerdir.

2.3. Moleküler Karakterizasyon İle İlgili Kaynak Taramaları

Günümüzde fasulye, genetik transformasyon çalışmalarının hedef bitkisi durumundadır ve çok kısa bir zaman sonra transformasyon çalışmalarını engelleyen güçlüklerin üstesinden gelineceğine inanılmaktadır (Torres vd 2004). Vallejos vd (1992), *P. vulgaris*'in genetik mesafesini ortalama 530 kb cM⁻¹ olarak tahmin etmişlerdir ki bu tahmin model bitki olan *Arabidopsis thaliana* (230 kb cM⁻¹) için öngörülenin sadece iki katıdır. *P. vulgaris*; iyi geliştirilmiş moleküler haritası olması, kendine döllenmesi, basit diploid yapıya (2n=22) ve nispeten küçük genoma sahip olması gibi özellikleri nedeniyle genomik çalışmalar için oldukça cazip bir bitkidir (Murray vd 2002). Bu özelliklerinin yanı sıra büyük genetik kaynak koleksiyonlarının olması ve türlere ait birincil gen havuzlarındaki genetik farklılıkların oluşumlarının iyi bir şekilde anlaşılmış olması da genomik çalışmalar için avantaj sağlamaktadır (Gepts 1999).

DNA işaretleyiciler, çeşitler arasındaki farklılığın tespit edilmesi veya çeşitlerle ebeveynleri arasındaki benzerliklerin belirlenmesinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Harlan ve De Wet (1973)'in belirttiği gibi çeşitlilik ve genetik ilişkileri belirlemede arkeoloji, botanik, dil ve tarih bilim dallarından yararlanılmaktadır. Dil ve tarih yoluyla günümüze ulaşan bilgilerin sağlıklı olup olmadığı tartışılmasına rağmen arkeoloji ve botanik bilgilerine dayalı verilerin daha güvenilir olduğu düşünülmektedir. Botanik kanıtlardan birisi olan moleküler işaretleyiciler, bolluk ve güvenilirlik açılarından oldukça büyük öneme sahiptir (Gülşen ve Mutlu 2005). Bu işaretleyiciler yardımıyla araştırmacılar, morfolojik olarak çok benzerlik gösteren tür, çeşit veya tiplerin genotipleri ile ebeveynlerinin genotipleri hakkında kesin bilgiler elde etmişlerdir. DNA işaretleyicilerinin genetik araştırmalarda kullanımı fikri, DNA'daki varyasyonun genlerdeki varyasyonu temsil ettiği bilgisinden hareketle ortaya çıkmıştır. Bu amaçla; Sınırlandırılmış Kısım Uzunluk Polimorfizmi [Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)], Mikrosatelit veya Basit Tekrar Sekansları Polimorfizmi [(Simple Sequence Repeat Length Polymorphism (SSR veya SSRLP)], Çoğaltılmış Kısım Uzunluk Polimorfizmi [(Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)], Minisatellit veya Yönlendirilmiş Minisatellitli DNA Çoğaltımı [(Directed Amplification

of Minisatellite DNA (DAMD)], Rastlantısal Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi [Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)], Tek Sarmallı Uygunluk Polimorfizmi [Single Stranded Conformational Polymorphism (SSCP)], Tek Nükleotid Polimorfizmi [Single Nucleotide Polymorphism (SNP)] ve doğrudan sekans analizleri (Direct Sequencing) gibi teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniklerin tamamına yakını morfolojik ayırım tekniklerine ve diğer moleküler ayırım tekniklerinden olan izoenzim tekniklerine oranla daha güvenilirdir.

Genetik işaretleyiciler, kromozomlar boyunca genlerin sıralanışını tespit etmek için genetik haritalamada kullanılmışlardır. 1913'te, Alfred H. Sturtevant meyve sineğinde (*Drosophila melanogaster*) 6 adet morfolojik özelliği kullanarak ilk genetik haritayı oluşturmuş ve hemen sonra Karl Sax fasulyede bir kalitatif ve bir kantitatif (tohum rengi-tohum büyüklüğü) özellik arasında genetik linkage oluşturmuştur (Andersen ve Lübberstedt 2003). Bu öncü çalışmalardan bu yana morfolojik işaretleyicilerden genetik işaretleyiciler geliştirilmiştir. Günümüzde genetik işaretleyicilerden, hem basit bitki araştırmalarında hem de çeşitliliğin korunması, uygun allellerin introgresyonunu sağlayan işaretleyicilerin seçilmesi, gen izolasyonu ve bitki genetik özelliklerinin bitki ıslahında kullanılmasında yararlanılmaktadır. Genotipler arasındaki genetik benzerlik ya da farklılıklar, yeni genetik kombinasyonlar oluşturulurken materyal olarak ıslahçının neyi kullanacağı konusunda karar vermesine yardımcı olabilir (Hall et al 1994).

Mikrosatelit olarak adlandırılan DNA sekansları (SSR); ökaryotik ve bazı prokaryotik organizmalarda genoma dağılmış, ardışık olarak tekrarlanan ve genellikle 2 ile 6 nükleotid uzunluğundaki gruplardan oluşmaktadır. Bu gruplar, örneğin (AT)_n, (GT)_n, (ATT)_n veya (GACA)_n şeklinde gösterilmekte ve "n" ardışık tekrar sayısını belirtmektedir. Mikrosatellitleri çevreleyen DNA dizileri, genellikle aynı türün bireyleri arasında temelde korunmuş oldukları için iki PCR primeri ile çoğaltılarak genotiplerin karşılaştırılmasına izin verir. Ardışık SSR tekrarlarının sayısındaki farklılık, PCR sonucu farklı uzunlukta DNA parçalarının çoğaltılması ile sonuçlanır. Bu tekrarlar, çok yakın tür ve çeşitler arasında dahi tekrarlanan ünitelerin sayısında değişikliğe yol açan DNA farklılıkları nedeni ile oldukça polimorfiktir. SSR'ları çevreleyen korunmuş DNA

dizileri primer olarak kullanılarak PCR metodu yardımıyla herhangi bir lokustaki farklı alleller tespit edilebilir. Bu teknik, polimorfizm oranının yüksek düzeyde olması nedeniyle bitki ve hayvanlarda oldukça fazla bilgi edinilmesini sağlayarak genetik haritalama çalışmalarında kullanılabilir (Karaca 2001). Bitki mikrosatellitlerinin izolasyonu ve klonlaması ile ilgili ilk sonuçlar tropikal çay türleri ile yapılan bir çalışmadan, 1991 yılında elde edilmiştir. Zamanla insanlarda, diğer memelilerde ve bitkilerde genetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Mikrosatellitler; spesifik mikrosatellitler için oluşturulan zenginleştirilmiş kütüphanelerden, cDNA kütüphanelerinden ve genomik DNA kütüphanelerinden direkt olarak izole edilebilirler ya da *P. vulgaris* ve *Vigna sinensis*'de Yu vd (1999)'nin daha önce yaptıkları gibi gen bankalarındaki depolanmış sekanslardan da elde edilebilir. Ayrıca ko-dominant işaretleyici verir ve PCR kolaylığına sahiptir. Bu tekniğin en büyük dezavantajı ise, yeni primerlerin geliştirilmesinin zor olmasıdır.

SSR tekniğinin otomasyonu sağlanabilmiştir yani; allel veya lokusların büyüklükleri tek baz uzunluğu düzeyinde belirlenebilmekte ve insan hatası olmadan doğru şekilde analizler gerçekleştirilebilmektedir (Karaca 2001). SSR, PCR'a dayalı bir teknik olduğundan kolay ve çok az miktarda DNA ile gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca SSR tekniğiyle hem fonksiyonel hem de yapısal genomların araştırılması mümkündür (Karaca 2001, Saha vd 2001, Saha vd 2003, Karaca vd 2004). SSR'ların çoklu allel özellikleri olduğu için polimorfizm içerikleri oldukça yüksektir. Ko-dominant özelliği ile homozigot genomları heterozigotlardan kolayca ayırt edebilmektedir (Karaca vd 2004).

ISSR 'ların yüksek derecede polimorfizm verdiği düşünülmektedir. Çeltikte, ISSR ile elde edilen polimorfik bantların yüzdesinin AFLP ile elde edilen yüzdeden daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bundan dolayı, ISSR'lar çeşitler arasındaki farklılıkların belirlenmesi için daha uygundur. Benzer çalışmalar buğday, çilek, elma, frenk üzümü ve soyada yapılmıştır ve genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ISSR'ın RAPD'den daha çok polimorfizm verdiği tespit edilmiştir (Rakoczy-Trojanowska ve Bolibok 2004).

PCR'a dayalı işaretleyiciler, hibridizasyona dayalı işaretleyicilerden daha kullanışlı ve hızlıdır. RAPD işaretleyicileri, fasulyede populasyon ve hastalık genlerinin analizi için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, RAPD işaretleyicilerinin bir laboratuvarından diğerine transferinin zor olması ve en küçük değişikliğe karşı olan hassasiyeti bu yöntemin en büyük dezavantajını oluşturmaktadır. Mikrosatellitler, PCR'a dayalı işaretleyicilerdir ve RFLP ile aynı değerlendirme gücüne sahiptirler (Murray vd 2002).

Fasulye; kendine döllen bir türdür, % 1'den daha az oranda yabancı döllenme görülür ya da hiç görülmez. Kendine döllenmeden dolayı daha önce kullanılan RFLP ve izoenzim gibi genetik işaretleyiciler sınırlı bilgi vermektedirler (Guerra-Sanz 2004). Günümüzde soya, nohut, börülce, yer fıstığı ve fasulye'nin mikrosatellitleri mevcuttur ancak soya fasulyesi haricinde baklagillerin çoğunda mikrosatellit sayısı günümüzde artmaktadır (Blair vd 2003).

Yetiştiriciliği yapılan ürünlerin yabanileri hastalıklara dayanıklılık, strese adaptasyon ve çeşitlilik kaynağı olarak bilinmektedir. Bu durum *P. vulgaris* için de geçerlidir. Torres vd (2004)'nin yaptığı çalışmada Kosta Rika'nın orta vadisinden toplanan yabancı fasulye populasyonu incelenmiş ve farklı polimorfizm seviyeleri tespit edilmiştir. Çalışmada fenotipik biyokimyasal işaretleyiciler bu populasyonların Orta Amerika gen havuzuna ait olduğunu açıkça ortaya koymuştur. Farklı işaretleyiciler, bazı yabancı populasyonlarda genetik farklılıkta bir yükselme olduğunu göstermiştir ki bu da kültüre alınmış çeşitlerde introgression olduğunu ve gen akışının meydana geldiğini desteklemektedir.

Son yıllarda, genetik farklılık çalışmaları için kullanılan mevcut moleküler tekniklerin sayısı hızla artmaktadır. Metais vd (2000)'nin yaptığı çalışmada RFLP, DAMD-PCR, ISSR ve RAPD işaretleyicileri kullanılarak 24 adet *P. vulgaris* genotipi arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmış ve bir primer ile % 60'lık polimorfizm seviyesi elde edilmiştir.

Solis vd (2002), fasulyede farklılık karakterizasyonu ve haritalama yapmak için mikrosatelit lokus taşıyan DNA parçalarını izole etmiş, klonlamış ve sekanslamışlardır. 213 primer çifti test edilmiş, 68 mikrosatelit lokusta 584 allel bulunmuştur. *P. vulgaris*'in 21 bireyi arasında polimorfizmi bulmak için 68 primer kullanılmıştır ve *P. vulgaris*'te genetik çeşitliliği belirlemek için mikrosatelitlerin değerli olduğunu bildirmişlerdir.

Arjantin'in kuzeybatı bölgesinden toplanan 21 yabani fasulye popülasyonunun genetik yapısının incelendiği bir çalışmada toplam 128 bitkide çalışılmıştır. Moleküler işaretleyiciler ve dayanıklılık testleri kullanılarak popülasyonların genetik çeşitliliği incelenmiştir. Ayrıca, 3 phaseolin tipi kullanılmış ve bunlardan T tipinin hem yabani hem de kültüre alınmış And Dağları gen havuzuna ait fasulyelerde yaygın olarak bulunduğu saptanmıştır. Fasulyenin en önemli hastalıklarından biri olan antraknoza dayanıklılık için yüksek seviyede polimorfizm elde edilirken RAPD ve phaseolin için elde edilen polimorfizm zayıf olmuştur. 60 adet RAPD primerinin kullanıldığı çalışmada sadece 5 primer (C10, D8, E12, E18, F10) polimorfik bant vermiştir. RAPD mesafeleri ile coğrafik mesafeler arasındaki korelasyon zayıf olmakla (0.2) birlikte önemli bulunmuştur. Tüm özellikler için popülasyonlar arasında farklılık önemli olarak bulunmasına rağmen RAPD işaretleyicilerden ve dayanıklılık testlemelerinden elde edilen veriler neticesinde popülasyonlar arasında korelasyon tespit edilememiştir. (Cattan-Toupance vd 1998).

Sicard vd (2005), İtalya'nın Marche Bölgesi'nde geleneksel tarım yapılan 12 çiftlikten topladıkları 9 *P. coccineus*, 14 *P. vulgaris* olmak üzere toplam 23 fasulye çeşidinde genetik farklılıkları araştırmışlardır. Araştırmada 23 yerel çeşit, 66 genotip ile temsil edilmiştir. Lazio (Orta İtalya) Bölgesi'nden getirtilen 2 genotip ve kontrol olarak 3 Amerikan aksesyonu (Midas, BAT93, JaloEEP588) araştırmaya dahil edilmiştir. Bunlara ilaveten yabani ve ıslah edilmiş ikişer fasulye çeşidi (W617476, PI312009, PI417611, PI430179) ile birlikte ayrıca CpSSR analizi için Orta ve Güney Amerika'dan 29 genotip daha ilave edilmiştir. Araştırmacılar; nötr nükleer moleküler işaretleyiciler olarak ISSR'ı, nükleer moleküler işaretleyiciler olarak gen sekanslarından geliştirilen SSR'ı ve sitoplazmik işaretleyiciler olarak ise CpSSR'ı kullanmışlardır. Çalışmada; (a)

yaygın olarak yetiştirilen iki fasulye türünde farklılıkları görüntülemek için yeni işaretleyicilerin denenmesi ve saptanması, (b) Avrupa'nın tek bir bölgesinde (Marche) bölgesel olarak yaygın şekilde yetiştiriciliği yapılan iki türün genetik farklılıklarının kıyaslanması ve tahmin edilmesi, (c) bu bölgede yetiştirilen *P. vulgaris*'in gen havuzunun saptanması ve (d) Avrupa'da iki fasulye gen havuzu ve iki *Phaseolus* türü arasındaki potansiyel hibridizasyonun saptanması amaçlanmıştır. Araştırmacılar; 8 SSR, 5 ISSR ve 10 CpSSR işaretleyici kullanmışlardır. *P. vulgaris* ve *P. coccineus*, ISSR işaretleyicileri için benzer polimorfizm seviyesine sahip olmasına rağmen SSR, CpSSR işaretleyicileri ve morfolojik özellikleri bakımından *P. vulgaris*'in daha polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, Marche'da her iki gen havuzunun da bulunduğunu ancak And Dağları gen havuzunun bölgede daha baskın (% 71) olduğunu saptamışlardır. Ayrıca gen havuzları arasında hibridizasyon olduğuna dair kanıtlara da ulaşmışlardır. SSR işaretleyicileri ile elde edilen polimorfizm, lokusa bağlı olarak değişkenlik göstermiş ve lokus başına düşen allel sayısı 2-11 arasında değişmiştir. SSR işaretleyicileri ile ortaya çıkartılan genetik farklılıkların *P. vulgaris* genotipleri arasında *P. coccineus* genotipleri arasındakine kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Caixeta vd (2005), DNA kaynağı olarak BAC klonları kullanarak fasulye için SSR işaretleyicileri geliştirmişlerdir. Bunun için 6 tanesi antraknozun farklı ırklarına dayanıklılık gösteren çeşitler (BAT 332, Cornell 49-242, Mexico 54, Mar-2, AND 277, Ruda) olmak üzere toplam 10 fasulye çeşidi kullanmışlar ve Doyle and Doyle (1990) metodunu uygulayarak DNA izolasyonu yapmışlardır. Bunun için dört klon (78K17, 53Eg, 56P12, gF11) kullanılmıştır, üç farklı prob [(AT)₁₅, (CT)₁₅, (ATT)₁₀] ile hibridize edilmiş ve pozitif klonlar sekanslanmıştır. Spesifik primerler dizayn edilmiş ve fasulye genotipleri için test edilmiştir. 21 primer çifti (toplam primer sayısının % 72.4'ü) çoğalmış ve iyi tanımlanmış bantlar vermiştir. Lokus başına düşen allel sayısı 1-6 arasında değişmiştir. Pvat010, tekrar sayısı en fazla olan primer çiftidir ve en büyük allelik varyasyonu göstermiştir.

Weber (1990)'e göre bir mikrosatellitteki allel sayısı genellikle tekrar sayısı ile korelasyon içindedir ve genelde tekrar sayısının yüksek olması yüksek polimorfizm elde edilmesini sağlamaktadır. Bununla birlikte bu çalışmada sadece üç tekrara sahip

Pvtaaa003 ve Pvtaaaa001 gibi primerler iki allel verirken 11, 6, 5 tekrara sahip sırasıyla Pvag006, Pvtaa002 ve Pvatt004 primerleri monomorfik bantlar vermişlerdir. Buda bize tekrar sayısı ile tespit edilen allel sayısı arasında korelasyon olmadığını göstermektedir. Bu çalışmada, (TAAA)₃ gibi az sayıda tekrara sahip mikrosatellitler ile polimorfizmler tespit edilmiştir. Böylece tekrar sayısı az olan mikrosatellitlerin fasulyede polimorfik SSR işaretleyiciler geliştirmek için önemli bir kaynak olduğu ispatlanmıştır. Geliştirilen bu setin, fasulye genetik ve ıslah çalışmalarında önemli bir araç olduğu ortaya konmuştur.

Bir diğer çalışmada, 152 RAPD, 32 RFLP, 12 SCAR ve 1 adet morfolojik işaretleyici kullanılarak fasulye için genetik harita oluşturulmuştur. Bu haritayı oluşturmak için, And Dağları gen havuzuna ait Andecha ile Orta Amerikan gen havuzuna ait A252 genotiplerinin çaprazlanması sonucu elde edilen 85 bireyin oluşturduğu F₂ popülasyonu kullanılmıştır. Ortalama 7.1 cM uzaklığa sahip olan ve yaklaşık 1401.9 cM uzunluğundaki bu harita; antraknoz, fasulye yaygın mozaik virüsü, fasulye altın mozaik virüsü, adi yanıklığı ve fasulye pası hastalıklarına dayanıklılık genlerine bağlı işaretleyicileri içermektedir. Antraknozun 6, 31, 38, 39, 65 ve 357 ırklarına dayanıklılık, F₃ ailesinde değerlendirilmiştir. Antraknoza dayanıklılık açısından oluşturulan harita, B1’de OF10₅₀₀ RAPD işaretleyicileri (muhtemelen Co-1’e bağlanan OF10₅₃₀ ile aynı), B11’de OQ04₁₄₀₀ (Co-2’ye bağlanan OQ04₁₄₄₀ ile eş değer) ve B7’de OZ04₅₅₀ (Co-6’ya bağlı) işaretleyicileri içermektedir. SCAR primer çiftleri; SB12, SI19 ve SW12 ile RAPDs; OAH18₁₁₀₀ ve OY17₁₁₀₀, Co-3/Co-9 dayanıklı lokusun civarına yerleşmişlerdir. Daha önceki bir çalışmada, SI19 ve OY17₁₁₀₀ işaretleyicilerinin fasulye pasına dayanıklılık geni Ur-5’e ve SW12 primer çiftinin ise fasulye altın mozaik virüsüne dayanıklılık genine bağlı olduğu belirtilmiştir (Miklas vd 2002). Fasulye için mevcut harita, fasulye mozaik virüsüne dayanıklılık lokusuna bağlı moleküler işaretleyicileri içermektedir; SW13 B2’deki I genine, RoC11 B6 üzerindeki bc-3 genine ve SBD5 ise B3 üzerindeki bc-1³ genine bağlıdır. Fasulye adi yanıklığına dayanıklılık için SAP6 B10’da ve BAC6 B2’de haritalanmıştır (Rodriguez-Suárez vd 2006).

Yine Rodríguez-Suárez vd (2008)'nin yaptıkları araştırmada, Mexico 222 (19, 31 ve 38 ırklarına dayanıklı) ve Widusa (38, 65, 73, 102 ve 449 ırklarına dayanıklı) çeşitlerinin çaprazlanmaları sonucu elde edilen F₃ ailesi, antraknoz 19, 31, 38, 65, 73, 102 ve 449 ırklarına dayanıklılığı belirlemek amacıyla değerlendirilmiştir. Moleküler işaretleyici analizleri, üzerinde çalışılan çeşitlerde bulunan antraknoza dayanıklılık genlerinin teşhis edilmesi için Mexico 222 ve Widusa çeşitlerinin çaprazlanması ile elde edilen 103 F₂ bireyinde yürütülmüş olup 3 moleküler işaretleyici kullanılmıştır. Bunlar; (1) BMGV dayanıklılık geni, bmg-1, ve antraknoza dayanıklılık geni, Co-3/Co-9, ile bağlanan SW12 SCAR primer çifti, (2) antraknoza dayanıklılık geni, Co-3/Co-9, ile bağlanan OAH18 RAPD primeri ve (3) daha önce B4 linkage grubunda haritalanmış PVctt001 SSR primer çiftidir. Sonuçlar; Mexico 222 çeşidinde 19, 31, ve 38 ırklarına dayanıklılığın daha önce Co-3/Co-9 kümesi olarak tarif edilen, B4 linkage grubunda yer alan ırka özel tek bir dominant gen tarafından ifade edildiğini, Widusa çeşidinde 65, 73, 102 ve 449 ırklarına dayanıklılığın da aynı Co-3/Co-9 kümesinin farklı bir haploidi tarafından temsil edilen dominant bir gen ya da genler tarafından ifade edildiğini göstermiştir. Widusa çeşidinde 38 ırkına dayanıklılığın ise Co-3/Co-9 kümesinden bağımsız bir pozisyonda yer alan tek bir dominant gen tarafından ifade edildiği sonucuna varılmıştır.

Métais vd (1998), fasulye genomik DNA'sından çoğalan ve OPG9–130 olarak adlandırılan 130 bp uzunluğundaki bir DNA parçasının karakterizasyonunu ve klonlanmasını yapmışlardır. Bu parça, 15 bp uzunluğunda 7 tekrar içeren bir minisatellit DNA'sına karşılık gelmektedir. Southern analizleri, 15 bp uzunluğundaki çekirdek sekansın genom boyunca dağılan kümelerde tekrarlandığını göstermiştir. Bu parçanın prob olarak kullanılması, DNA parmak izi yöntemiyle fasulye hatlarının tanımlanmasına olanak sağlamıştır. OPG9–130, fasulye türleri ve hatları arasındaki genetik ilişkinin analizi için olduğu kadar hatların teşhisi için de faydalı olacağı sonucuna ulaşılmıştır.

Bir diğer çalışmada ise, *P. vulgaris*'in Perola çeşidine ait tek bir bitkisinin DNA'ları, Tsp 509 enzim kesilmesi ile oluşturulmuş, plazmid vektörlerdeki rekombinant klonlar *Escherichia coli* hücreleri içine aktarılmış ve SSR'a sahip koloniler

çoklu AG/TC prob hibridizasyonu ve anchor PCR ile tanımlamıştır. Pozitif klonlar seçilmiş ve sekanslanmıştır. Bu çalışma için hibridizasyonla görüntülenen 286 SSR pozitif rekombinant koloni dikkate alınmıştır ki bunların 145'i seçilmiş ve anchor analizinden sonra 100 tanesi bilgilendirici bulunmuştur. Toplam 91 klonun bir alt örneği sekanslanmıştır ve 28 tanesi SSR primer dizaynı için yeterli yakınlıkta DNA sekansı göstermiştir. Bunlardan 20 primer çifti sentezlenmiş ve amplifikasyon koşulları test edilmiştir. Geliştirilen 20 primer çiftinin 10 tanesi fasulye gen bankasından alınan 85 aksesyon örneği kullanılarak karakterize edilmiştir. Buna göre işaretleyici başına düşen allel sayısı 3-10 arasında değişirken, PBI değeri 0.23-0.80 arasında değişkenlik göstermiştir. Bu sonuçlar, yeni işaretleyicilerin fasulyenin genetik analizlerinde kolaylıkla kullanılabileceğini göstermiştir (Buso vd 2006).

Solis vd (2002), fasulyedeki çeşitliliği karakterize etmek ve haritalamak amacıyla, mikrosatellit tekrarları belirlemesi ve bunların ayırt edebilme gücünü (D_L) tespit etmeyi amaçlamışlardır. Bunun için, fasulyede genetik çeşitlilik karakterizasyonu ve haritalama yapmak için mikrosatellit lokus taşıyan DNA parçalarını izole etmişler, klonlamışlar ve sekanslamışlardır. Hem Orta Amerika hem de And Dağları gen havuzuna ait yabani ve kültürü yapılan fasulyelerden oluşturulan 21 *P. vulgaris* genotipinin kullanıldığı çalışmada 213 primer çifti test edilmiş, 68 mikrosatellit lokusta 584 allel bulunmuştur. 59 dinükleotid, 4 trinükleotid, 1 tetranükleotid, 1 penta nükleotid ve 3 bileşik tekrar bulunurken 14 lokus monomorfik olarak tespit edilmiştir. Mikrosatellit lokus başına 1-14 allel, her primer çifti başına ise ortalama 6 allel elde edilmiştir. Hemen hemen tüm mikrosatellit lokusları yüksek seviyede D_L göstermiş ve sonuç olarak *P. vulgaris*'te genetik çeşitliliği belirlemek için mikrosatellitlerin değerli olduğu bildirilmiştir.

Portekiz'de yapılan bir çalışmada; antraknoza, fasulye pasına ve köşeli yaprak lekesi (ALS) patojenlerine dayanıklılık hususunda Carioca tipinin 31 genotipinde fenotipik ve moleküler karakterizasyon yapılmıştır. Moleküler karakterizasyon çalışmaları için SCARF10, SCARY20, SCARAZ20, SCARH13 ve OPX11 işaretleyicileri kullanılmıştır. *Colletotrichum lindemuthianum* (antraknoz)'un 13 ırkı, *Uromyces appendiculatus* (fasulye pas)'un 2 ırkı ve *Pseudocercospora griseola* (köşeli yaprak lekesi)'nın 5 ırkı inokule edilmiştir. Üzerinde çalışılan fasulye genotiplerinden 7

tanesi *C. lindemuthianum*'un 12 ırkına karşı, 9 tanesi *P. griseola*'nın 5 ırkına karşı ve 10 tanesi de *U. appendiculatus*'un her iki ırkına karşı dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (de Melo vd 2008).

SSR lokuslarından yeni primer çiftleri tespit etmek, yeni primerleri test ederek polimorfizm kapasitelerini saptamak amacıyla Guerra-Sanz (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, 2 adet *P. coccineus* ve 10 adet *P. vulgaris* genotipinde toplam 20 SSR primer çifti denenmiştir. Bu SSR'ların 12 tanesinde dinükleotid tekrarlar, 8 tanesinde ise trinükleotid tekrarlar bulunmaktadır. Farklı sıcaklıklar denenmesine rağmen bu lokuslardan 2 tanesi amplifike olmamıştır. En fazla bilgi veren lokus 7 alleli ile Drought1'dir. *P. coccineus* aksesyonları ile denen 6 SSR lokusu, *P. vulgaris* aksesyonlarında yapılan denemelerinde farklı amplifikasyonlar vermişlerdir ve bundan dolayı türlerin tanımlanmasında kullanılabilirler. En fazla bilgi veren lokus, çeşit belirlemek amacıyla kullanılabilir.

Metais vd (2000), 24 ticari *P. vulgaris* hattı arasındaki yakınlığın ve polimorfizmin tespit edilmesinde RFLP, DAMD-PCR, ISSR ve RAPD işaretleyicilerinin etkinliğini araştırmışlardır. Prob olarak *Phaseolus*'a özel minisatellit sekans kullanılmıştır ve sekans bilgilerine dayalı olarak elde edilen primerleri, fasulyeye özel minisatellit core sekansı ile ilişkili olarak daha sonraki PCR amplifikasyonlarında kullanmışlardır. İnceledikleri DAMD-PCR iki *P. vulgaris* aksesyonu arasında ve iki fasulye türü arasındaki genetik varyasyonu tespit etmekte hassasken, tek başına kullanıldığında amplifike olmuş lokus sayısının azlığından dolayı kültürü yapılan fasulye hatları arasındaki genetik varyasyonu tespit etmede sınırlı kalabildiğini görmüşlerdir. Oluşturulan çoklu bant profillerinde test edilen 5 ISSR primerinden sadece bir tanesi etkin olmuştur ki bu da tüm fasulye hatlarının birbirinden ayırt edilmesinde yetersiz kalmıştır. Araştırmada tekrarlanabilir RAPD profilleri elde edilmiş ve bu 7 primer ile test edilen tüm fasulye genotiplerinin birbirinden ayırt edilmesine olanak sağladığını bildirmişlerdir. Sonuçta ticari fasulye hatları arasındaki genetik farklılıkları açıklamak için sadece RAPD ve RFLP'den elde edilen sonuçları kullanmışlardır. Her iki analiz de fasulyelerin coğrafik orijinlerine göre aynı kümelerin oluşturulmasını sağlamıştır.

Yu vd (1999), yaptıkları bir çalışmada fasulye genomunda SSR sekanslarının oldukça fazla olduğunu göstermişlerdir. Daha sonra yaptıkları bir diğer araştırmada (Yu vd 2000), 37 primer çifti sekanslamışlar ve bunları 12 fasulye genotipinde analiz etmişlerdir. 37 SSR lokusunun 24 tanesi, 2-10 allel ile polimorfik, 12 tanesi monomorfik olduğu ayrıca polimorfik lokusların 13 tanesinin (% 54) diallelik oldukları tespit edilmiştir. Toplam 37 SSR primer çiftinden, 15 tanesi ikili tekrarlara, 9 tanesi üçlü tekrarlara, 12 tanesi dörtlü tekrarlara ve 1 tanesi de altılı tekrarlara sahiptir. Bu primerlerden ikili tekrara sahip 15 primer çiftinden 1 tanesi, 9 primer çiftinden 6 tanesi dörtlü tekrara sahip 12 primer çiftinden ise 5 tanesi üzerinde çalışılan 12 fasulye genotipinde polimorfik bulunmuştur. Bu çalışmada polimorfizimler, (AT)₅ ve (GAAT)₃ gibi kısa tekrarlar ile tespit edilmiştir ve daha kısa basit tekrarlı DNA sekanslarının fasulyede polimorfik SSR işaretleyicilerin geliştirilmesi için önemli kaynaklar olduğu kanıtlanmıştır. Araştırmacılar, bu primer çiftlerinin, fasulyenin işaretleyicilere dayalı seleksiyonu, genetik tanılama ve genetik haritalama için kullanılabilir olmasını BElediklerini belirtmişlerdir.

Mikrosatellitlerin başlıca dezavantajı, oluşturulabilmeleri için zaman ve paraya ihtiyaç duyulmasıdır. Fisher vd (1996), harcanan paranın azaltılmasını sağlayan yeni bir teknoloji geliştirmişlerdir. Buna göre, mikrosatellitler için oluşturulan zenginleştirilmiş genomik kütüphaneden genomik DNA klonlanmış ve bundan da mikrosatellit-rich olarak adlandırılan yeni bir teknik geliştirilmiş olup bu teknik sadece bir spesifik primer ile genomik amplifikasyona izin vermektedir.

Lioi vd (2005), İtalya'nın 7 yerel fasulye ırkına ait 33 yerel populasyon içinde ve arasında bulunan varyasyon seviyesini SSR ve AFLP metodlarını kullanarak ortaya koymuşlardır. Çalışmada 16 SSR primer çifti kullanmışlardır. Bunlardan 14 tanesinde lokus başına 2-11 allel tespit edilmiştir. En yüksek polimorfizm seviyesi PV18791 (11 allel) lokusunda, daha sonra PVGLND5 ve PVME1G (7 allel) lokuslarında elde edilmiştir. SSR sonuçlarına göre tüm populasyonlar incelendiğinde iki gruba ayrıldıkları ve And Dağları gen havuzuna ait olanlarda varyasyonun oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. İncelenen 7 ırkın 6 tanesi And Dağları gen havuzuna, 1 tanesinin Orta Amerika gen havuzuna ait olduğunu saptanmıştır. SSR sonuçları ile AFLP sonuçları

benzerlik göstermiştir. SSR uygulamaları için Nei'nin genetik uzaklıklar ve AFLP için Jaccard'ın benzerlikler indeksi temel alınarak yapılan kümeleme analizlerine göre tüm populasyonlar And Dağları ve Orta Amerikan olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Araştırma sonuçları, yerel ırkların önemli oranda heterojenliğe sahip olduklarını göstermiştir. Araştırmacılar, yerel ırkların genetik yapıları ile ilgili bilgilerin, yerel genetik kaynakların genetik doğruluğunun korunması ve aynı zamanda geliştirilmesi açısından son derece önemli olduğunu belirtmişlerdir.

Dörtlü nükleotid tekrarından oluşan bir SSR primer çifti (PV-tttc001), *Xanthomanas axonopodis* pv. *phasoli* (Xap) tarafından enfekte edilen fasulye yaygın bakteriyel yanıklığına (CBB) dayanıklılık sağlayan bir major gen ile sıkı bir şekilde bağlıdır. Bu SSR, fasulye nitrat indirgeyici geni (NR)'nin üçüncü intron bölgesinde yer almaktadır. Yu vd (2004)'nin yaptığı çalışmada, hassas OAC95 ile yüksek derecede dayanıklı HR67 çeşitlerinin çaprazlanması sonucunda alınan tek bir tohumdan elde edilen 112 F₅ hattı kullanılmıştır. Tüm dayanıklı hatlarda 161 bp uzunluğunda bant veren bu primer çifti, hassas olan hatlarda daha uzun bant vermiştir. Sonuç olarak bu primer çifti, popülasyondaki fenotipik varyasyonun yaklaşık % 70'ini açıklamaktadır.

Correa vd (2000) yaptıkları çalışmada fasulye pası hastalığına (*Uromyces appendiculatus*) dayanıklılık ile ilgili iki RAPD işaretleyicisini belirlemişler ve bunlardan yüksek derecede tekrarlanabilir SCAR işaretleyicileri geliştirmişlerdir. Fasulye pası hastalığının birçok ırkına dayanıklı olduğu tespit edilen Ouro Negro ve hassas bir çeşit olan US Pinto 111'in çaprazlaması sonucu elde edilen 303 F₂ bireyinden izole edilen DNA örneklerinde SCARF10 (5' GGA AGC TTG GTG AGC AAG GA 3' ve 5' GGA AGC TTG GCT ATG ATG GT 3') ve SCARBA8 (5' CCA CAG CCG ACG GAG GAG 3' ve GCC ATG TTT TTT GTC CCC 3') işaretleyicileri kullanılarak PCR analizi yapmışlardır. SCARF10 ve SCARBA8 işaretleyicilerinin pasa dayanıklılık lokusundan sırasıyla 4.3 ± 1.2 ve 6.0 ± 1.3 cM uzaklıkta olduğunu tespit etmişlerdir. Belirtilen SCAR işaretleyicileri diğer işaretleyicilerle kombine edilerek pasa, antraknoza ve köşeli yaprak lekesine dayanıklılığı tespit etmede ve bunlara ilave olarak Ouro Negro çeşidinin donör olarak kullanıldığı popülasyonlarda istenen bitkilerin

doğrudan seçiminde kullanılmaktadır. Araştırmacılar SCAR primer çiftlerini kullanarak % 100 seleksiyon başarısı elde etmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

3.1.1.1. Morfolojik gözlemler için kullanılan bitki materyali

Bu tez çalışmasında bitkisel materyal olarak, 2001- 2003 yılları arasında Çarşamba Ovası ve Ladik ilçelerinden toplanarak Samsun Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (KTAE)'nde oluşturulan fasulye gen havuzunda yer alan bodur büyüme özelliği gösteren 33 fasulye hattı ve 3 fasulye standart çeşidi (Tamara, Yalova-5 ve Uludağ barbun) kullanılmıştır (Şekil 3.1, Çizelge 3.1). KTAE'den temin edilen tohumlar Antalya'nın Varsak köyünde iki yıl açıkta yetiştirilerek morfolojik gözlemleri UPOV kriterleri dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen ve Antalya koşullarında yetiştirilen fasulyelerin genel görünüşleri

Çizelge 3.1. Morfolojik gözlemleri yapılan hat ve çeşitler ile toplandıkları lokasyonlar

Kod	Hat ve Çeşitler	Toplandığı yer	Kod	Hat ve Çeşitler	Toplandığı yer
1	KO	Samsun merkez	19	19. Ç28	Çarşamba
2	Ç7	Çarşamba	20	Ç20	Çarşamba
3	T11''''''	Terme	21	TK57	Tekkeköy
4	Ç22	Çarşamba	22	Ç33	Çarşamba
5	TK47	Tekkeköy	23	T9	Terme
6	T26	Terme	24	Ç42'	Çarşamba
7	Ç14	Çarşamba	25	Ç16'	Çarşamba
8	TK2	Tekkeköy	26	TK15	Tekkeköy
9	Ç44	Çarşamba	27	T6	Terme
10	TK59	Tekkeköy	28	TK7	Tekkeköy
11	T2	Terme	29	Ç31	Çarşamba
12	Ç24	Çarşamba	30	UB	SÇ*
13	L	Ladik	31	Ç22'	Çarşamba
14	TK32	Tekkeköy	32	X-1	Ladik
15	TK12'	Tekkeköy	33	TK1	Tekkeköy
16	TK12	Tekkeköy	34	T7	Terme
17	T23	Terme	35	Y17	SÇ*
18	TK44	Tekeköy	36	TA	SÇ*

SÇ*: Standart Çeşit

2001- 2003 yılları arasında Çarşamba Ovası'nda yer alan Çarşamba, Terme ve Tekkeköy ilçeleri ile Ladik İlçesinde bulunan toplam 100 köyde KTAE araştırmacıları tarafından fasulye populasyon taraması yapılmıştır (Şekil 3.2). Fasulye, kendine döllen bitkiler grubunda yer aldığı için teksele seleksiyon yöntemine tabi tutulmuştur. 2003 yılında KTAE tarafından toplanmış olan fasulye populasyonlarından gözlem bahçesi oluşturulup taze fasulye özelliğinde olan genotiplerden tek bitki seçimi yapılmıştır. Her bir tek bitki ayrı ayrı torbalara hasad edilmiştir. 2004 yılında bu tek bitkilere ait tohumlar, 5 m uzunluğundaki parsellere 1'er sıra halinde ekilip UPOV (Anonim 1998) kriterlerine göre gözlemleri yapıp uygun olan sıralar seçilerek hatlar tespit edilmiş ve sıralar ayrı ayrı hasad edilmiştir.



Şekil 3.2. Genotiplerin toplandığı Samsun Merkez, Terme,  arsamba, Tekkeköy ve Ladik ilçelerinin harita görüntüsü

Bu çalışmada kullanılan hatlarda  n verim, verim ve bölge verim denemeleri yapılmış ve bazılarında tescil aşamasına gelinmiştir.

3.1.1.1.1. Morfolojik gözlemleri yapılan bitki materyallerinin Antalya koşullarında yetiştirilmesi ve iklim koşulları

2007- 2008 yıllarında iki yıl süre ile Nisan ayının ilk haftasında Antalya'nın Varsak köyünde fasulye hatlarının ve standart çeşitlerin tohum ekimi yapılmıştır. Tohumların ekimi her iki yılda 4 Nisan tarihinde sıra arası 50 cm, sıra üzeri 10 cm olacak şekilde elle yapılmıştır. Araştırmada tesadüf parselleri deneme deseni kullanılmıştır. İlk  ıkışlar gerçekleştikten sonra kök çürüklüğüne karşı sulama suyuna etken maddesi Hymexazol olan Tachigaren ve % 6'lık Etilen Diamin Dihidroksifenil Asetik Asit (EDDHA) şelatlı demir karıştırılarak I. sulama yapılmıştır. II. sulama suyu ile birlikte dekara 2 kg 13-40-13 (N:P:K), 100 g iz element micronate ve 50 g demir setafer verilmiştir. Çiçeklenme döneminde ise dekara 3 kg 18-18-18, 100 g iz element micronate ve 50 g demir setafer verilmiştir. Çiçeklenme döneminde ayrıca 15 gün ara ile 2 kez dekara 500 g çinko sülfat ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) ve 100 g Borax uygulanmıştır.

Fide döneminden itibaren haftada bir defa kırmızı örümcekle mücadele için etken maddesi abamectin olan Agrimec ve etken maddesi bromopropylate olan Neoron, beyazsineğe karşı da etken maddesi Pyriproxyfen olan Admiral ve etken maddesi Acetamiprid olan Mospilan ticari ilaçları uygulanmıştır. Yetiştirme dönemi boyunca 2 kez yeşil kurt ve pamuk yaprak kurdu için etken maddesi Chlorpyrifos Ethyl içeren Dursban 4 ve Malathion ile ilaçlama yapılmıştır. Fungal hastalıklar (külleme, pas, antraknoz vb) için etken maddesi Propineb olan Antrocol’la yetiştirme periyodu boyunca 10 gün ara ile 3 kez ilaçlama tekrarlanmıştır.

Araştırmanın yürütüldüğü 2007- 2008 yıllarında Antalya iline ait bazı iklimsel veriler Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Yetiştiricilik yapılan dönemde Antalya iline ait bazı iklim verileri

Aylar	Ort. Sıcaklık (°C)	Ort. Yağış (kg m ⁻²)	Uzun Yıllar Sıc. Ort. (°C)	Uzun Yıllar Yağış Ort. (kg m ⁻²)
Nisan 2007	17.4	1.6	15.8	64.8
Nisan 2008	17.6	61.4		
Mayıs 2007	21.7	5.2	20.3	32.8
Mayıs 2008	21.1	5.2		
Haziran 2007	27.2	1.4	25.3	8.3
Haziran 2008	27.1	0.6		
Temmuz 2007	29.7	0.2	28.4	3.0
Temmuz 2008	29.5	0.0		

Antalya Meteoroloji İşleri Müdürlüğü (2009)

3.1.1.2. Moleküler karakterizasyonda kullanılan bitki materyali

KTAE’den temin edilen hatların yanı sıra moleküler karakterizasyon için çalışmada faydası olacağı düşünülen bitki materyalleri de kullanılmıştır. Uluslararası kabul görmüş olan antraknoz (*Coletotrichum lindemuthianum*) hastalığının ırklarının tespiti için kullanılan 12’lik antraknoz ayırım setinden Kaboon, Widusa ve Cornell 49-242 çeşitleriyle 1 adet And Dağları gen havuzuna ait (Güney Amerika orijinli) Redland

Pioneer çeşidi moleküler karakterizasyon yapmak için araştırmada kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Moleküler karakterizasyon çalışmalarında kullanılan hatlar ve çeşitler

Kod	Hat ve Çeşitler	Kod	Hat ve Çeşitler	Kod	Hat ve Çeşitler	Kod	Hat ve Çeşitler
1	KO	11	T2	21	TK57	31	Ç22'
2	Ç7	12	Ç24	22	Ç33	32	X-1
3	T11''''''	13	L	23	T9	33	TK1
4	Ç22	14	TK32	24	Ç42'	34	T7
5	TK47	15	TK12'	25	Ç16'	35	TA
6	T26	16	TK12	26	TK15	36	Cornell
7	Ç14	17	T23	27	T6	37	Widusa
8	TK2	18	TK44	28	TK7	38	Kaboon
9	Ç44	19	Ç28	29	Ç31	39	Redland Pioneer
10	TK59	20	Ç20	30	UB		

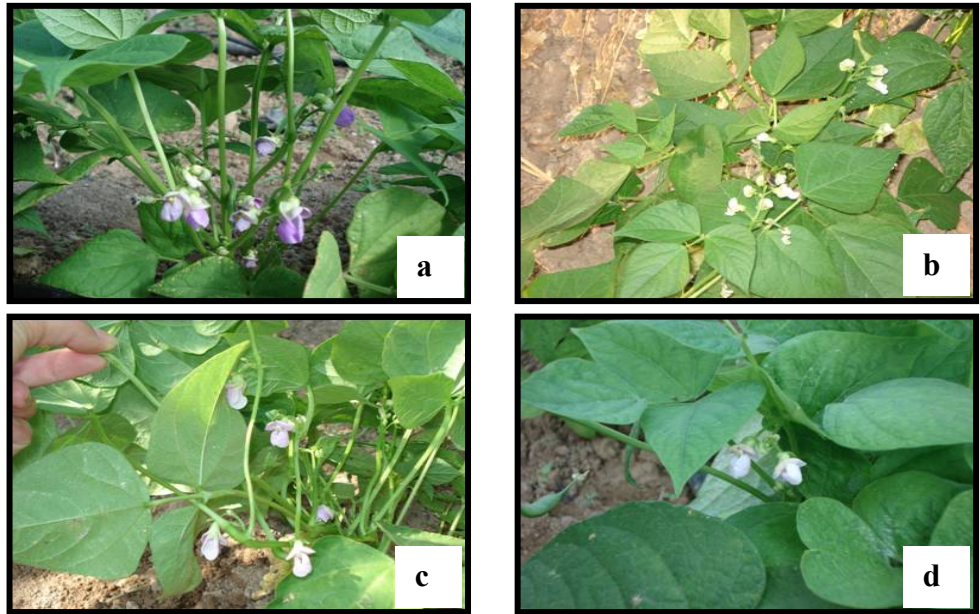
3.2. METOT

3.2.1. Genotiplerin morfolojik olarak değerlendirilmesi

KTAE'den temin edilen fasulye tohumları, 2007 ve 2008 yıllarında iki yıl süreyle, morfolojik gözlemleri yapılmak amacıyla Antalya'nın Varsak köyünde Nisan ayının ilk haftası ekilmişlerdir. Ekim işlemi her tekerrürde 10'ar bitki olacak şekilde, 3 tekerrürlü ve tesadüf parselleri deneme desenine göre gerçekleştirilmiştir. Morfolojik gözlemler bu bitkilerde ve her tekerrürden tesadüfi olarak alınan 10'ar meyvede yapılmıştır. UPOV Kriterlerine (Anonim 1998) göre yapılan morfolojik ve fenolojik gözlemler aşağıda verilmiştir:

1. Çıkış süresi (gün) (ÇS): Tohum ekim tarihinden itibaren bitkinin ilk görülmeye başladığı tarih arasında geçen süre,
2. İlk çiçeklenmeye kadar geçen gün sayısı (gün) (İÇKGS): Tohum ekim tarihinden itibaren ilk çiçeklerin görüldüğü zamana kadar geçen süre,

3. Bakla rengi yoğunluğu (BR): açık yeşil, yeşil, koyu yeşil olarak değerlendirilmiştir.
4. Bakla boyu (cm) (BB): Eğri baklalarda ipe boyu alınarak cetvelle ölçülmüştür.
5. Bakla eni kalınlığı (mm) (BE)
6. Bakla eti kalınlığı (mm) (BETK)
7. Bakla eti şekli (BEŞ): Dar eliptik, eliptik, geniş eliptik, yürek şeklinde, dairesel, sekiz şeklinde olarak değerlendirilmiştir.
8. Bakla kıvrılma durumu (BKD): İçe doğru, 'S' şekline, dışa doğru olarak değerlendirilmiştir.
9. Baklada beneklilik (BBE): Var, yok olarak değerlendirilmiştir.
10. Baklada tohum belirginliği (BTB); Zayıf, orta, kuvvetli olarak değerlendirilmiştir.
11. Bakla ucunun şekli (BUŞ): Sivri, küt olarak değerlendirilmiştir
12. Brakte uzunluğu (mm) (BU).
13. Brakte şekli (BŞ): Dar uzun, geniş uzun, dar kısa, geniş kısa olarak değerlendirilmiştir.
14. Baklanın kılçıklılık durumu (BKD): Var, yok olarak değerlendirilmiştir.
15. Çiçek rengi (ÇR): Beyaz, açık eflatun, eflatun, koyu eflatun olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.3).



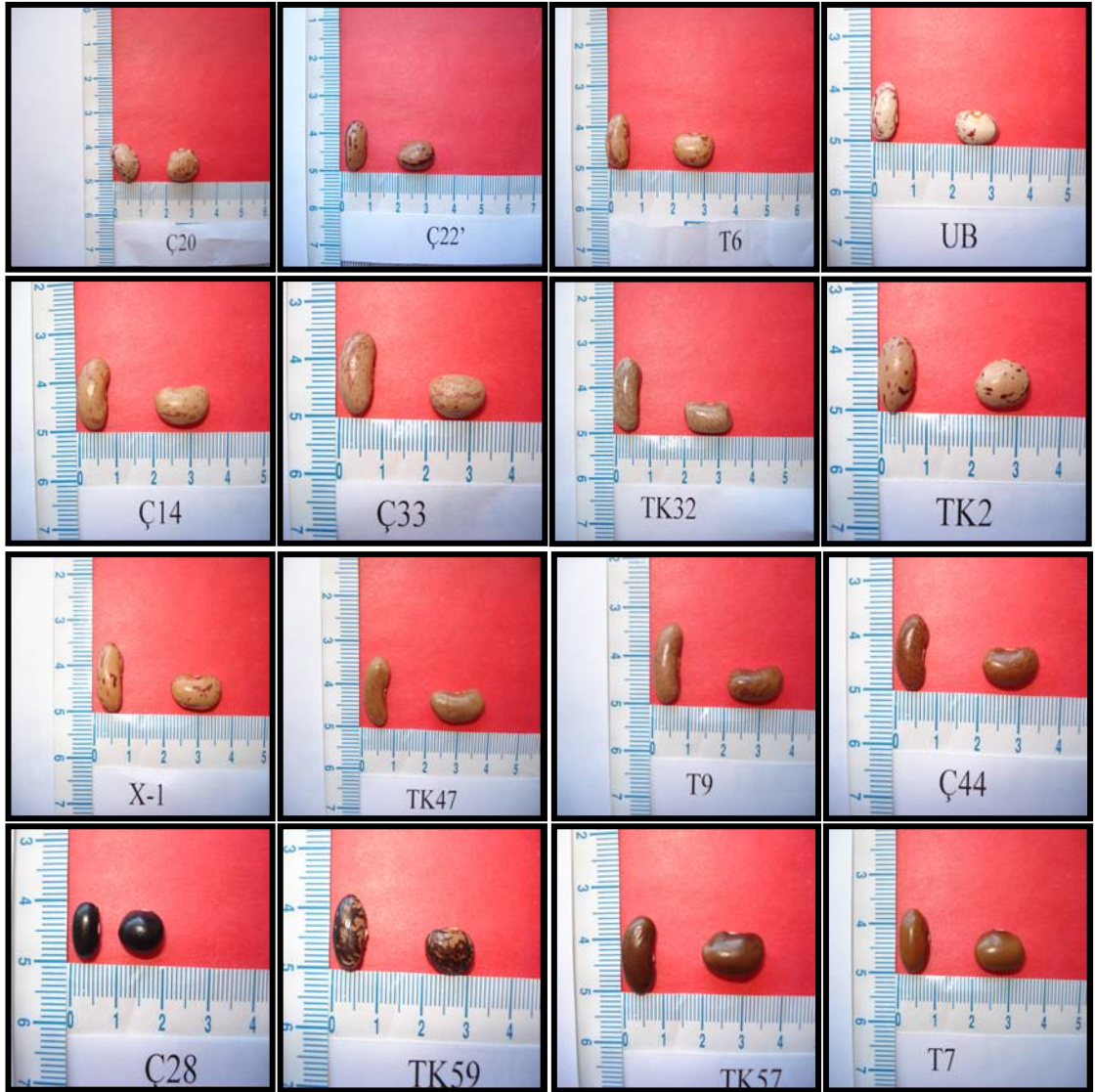
Şekil 3.3. Fasulye bitkilerinde görülen farklı çiçek renkleri (a) koyu eflatun (b) beyaz (c) eflatun (d) açık eflatun

16. Gaga uzunluğu (mm) (GU)

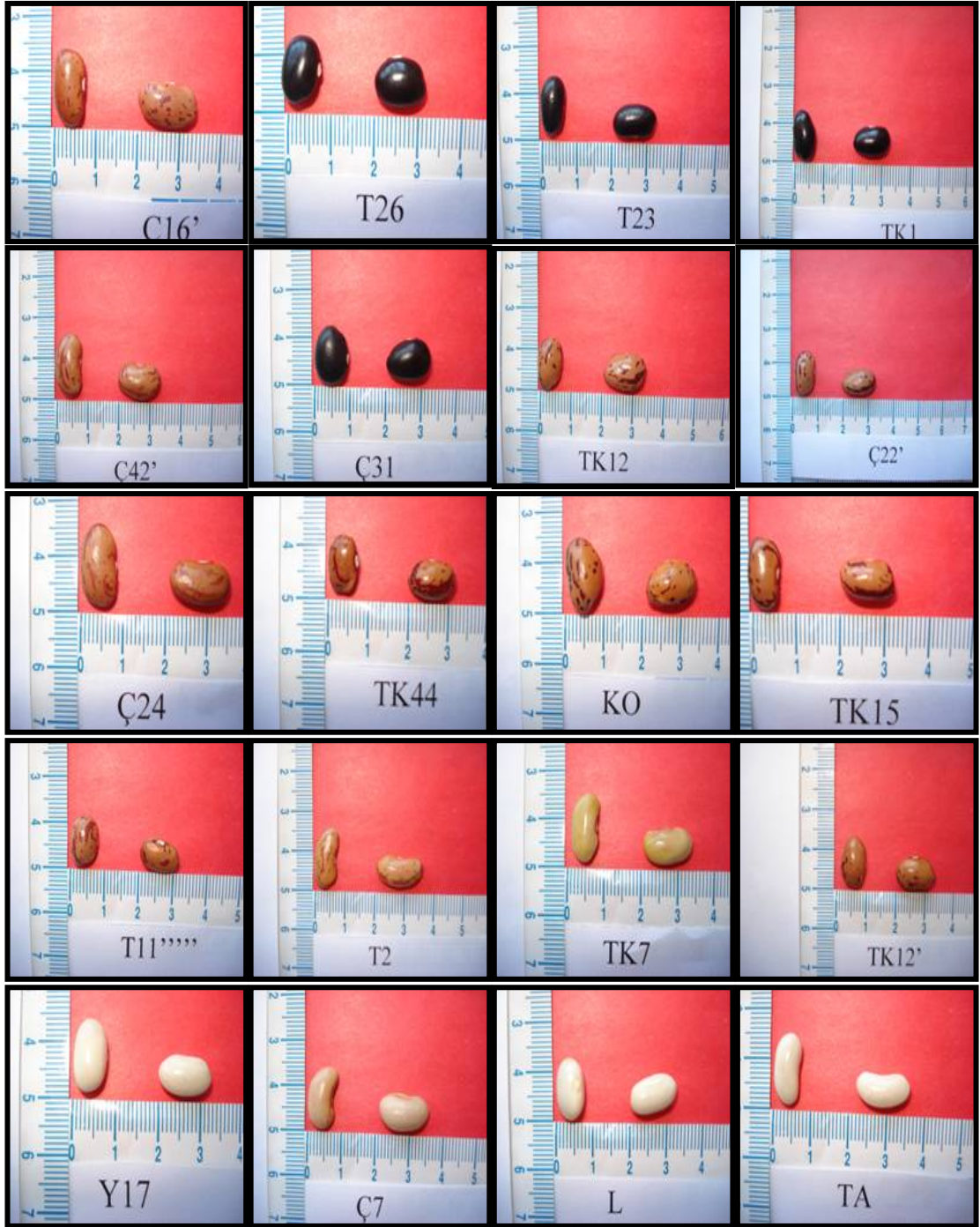
17. Tane rengi (TR); Tek renkli, çok renkli olarak değerdendirilmiştir (Şekil 3.4).

18. Tanenin ana rengi (TAR): Beyaz veya yeşilimsi, gri, sarı, devetüyü rengi, kahverengi, kırmızı, mor, siyah olarak değerdendirilmiştir (Şekil 3.4)

19. Tanede ikinci renk sayısı (TİRS): Beyaz veya yeşilimsi, gri, sarı, devetüyü rengi, kahverengi, kırmızı, mor, siyah olarak değerdendirilmiştir (Şekil 3.4)



Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan farklı renklere sahip bazı fasulye hatlarının tohumlarının görünümü



Şekil 3.6'nın devamı

3.2.2. Genotiplerin moleküler işaretleyiciler kullanılarak değerlendirilmesi

Moleküler karakterizasyon çalışması için öncelikle kaliteli genomik DNA elde edilmesi gerekmektedir.

3.2.2.1. DNA izolasyonunda kullanılan kimyasallar

DNA izolasyon metodunda kullanılan kimyasal solüsyon ve çözeltilerin isimleri ve hazırlanış şekilleri şu şekildedir;

% 1 CTAB 100 ml: İlk olarak % 10'luk CTAB ana stoğu hazırlanır. Bunun için orantı kurularak 1000 ml için 10 g CTAB tartılmış ve % 10'luk stok CTAB çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$ formülü kullanılarak % 10'luk stok CTAB çözeltisinden 10 ml alınarak (% 1 CTAB) izolasyon tamponuna ilave edilmiştir.

Tris-HCl 2 M 100 ml: 24.22 g Tris base 80 ml distile su içinde çözüldükten sonra son hacmi 100 ml olacak şekilde HCl ile pH 8'e ayarlanmıştır. Hazırlanan çözelti otoklavlanmıştır. Aynı şekilde hazırlanan Tris HCl çözeltisinin pH değeri 7.5'a ayarlanarak TE (7.5) tamponunun hazırlanmasında kullanılmıştır.

EDTA 0.5 M 100 ml: 18.61 g EDTA 80 ml distile su içerisinde çözüldükten sonra 1.6 g NaOH ile son hacmi 100 ml olacak şekilde pH 8'e ayarlanmıştır. Hazırlanan çözelti otoklavlanmıştır. Aynı şekilde hazırlanan EDTA çözeltisinin pH değeri 7.5'a ayarlanarak TE (7.5) tamponunun hazırlanmasında kullanılmıştır.

Daha önce hazırlanan 2 M'lık Tris- HCl stok solüsyonundan $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$ formülü kullanılarak 100 ml çözeltide 100 mM olacak şekilde 1 ml izolasyon tamponuna ilave edilmiştir. Aynı şekilde hazırlanan 0.5 M EDTA (pH 8) stok solüsyonundan $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$ formülü kullanılarak 100 ml çözeltide 20 mM olacak şekilde 800 µl izolasyon tamponuna ilave edilmiştir.

1.4 M NaCl 100 ml: 29.22 g NaCl tartıldıktan sonra 80ml 80 ml distile su içinde çözülmüştür. Son hacmi 100 ml olacak şekilde üzeri tamamlandıktan sonra otoklavlanmıştır. Hazırlanan 5 M'lık bu stok çözeltiden $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$

formülü kullanılarak 100 ml çözeltide 1.4 M olacak şekilde 5.6 ml ilave edilmiştir.

Daha sonra PVPP (% 1) ve son olarak BME (% 0.3) ilave edilmiştir.

- TE (pH 7.5): 100 ml TE tampon çözeltisi için; 10 mM Tris HCl (pH 7.5) hazırlanmıştır. Bunun için daha önce 2 M konsantrasyonda hazırlanan *Tris HCl* (pH 7.5) çözeltisinden $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$ formülü kullanılarak 100 ml çözeltide 10 mM *Tris HCl* olacak şekilde 500 µl alınmıştır. Aynı formülle 0.5 M EDTA stok çözeltisinden 200 µl alınarak TE tamponuna 1 mM EDTA ilave edilmiştir.
- TE (pH 8.0): 100 ml TE tampon çözeltisi için; 10 mM *Tris HCl* (pH 8.0) hazırlanmıştır. pH değerleri 8.0'a ayarlanmış *Tris HCl* (2 M) ve EDTA (0.5 M) stok çözeltileri kullanılarak TE (pH 7.5) tampon çözeltisi ile aynı şekilde hazırlanmıştır.
- Chloroform: Isoamylalcohol (24:1) 500 ml: 24:1 oranında hazırlamak için 480 ml chloroform, 20 ml isoamylalcohol ile karıştırılmıştır.
- Sodyum asetat (NaOAc) 3 M, pH 5.2:

1 M	1 l	82.03 g
3 M	1 l	246.09 g
3 M	500 ml	123.1 g

123.1 g NaOAc tartılmış ve 300 ml suda çözülmüştür. Glasiyel asetik asit ile pH 5.2'ye ayarlanmış ve son hacim 500 ml olacak şekilde tamamlandıktan sonra otoklavlanmıştır.
- 20 X Tris Borate EDTA (TBE) Tamponu 1000 ml: 216 g Tris base, 110 g Boric acid, 80 ml 0.5 M EDTA (pH 8.0) alınarak distile su içinde çözülmüş ve son hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır. Otoklavlandıktan sonra +4°C'de saklanmıştır.

1 X Tris Borate EDTA (TBE) Tamponu 1000 ml: 20 X TBE'den 50 ml alınıp çözeltinin hacmi 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

- Ethidium Bromide (EtBr) Çözeltisi: 10 mg/ml konsantrasyonda EtBr kullanılarak hazırlanmıştır.
- RNase ana stok (10 mg/ml): 10 mg 800 µl TE (10mM Tris-Hcl, 1 mM EDTA pH 7.5)'de çözülmüş ve hacim 1 ml'ye tamamlanmıştır.

Rnase ekstraksiyonda kullanılan stok (1 mg/ml): 1 mg/ml Rnase hazırlamak için 100 µl Rnase ana stokundan alınmış ve 900 µl TE (pH 7.5) solüsyonu ile hacim 1000 µl'ye tamamlanmıştır.

3.2.2.2. DNA izolasyonu

DNA izolasyon metodu olarak CTAB metodu (Doyle and Doyle, 1988) kullanılmıştır. Bu metoda göre;

- -20°C'de muhafaza edilen dondurulmuş fasulye yapraklarından 500 mg tartılmış ve yapraklar toz haline gelene kadar, otoklavlanmış havanlarda sıvı azot kullanılarak öğütülmüşlerdir.
- Öğütülen yaprak üzerine 1.5 ml 1 X CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) (% 1) izolasyon tamponu eklenmiş ve oluşan çözeltinin 1 ml'si 2 ml'lik tüplere alınarak tekrar üzerine 3 µl beta mercaptoethanol (% 0.03) ilave edilmiştir.
- Örnekler 65 °C'ye ayarlanmış su banyosunda 2 saat Beklemeye bırakılmıştır. Bekleme sırasında tüpler, periyodik olarak alt üst edilmek suretiyle karıştırılmıştır.
- Su banyosundan çıkartılan çözeltinin içerisine 1 ml CIA (chloroform: isoamylalcohol, 24:1) eklenmiş ve 50- 100 kez alt üst edildikten sonra 13 500 RPM (Hettich EBA12) hızda 10 dakika santrifüjlenmiştir.

- Santrifüj sonrası oluşan üst faz, yeni tüpe aktarılmış ve üzerine 1 ml isopropanol (-20°C) ilave edilmiştir. DNA'nın çökmesi için aşağı yukarı sallanarak iyice karıştırılmıştır.
- Örnekler 13 500 RPM hızda 10 dakika santrifüjlendikten sonra üzerindeki isopropanol dikkatli bir şekilde dökülmüştür.
- Alkol tamamen uçuncaya kadar örnekler kurumaya bırakılmış ve kuruduktan sonra peletler 0.5 ml TE (pH 7.5) içerisinde çözündürülmüştür.
- Çözeltilerin içerisine 5 µl (10 mg/ ml) *RNase* eklenmiş ve 37 C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.
- Su banyosundan alınan örneklerin üzerine 50 µl NaOAc (3 M, pH 5.2) ve 1 ml % 100 Ethanol ilave edilmiştir.
- Örnekler 13 500 RPM hızda 10 dakika santrifüj edilmiştir.
- Örnekler yavaşça santrifüjden çıkartılarak süpernatant dökülmüş ve peletin üzerine 1.5 ml % 80'lik ethanol ilave edilerek tekrar 13 500 RPM'de 10 dakika santrifüjlenmiştir.
- Örnekler yine dikkatli bir şekilde santrifüjden çıkartılarak alkol dökülmüştür ve alkolü tam olarak uçana kadar kurutulmuşlardır.
- Örnekler son olarak 0.3 ml TE (pH 8.0) çözeltisinde çözölmüş ve çalışmanın diğer aşamalarında kullanılmak üzere -20°C'de saklanmışlardır.

3.2.2.3. DNA miktarının spektrofotometre ile belirlenmesi

Spektrofotometrede okuma yapılmadan önce, fasulye hatlarına ait DNA'ların varlığı ve temiz olup olmadığı DNA'lar jelde yürütölerek belirlenmiştir. Bu amaçla % 1'lik agaroz jel hazırlanmıştır. 10 X TBE bufferdan hazırlanan 1 X TBE buffer kullanılarak jelin hazırlanması ve yürütölmesi gerçekleştirilmiştir.

Spektrofotometre okuması yapmak için NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer cihazı kullanılmıştır. 500 µl TE (pH 8.0) içinde çözölen DNA'lardan 2 µl alınarak her örneğin ng/µl, A_{260}/A_{280} ve A_{260}/A_{230} değerleri ölçölmüştür.

3.2.2.4. DNA işaretleyici yöntemleri ile fasulye hatlarının analizi

Çarşamba Ovası'nın farklı köylerinden toplanan fasulye hatlarının genetik yakınlık ve uzaklıklarının belirlenebilmesi için izole edilen genomik DNA'lar, PCR tabanlı DNA işaretleyici tekniklerinden SSR ve SCAR moleküler analiz metotları kullanılarak karakterize edilmişlerdir. Bu tekniklerin uygulanması aşamasında kullanılan parametreler ise aşağıda verilmiştir.

Genomik DNA: PCR reaksiyonunda her bir tüp için 8.5 µl genomik DNA kullanılmıştır. Miktarları spektrofotometrede ölçülen DNA örnekleri 8.5 µl'de 120 ng DNA olacak şekilde su ile seyreltilmiş ve +4°C'de muhafaza edilmiştir.

Deoksiribonükleotрифosfat karışımı (dNTP): Çalışmada öncelikle 25 µl reaksiyonda toplam dNTP konsantrasyonu 0.28 mM olacak şekilde hazırlanmış ve her tüp için 0.7 µl kullanılmıştır.

10X Buffer: Çalışmada Bioron ve Vivantis firmalarına ait iki farklı buffer kullanılmıştır. Bioron firmasının bufferı; 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂ ve % 0.01 gelalin içermektedir. 25 µl reaksiyonda 10X bufferdan her tüp için 3 µl kullanılmıştır. Vivantis firmasının bufferı ise; 100 mM Tris-HCl (20°C'de pH 9.1), 500 mM KCl ve % 0.1 TritonTMX-100 içermektedir ve bu bufferdan da her tüp için 3 µl kullanılmıştır.

MgCl₂: Çalışmada Bioron ve Vivantis firmalarına ait iki farklı MgCl₂ kaynağı kullanılmıştır. Bioron firmasına ait olandan 25 mM'lık MgCl₂ kullanılmıştır. 25 µl reaksiyonda toplam MgCl₂ konsantrasyonu 3 mM olacak şekilde ayarlanmıştır. Her tüp için 3 µl alınmıştır. Vivantis firmasına ait olan MgCl₂ ise 50 mM'lık olduğundan dolayı her tüp için 1.5 µl kullanılmıştır.

Taq DNA Polimeraz enzimi: Termofilik bakteri olan *Thermus aquaticus*'dan izole edilen 100°C sıcaklıkta dahi aktivite gösterebilen bir enzimdir. Bu enzim yaklaşık

75°C’de ve pH 9.0’da en yüksek aktiviteyi göstermektedir (Ercan 1999). Enzim, 25 µl reaksiyonda 2 ünite kullanılmıştır.

Primer: Çalışmada fasulye için geliştirilmiş 22 SSR ve 6 SCAR primer çifti kullanılmıştır (Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5).

Bioron markası ile yapılan PCR’da kullanılan parametreler ve miktarları Çizelge 3.6’da, Vivantis markası ile yapılan PCR’da kullanılan parametreler ve miktarları Çizelge 3.7’de, SSR primer çiftleri için kullanılan PCR programı Çizelge 3.8’de ve SCAR primer çiftleri için kullanılan PCR programı Çizelge 3.9’da verilmiştir.

Çizelge 3.4. SSR tekniğinde kullanılan primer çiftleri

Primer ismi	Büyüklüğü (bp)	Tm	Gen		Gen	Kaynak
BM210	166	52	Cyclopropane yağ asitini sentezleyen genle benzerlik içerir	F	ACC ACT GCA ATC CTC ATC TTT G	Gaitan-Solis vd 2002, Teixeira vd. 2005
				R	CCC TCA TCC TCC ATT CTT ATC G	
BM146	281	58	Her hangi bir gen ile ilişkisi bulunamamıştır	F	GAG ATG AGT CCT TTC CCT ACC C	Gaitan-Solis vd 2002, Teixeira vd 2005
				R	TGC AGA CAC AAT TTA TGA AGG C	
PH10B11	157	49	Patojen ilişkili protein	F	GAG GGT GTT TCA CTA TTG TCA CTG C	Yu vd 2000 Sicard vd 2005
				R	TTC ATG GAT GGT GGA GGA ACA G	
PH7B3	161	49	Patojen ilişkili protein	F	AGT CGC CAT AGT TGA AAT TTA GGT G	Yu vd 2000 Sicard vd 2005
				R	CTT ATT AAA ACG TGA GCA TAT GTA TCA TTC	
DROUGH1	213	55	Her hangi bir gen ile ilişkisi bulunamamıştır	F	CAG ACA TGC AAA TTG GAA C	Guerra-Sanz vd 2004
				R	GGA GCA CCA AAG ATC ATA GA	
BMd-45-AIA	129	47	IAA-protein eşleşmesi	F	GGT TGG GAA GCC TCA TAC AG	Blair vd 2003 Paneda vd 2007
				R	TAG TCC TTG CTT TCT TCT TTT GC	
PV-atcc001	171	49	Beta-phaseolin	F	ATG CAT GTT CCA ACC ACC TTC TC	Yu vd 2000 Blair vd 2006
				R	GGA GTG GAA CCC TTG CTC TCA TC	
PV-aaat001	203/158	49/50	Her hangi bir gen ile ilişkisi bulunamamıştır	F	TGG AGC CAT CTG TCT CTT ACC CAC	Blair vd 2006
				R	GAG CAC GAG TCA CGT TTG CAA C	
PV-ag004	201	48	Phytohemagglutinin pseudogene	F	TTG ATG ACG TGG ATG CAT TGC	Yu vd 2000, Blair vd 2006, Mahuku vd 2009
				R	AAA GGG CTA GGG AGA GTA AGT TGG	
PV-atcc003	176	49	Alpha-phaseolin	F	TCT CCA TGC ATG TTC CAA CCA C	Yu vd 2000, Blair vd 2006
				R	GGA GTG GAA CCC TTG CTC TCA TC	
PV-ittc001	161	50	Nitrat indirgeyici	F	TTT ACG CAC CGC AGC ACC AC	Yu vd 2000 Blair vd 2006
				R	TGG ACT CAT AGA GGC GCA GAA AG	
PV-gaat001	164	49	Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase'nin alt ünitesi	F	AAG GAT GGG TTC CGT GCT TG	Yu vd 2000 Chdiak vd 2007
				R	CAC GGT ACA CGA AAC CAT GCT ATC	

Çizelge 3.4'ün devamı

Primer ismi	Büyükliği (bp)	Tm	Gen		Gen	Kaynak
SSR-IAC14	221	56	Her hangi bir gen ile ilişkisi bulunamamıştır	F	GCT GCA TGT TTA TCC ACC TT	Benchimol vd 2007
				R	TTG TTA CTC ACC CCA CCA TAC	
SSR-IAC26	148	56	Her hangi bir gen ile ilişkisi bulunamamıştır	F	TTG GAT GGC AAT AAA ATA GCA	Benchimol vd 2007
				R	TGT TGG ACT CAA AGG TGT TCT C	
SSR-IAC63	210	59,8	Her hangi bir gen ile ilişkisi bulunamamıştır	F	TCG TAG CAC TAA GAT GGA AGA	Benchimol vd 2007
				R	GTT TTG TGA ACT GTT GAA TGT G	
PV-at007	192	49	NADP'ye bağımlı malik enzim	F	AGT TAA ATT ATA CGA GGT TAG CCT AAA TC	Yu vd 2000
				R	CAT TCC CTT CAC ACA TTC ACC G	Mahuku vd 2009
PV-at008	161	49	Ribonuclease benzeri hastalıkla ilgili protein	F	AGT CGC CAT AGT TGA AAT TTA GGT G	Yu vd 2000
				R	CTT ATT AAA ACG TGA GCA TAT GTA TCA TTC	
BMd-48	131	47	Beta-glucan bağlayıcı protein	F	CCC CAC CAA CTC TTT CTT CC	Blaie vd 200,
				R	CAG AAT TGA CTT GGC GAG AA	
BMd-8	176	47	Giberellin 20-oxidase	F	TTC ATC CTC TCT CCC GAA CTT	Blair vd 2003
				R	CTT TTG TGG CTG AGA CAT GGT	
SSR-IAC116	185	60	Her hangi bir gen ile ilişkisi bulunamamıştır	F	AGA CAT TGT TGA TAC GGG AGA T	Benchimol vd 2007
				R	CAC CTT GAC TTG CCT TTG AC	
SSR-IAC84	154	60	Her hangi bir gen ile ilişkisi bulunamamıştır	F	TTG CAC TCT TGT TGT TTA TGG A	Benchimol vd 2007
				R	CAC AAT GAC GAC AGA TGA CAG A	
PV-atc001	193	49	Arcelin-Kışeli yaprak lekmesine dayatıcı	F	CAA TTA AAA CTC AAC CAA CCC AAA TA	Yu vd 2000
				R	TTT CCC GCC ATA GAA TAT GTG AGA	da Silva 2003

Çizelge 3.5. SCAR tekniğinde kullanılan primer çiftleri

Primer ismi	Büyüklüğü (bp)	Tm	Fonksiyonu			Kaynak
SAP6	820	52	Bakteriyel yanı kılı ğa dayalı kılı lı ğı n tespiti	F	GTC ACG TCT CCT TAA TAG TA	http://www.css.msu.edu/bic/PDF/SCAR_Markers_2008.pdf (Miklas vd 2000)
	cis			R	GTC ACG TCT CAA TAG GCA AA	
SB10	525	52	Fasulye hale yanı kılı ğı na dayalı kılı lı ğı n tespiti	F	CTG CTG GGA CAA TCA CCA AGT C	http://www.css.msu.edu/bic/PDF/SCAR_Markers_2008.pdf (Fourie v 2004)
	cis			R	CTG CTG GGA CTC TCT TAC	
SI19	460	52	Fasulye pastı na dayalı kılı lı ğı n tespiti	F	AAT GCG GGA GAT ATT AAA AGG AAA G	http://www.css.msu.edu/bic/PDF/SCAR_Markers_2008.pdf (Haley et al., 1993 Melotto et al., 1998 *Miklas et al., 2000c)
	cis			R	AAT GCG GGA GTT CAA TAG AAA AAC C	
Phs	çoklu	52	Phaseolin 'T' ve 'S' allellerinin tespiti, Bakteriyel yanı kılı ğa ve beyaz çürüklü ğe dayalı kılı lı ğı n tespiti	F	AGC ATA TTC TAG AGG CCT CC	http://www.css.msu.edu/bic/PDF/SCAR_Markers_2008.pdf (Karri et al., 1995 Nodari et al., 1993 Miklas et al., 2001)
				R	GCT CAG TTC CTC AAT CTG TTC	
SY20	830	52	Antraknozun bazı ı rkları na dayalı kılı lı ğı n tespiti	F	AGC CGT GGA AGG TTG TCA T	http://www.css.msu.edu/bic/PDF/SCAR_Markers_2008.pdf (Queiroz et al., 2004b *Kelly et al., 2003)
	cis			R	CCG TGG AAA CAA CAC ACA AT	
SN02	890	52	Köşeli yaprak lekesine dayalı kılı lı ğı n tespiti	F	ACC AGG GGC ATT ATG AAC AG	http://www.css.msu.edu/bic/PDF/SCAR_Markers_2008.pdf (Nietsche et al., 2000 *Miklas, PC, 2002)
	cis			R	ACC AGG GGC AAC ATA CTA TG	

Çizelge 3.6. PCR’da kullanılan parametreler ve miktarları (Bioron)

PCR Parametreleri	Miktar (µl)	Final Konsantrasyonu
Primer	6.5	1.92 µM
Genomik DNA	8.5	120 ng
Su	2.89	-
10X Buffer	3	100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 500 mM KCl, 15 mM MgCl ₂ , % 0.01 gelatin
MgCl ₂	3	25 mM
dNTP	0.7	0.28 mM
Taq DNA Polimeraz	0.41	2 ünite
Toplam miktar	25	

Çizelge 3.7. PCR’da kullanılan parametreler ve miktarları (Vivantis)

PCR Parametreleri	Miktar (µl)	Final Konsantrasyonu
Primer	6.5	1.92 µM
Genomik DNA	8.5	120 ng
Su	4.39	-
10X Buffer	3	100 mM Tris-HCl (20°C’de pH 9.1), 50 mM KCl, % 0.1 Triton™X-100
MgCl ₂	1.5	50 mM
dNTP	0.7	0.28 mM
Taq DNA Polimeraz	0.41	2 ünite
Toplam miktar	25	

Çizelge 3.8. SSR Primer çiftleri için kullanılan PCR profili

94°C	3 dakika	1 döngü	Denatürasyon
94°C	30 saniye		Denatürasyon
66°C (her döngüde 0.5°C düşüyor)	45 saniye	10 döngü	Annealing
72°C	2 dakika		Extension
94°C	30 saniye		Denatürasyon
61°C	45 saniye	30 döngü	Annealing
72°C	2 dakika		Extension
72°C	10 dakika		Extension

Çizelge 3.9. SCAR Primer çiftleri için kullanılan PCR profili

94°C	3 dakika	1 döngü	Denatürasyon
94°C	30 saniye		Denatürasyon
52°C	45 saniye	10 döngü	Annealing
72°C	2 dakika		Extension
72°C	10 dakika		Extension

3.2.2.5. Agaroz jelin hazırlanması ve elektroforezis

SCAR primer çiftleri kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu ürünleri % 2'lik Agaroz jelde yürütülmüştür. % 2'lik Agaroz jeli hazırlamak amacıyla, 2.2 g agaroz tartılmış ve içerisinde 110 ml 1 X TBE bulunan bir erlenmayere konmuştur. Erlenmayer mikrodalga fırın içerisine yerleştirilmiş ve kaynatılarak 1 X TBE içerisinde agaroz çözündürülmüştür. Çözdürülmüş Agarozun içerisine 10 µl EtBr ilave edilmiştir. Elektroforez kabının içine taraklar yerleştirilmiştir. Tampon yeteri kadar soğuduktan sonra hava kabarcığı oluşmayacak şekilde elektroforez kabının içine dökülmüş ve oda sıcaklığında jelin tamamen donması BElenmiştir. Elektroforez tankına yerleştirilen jelin üzeri tamamen 1 X TBE tamponu ile kaplanmış ve daha sonra taraklar dikkatli bir şekilde jelden çıkartılmıştır. 25 µl'lik PCR ürünleri kuyucuklara yüklenmeden önce her tüpe 5 µl Loading buffer eklenerek PCR ürünlerinin boyanması sağlanmıştır. Elde edilen 30 µl'lik karışımdan 15 µl alınarak kuyucuklara yüklenmiştir. Elektroforez 80 voltta 2-3 saat serbest akım altında (-)'den (+)'ya doğru yapılmıştır. PCR sonucunda jelde yürütülerek gözlenen DNA bantları, jel görüntüleme sistemi kullanılarak fotoğraflanmıştır.

SSR primer çiftleri kullanılarak yapılan PCR ürünleri ise % 4'lük Agaroz jelde yürütülmüştür. % 4'lük agarozu hazırlamak için % 1'lik agaroz 1 (Sigma) ve % 3'lük yüksek çözünürlü agaroz (Serva) olacak şekilde jel hazırlanmıştır. Bunun için agaroz 1'den 1.1 g ve yüksek çözünürlü agarozdan 3.3 g tartılmış ve içerisinde 110 ml 1 X TBE bulunan erlenmayere ilave edilmiştir. Mikrodalga fırında kaynatılan agaroz 10 ml EtBr konulmuştur. Elektroforez kabının içine 40 kuyucuk oluşturacak bir tarak yerleştirilmiş ve kaynatılan agaroz biraz soğuduktan sonra hava kabarcığı oluşmayacak şekilde bu kaba dökülmüştür. Oda sıcaklığında katılaştıran jel, elektroforez tankına yerleştirilmiş ve üzeri tamamen kapanacak şekilde tanka 1 X TBE dökülmüştür.

25 µl'lik PCR ürünlerinin üzerine 5 µl Loading buffer eklenerek PCR ürünleri boyanmış ve daha sonra kuyucuklara her genotipten 15 µl yükleme yapılmıştır. Elektroforez 70 voltta 4–6 saat serbest akım altında (-)'den (+)'ya doğru yapılmıştır. PCR sonucunda jelde yürütülerek gözlenen DNA bantları, jel görüntüleme sistemi kullanılarak fotoğraflanmıştır.

3.2.3. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri

3.2.3.1. Morfolojik gözlemler sonucunda elde edilen verilerin istatistik analizleri

Bodur büyüme özelliği gösteren 36 fasulye hat ve çeşitinde, 19 morfolojik ve fenolojik karakter için gözlem yapılmış ve elde edilen verilerin istatistik analizleri Varyans Analizi (ANOVA), Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, Temel Bileşenler Analizi (TBA) ve Kümeleme (Cluster) Analiz Yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde SAS–8.0 ve Minitab 13.0 bilgisayar paket programları kullanılmıştır.

3.2.3.2. Moleküler çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin istatistik analizi

SSR ve SCAR analizlerinde agaroz jel elektroforez sonucu elde edilen bantlar, varlık 1 (bir) veya yokluk 0 (sıfır) durumlarına göre skorlanarak binom veri matrisi oluşturulmuştur. MVSP versiyon 3.130 (Kovach Computing Service, Pentraeth, UK) programı kullanılarak Çok değişkenli Kümeleme Analizi ve Temel Koordinat Analizi (PCO) verilerin analizi için kullanılmıştır. PCO, TBA ile benzer bir ordinat metod olup farklılığı eksenlerin grafiğini oluşturmak için kullanılan değerler yerine PCO uzaklık matrisinin kullanılmasıdır (Manly 1994). MVSP kullanılarak, üzerinde çalışılan hatlar içinde ya da arasındaki ilişkiyi açığa çıkarmak için Nei ve Li (1979)'ye göre UPGMA matrisi kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri (PBI) Tehrani vd (2008)'nin aşağıda belirtilen formülü yardımıyla belirlenmiştir. Buna göre, öncelikle polimorfik bantlarda toplam var (1) ve yok (0) olan bantların sayıları belirlenmiştir. Daha sonra bu bantların ayrı ayrı frekansları hesaplanmıştır. $PBI = 2 \times P_i \times Q_i$, P_i = Varlık frekansı, Q_i = Yokluk frekansı

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Morfolojik Özelliklerin Değerlendirilmesi

Bodur büyüme özelliği gösteren 33 fasulye hattında ve 3 tane de standart çeşitte, materyal ve metot bölümünde belirtilen 19 morfolojik ve fenolojik karakter için gözlem yapılmış ve elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, Varyans Analizi (ANOVA), Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, Temel Bileşenler Analizi (TBA) ve Kümeleme (Cluster) Analiz Yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde SAS–8.0 ve Minitab 13.0 bilgisayar paket programları kullanılmıştır. Morfolojik özelliklere ait veriler, 2007–2008 yıllarında Antalya’nın Varsak Köyü’nde tarla koşullarında her hatta ve standart çeşide ait 30’ar bitkinin incelenmesi sonucunda elde edilmiştir. Morfolojik karakterizasyonu yapılan fasulye hat ve standart çeşitlerin varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1’de ve korelasyonları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Sabit değişken olmayan 7 özelliğe ait [çıkış süresi (ÇS), ilk çiçeklenme tarihi (İÇKGS), bakla boyu (BB), bakla eni kalınlığı (BE), bakla eti kalınlığı (BETK), brakte uzunluğu (BU) ve gaga uzunluğu (GU)] Duncan grupları Çizelge 4.3’te verilmiştir.

Çizelge 4.1. Morfolojik karakterizasyonu yapılan fasulye hatlarının ve standart çeşitlerinin sabit olmayan özelliklerinin varyans analizinin sonuçları

Morfolojik özellik	Ortalama Standart sapma	Min-Maks.	CV (%)
ÇS	8.51±0.03	5.00- 14.00	18.92
İÇKGS	40.22±0.07	35.00- 50.00	8.04
BB	13.94±0.04	3.00- 20.20	14.57
BE	13.38±0.03	8.89- 18.16	12.11
BETK	7.26±0.02	3.75- 10.74	11.88
BU	5.12±0.01	3.21- 7.76	13.30
GU	8.67±0.05	3.96- 16.37	24.43

Çizelge 4.2. Fasulye hatlarının ve standart çeşitlerinin karakterizasyonunda kullanılan sabit olmayan morfolojik ve fenolojik özelliklerin korelasyonu

	ÇS	İÇKS	BR	BB	BEK	BETK	BU	BŞ	BKD	BBe	BTB	ÇR	BEŞ	GU	TR
ÇS	1														
İÇKS	0.73976 <.0001	1													
BR	-0.20876 <.0001	-0.03182 0.1393	1												
BB	-0.00939 0.6628	0.08177 0.0001	0.07530 0.0005	1											
BEK	-0.01239 0.5650	-0.01273 0.5542	-0.03480 0.1059	-0.04449 0.0387	1										
BETK	0.00019 0.9929	-0.01401 0.5153	0.11291 <.0001	0.14388 <.0001	-0.03441 0.1099	1									
BU	0.12810 <.0001	0.13317 <.0001	0.01616 0.4528	0.16119 <.0001	-0.24143 <.0001	0.02532 0.2395	1								
BŞ	-0.2313 0.2826	-0.07901 0.0002	0.24667 <.0001	0.35793 <.0001	-0.10976 <.0001	0.09749 <.0001	0.10661 <.0001	1							
BKD	0.16215 <.0001	0.03558 0.0982	-0.06820 0.0015	-0.22944 <.0001	0.08812 <.0001	0.06649 0.0020	0.06378 0.0030	-0.33757 <.0001	1						
BBe	0.09117 <.0001	0.00333 0.8771	-0.06820 0.0015	-0.05260 0.0145	0.24889 <.0001	-0.05447 0.0113	0.00054 0.9799	-0.19290 <.0001	0.60000 <.0001	1					
BTB	-0.00622 0.7757	-0.08113 0.0002	0.25809 <.0001	-0.47084 <.0001	0.28644 <.0001	-0.05166 0.0163	-0.14671 <.0001	-0.12572 <.0001	0.58867 <.0001	0.48776 <.0001	1				
ÇR	0.17166 <.0001	0.13172 <.0001	0.03050 0.1565	-0.26954 <.0001	-0.06278 0.0035	0.14512 <.0001	0.02152 0.3176	-0.12940 <.0001	0.26833 <.0001	0.08944 <.0001	0.20309 <.0001	1			
BEŞ	0.06108 0.0045	-0.01113 0.6051	-0.01113 <.0001	0.20324 <.0001	-0.16320 <.0001	0.18817 <.0001	0.11825 <.0001	0.06100 0.0046	0.06325 0.0033	-0.12649 <.0001	-0.26593 <.0001	0.00000 10.000	1		
GU	0.02861 0.1837	0.08947 <.0001	-0.23575 <.0001	0.26024 <.0001	-0.06750 0.0017	-0.06822 0.0015	0.02181 0.3111	-0.03292 0.1261	-0.00541 0.8016	0.05127 0.0172	-0.13877 <.0001	0.32957 <.0001	0.13367 <.0001	1	
TR	-0.08926 <.0001	-0.02682 0.2128	-0.10783 <.0001	-0.10743 <.0001	0.03105 0.1491	-0.25585 <.0001	-0.12454 <.0001	-0.26687 <.0001	0.15811 <.0001	0.31623 <.0001	0.26593 <.0001	-0.14142 <.0001	-0.10000 <.0001	0.38154 <.0001	1
TAR	0.11264 <.0001	-0.01068 0.6198	-0.04738 0.0277	-0.34634 <.0001	0.05354 0.0128	0.13187 <.0001	-0.22489 <.0001	-0.17125 <.0001	0.07720 0.0003	-0.10808 <.0001	0.09219 <.0001	0.53857 <.0001	0.00488 0.8206	-0.20790 <.0001	-0.23191 <.0001
TIAR	-0.09408 <.0001	-0.03768 0.0800	-0.06301 0.0034	-0.05806 0.0070	-0.02247 0.2967	-0.23735 <.0001	-0.13596 <.0001	-0.13049 <.0001	0.10559 <.0001	0.29038 <.0001	0.29082 <.0001	-0.20070 <.0001	-0.16696 <.0001	0.34389 <.0001	0.93913 <.0001

Çizelge 4.3. Fasulye hatlarının ve standart çeşitlerinin karakterizasyonunda kullanılan sabit olmayan morfolojik ve fenolojik özelliklerin Duncan test grupları

ÇS		İÇKGS		BB		BEK		BETK		BU		GÜ	
FHSÇ	Ort	FHSÇ	Ort	FHSÇ	Ort	FHSÇ	Ort	FHSÇ	Ort	FHSÇ	Ort	FHSÇ	Ort
TK1	10.80 a	UB	45.01 a	TA	18.02 a	L	15.65 a	T26	8.57 a	TA	6.12 a	Ç22'	11.49 a
UB	10.66 a	X-1	44.86 ab	Ç33	17.29 b	Ç31	14.81 b	Ç31	7.94 b	T9	6.09 a	TK32	11.38 a
TK32	9.96 b	T11''''''	43.73 b	TK47	17.23 b	TK44	14.63 db	TK32	7.93 b	Ç7	5.94 ab	T9	11.32 a
X-1	9.48 cb	T23	42.56 c	Ç22	16.34 c	TK57	14.62 db	TK57	7.92 b	UB	5.70 bc	X-1	10.69 b
TK44	9.45 cb	TK32	42.50 c	Ç14	16.16 c	TK12'	14.61 bd	TK47	7.87 bc	TK47	5.70 bc	TK12'	10.61 b
TK47	9.31 bd	TK1	42.45 c	TK59	15.54 d	TK12	14.52 be	T7	7.84 bc	L	5.67 c	Ç42'	10.54 b
T23	9.21 ce	Ç33	42.33 c	T6	15.52 d	Ç20	14.51 be	Ç28	7.67 bd	TK32	5.49 cd	TK2	10.36 bc
Ç22	9.21 ce	L	42.31 c	T9	15.48 d	Ç22'	14.42 bf	Ç14	7.66 bd	Ç24	5.47 cd	T11''''''	10.34 bc
Ç24	9.11 cf	TK47	41.80 cd	TK57	15.47 d	Ç42'	14.41 bf	T9	7.52 ce	Ç44	5.45 ce	Ç33	10.23 bd
KO	9.05 cg	TK44	41.58 ce	TK32	15.15 ed	Ç33	14.26 cf	T11''''''	7.50 cf	T23	5.36 df	TK47	9.84 ce
Ç7	9.00 cg	Ç14	41.46 ce	Ç42'	14.87 ef	Ç22	14.26 cf	Ç22	7.44 dg	KO	5.30 dg	T2	9.66 df
T11''''	8.76 cg	T26	40.95 df	TK7	14.75 ef	KO	14.25 cf	Ç44	7.36 dh	TK44	5.20 eh	Ç14	9.61 df
L	8.71 dl	TK2	40.63 dg	L	14.37 f	T26	14.22 cg	Ç7	7.36 dh	Ç33	5.16 fi	TK44	9.43 eg
T9	8.70 dl	Ç22	40.58 dh	TK1	13.95 gh	TK2	14.20 cg	TK59	7.33 di	Ç20	5.15 fi	Ç22	9.41 eg
T26	8.66 dl	T9	40.51 dh	Ç24	13.94 gh	T11''''''	14.15 cg	TK7	7.28 dj	Ç28	5.14 fi	TK7	9.39 eg
TK12'	8.61 dk	TA	40.45 eh	TK15	13.87 gi	UB	14.09 dh	TA	7.27 ek	Ç16'	5.09 gi	TK12	9.36 eg
TK59	8.55 ek	Ç24	40.36 eh	Ç44	13.86 gi	TK59	14.02 eh	Ç33	7.20 el	X-1	5.08 gi	T6	9.08 fh
Ç28	8.40 fl	Ç7	40.28 eh	T2	13.75 hj	Ç14	13.97 fh	T6	7.18 em	TK15	5.08 gi	TK15	8.87 hg

*Fasulye hatları ve standart çeşitler= FHSÇ, Ortalama= Ort., Aynı harflerle gösterilen genotipler arasında istatistiksel açıdan önemlilik yoktur p<0.01)

Çizelge 4.3'ün devamı

ÇS		İÇT		BB		BEK		BETK		BU		GU	
TK57	8.38 fm	T2	40.08 fh	T7	13.53 hk	TK1	13.74 gi	Ç22'	7.17 em	T7	5.03 gj	TA	8.80 hg
TK12	8.38 fm	Ç44	39.96 fh	Ç22'	13.39 il	Ç24	13.63 ij	L	7.12 fm	TK57	5.01 hk	KO	8.77 hg
T7	8.35 gm	TK12'	39.91 fi	X-1	13.33 jl	T7	13.39 ij	Ç42'	7.07 gn	T6	4.90 ik	Ç24	8.54 ih
T6	8.26 in	Ç28	39.68 fi	T23	13.23 jm	TK7	13.28 ij	T23	7.06 gn	Ç14	4.87 jl	Ç16'	8.54 ih
TK2	8.00 io	T6	39.65 fj	Ç7	13.13 kn	T6	13.22 jk	KO	6.99 hn	Ç42'	4.86 jl	TK57	7.99 ij
Ç31	7.96 jo	TK59	39.45 gj	TK12'	13.13 kn	T2	12.89 kl	Y17	6.99 hn	T2	4.86 jl	T7	7.99 ij
TK7	7.91 ko	Ç31	39.30 gj	TK12	12.97 lo	X-1	12.69 ml	Ç20	6.98 hn	TK12'	4.85 jl	TK1	7.79 j
Ç14	7.88 ko	TK12	39.25 hj	Ç20	12.94 lo	T23	12.65 ln	TK12'	6.97 hn	Ç22	4.82 jl	UB	7.69 jk
Ç44	7.88 ko	TK57	38.68 ik	Ç31	12.87 lo	Ç44	12.61 ln	TK12	6.94 in	Y17	4.79 kl	Ç20	7.38 jl
Ç16'	7.88 ko	TK15	38.36 kj	KO	12.75 mo	Ç28	12.52 lo	TK15	6.89 jo	T26	4.78 kl	Ç7	7.08 km
TA	7.83 lo	T7	37.98 lk	TK44	12.73 mo	Ç7	12.36 mo	TK1	6.87 jo	TK7	4.77 kl	TK59	6.82 ln
Ç33	7.73 mo	Ç42'	37.70 km	T11',''''''	12.62 no	Ç16'	12.18 op	UB	6.83 ko	TK2	4.76 kl	Ç28	6.80 ml
TK15	7.71 mo	TK7	37.68 km	TK2	12.59 no	TK15	12.09 op	Ç24	6.83 lo	T11',''''''	4.67 ln	Ç44	6.56 mn
Ç20	7.60 no	Ç20	37.58 km	T26	12.54 o	TA	11.86 p	TK44	6.82 lo	TK1	4.66 ln	L	6.43 mn
T2	7.56 no	Ç22'	37.50 km	Ç28	11.81 p	Y17	11.78	T2	6.78 mo	Ç31	4.65 ln	T23	6.15 n
Ç42'	7.38 o	Ç16'	37.46 km	Ç16'	11.07 q	TK47	10.60	Ç16'	6.67 no	Ç22'	4.63 ln	T26	6.03 n
Ç22'	7.35 o	KO	36.91 lm	UB	10.85 rq	TK32	10.52	TK2	6.67 no	TK12	4.62 ln	Ç31	6.03 n
Y17	6.58 p	Y17	36.43 m	Y17	10.55 r	T9	10.02	X-1	6.54 o	TK59	4.45 m	Y17	5.09 o

*Fasulye hatları ve standart çeşitler= FHŞÇ, Ortalama= Ort., (Aynı harflerle gösterilen genotipler arasında istatistiksel açıdan önemlilik yoktur p<0.01)

Korelasyon matrisinde (Çizelge 4.2) de görüldüğü gibi çıkış süresi ile ilk çiçeklenme tarihi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Çıkış sürelerinin Antalya koşullarında 6-10 gün arasında değiştiği saptanmıştır. İlk çıkışı gösteren standart bir çeşit olan Y17 (6.58) çeşidi iken bunu Ç22' (7.35) ve Ç42' (7.38) hatları takip etmiştir. En geç çıkış gösteren hat TK1 (10.80) olarak tespit edilirken bu hattı standart bir çeşit olan Uludağ barbun (10.66) çeşidi takip etmiştir. İlk çiçeklenme tarihleri de 36-45 gün arasında gerçekleşmiş ve çıkış süresi ile aynı şekilde Y17 çeşidi (36.43) ilk çiçeklenen çeşit olmuştur. Benzer şekilde Uludağ çeşidinin (45.01) en son çiçeklenen çeşit olduğu Çizelge 4.3'te görülmektedir. Çıkış süresi ile brakte uzunluğu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Bu iki özellik için Duncan test grupları çizelgesinde (Çizelge 4.3) standart çeşitlere ve hatlara baktığımız zaman, çok yakın bir çizelge dağılımı göze çarpmamakla birlikte çıkış süresi en geç olan standart çeşitlerden Uludağ barbun (10.66)'un braktesinin uzun olarak nitelendirilebileceği, çıkış süresi en erken hat olan Ç22' (7.35)'nin ise braktesi en kısa üçüncü hat (4.63) olduğu saptanmıştır. Ayrıca ilk çiçeklenme tarihi ile brakte uzunluğu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır. Bu özellikler içinde Duncan test grupları incelendiğinde Uludağ standart çeşidi ve Ç22' hattı dikkat çekmektedir.

Çizelge 4.4. Temel Bileşen Analizi (TBA) sonucu korelasyon matrisi ilk altı Eigen değeri

	Eigen Değeri	Farklılık	Varyans (%)	Kümülatif Varyans (%)
1	3.40	0.46	20	20
2	2.95	0.64	17	37
3	2.30	0.69	13	50
4	1.60	0.28	9	60
5	1.32	0.08	7	68
6	1.23	0.21	7	75

Temel Bileşen Analizi (TBA) sonucu korelasyon matrisinin Eigen değerlerine göre ilk üç bileşen toplam varyasyonun % 50'sini açıklarken ilk altı bileşen varyasyonun % 75'ini açıklayabilmektedir. Ceolin vd (2006)'nın yaptığı çalışmada ilk Eigen değeri varyasyonun % 46'sını açıklamıştır. İlk iki değişken ise % 88.23'ünü

açıklamıştır. Morfolojik özellikler bakımından en uzak olan üç genotip tespit edilerek bu genotiplerin kombinasyonları populasyonlar arası ıslah çalışmaları için önerilmiştir. Keleş (2007) bildirdiği gibi oluşan çizelgenin sağlıklı bir anlam ifade etmesi için ilk üç bileşenin Eigen değeri toplamının minimum % 50 olması gerekmektedir. İlk üç bileşendeki Eigen değeri toplamının % 50'den düşük olması genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu göstermektedir. Fasulye hatlarında yapılan bu çalışmada ilk üç Eigen değerinin toplamı % 50 olarak bulunmuştur. Bu sonuç çalışılan hatlar arasında genetik çeşitliliğin yüksek olmadığını göstermektedir.

Temel Bileşen değerleri kullanılarak oluşturulan grafikler genotiplerin genetik yakınlık ve uzaklıkları hakkında ıslahçıları bilgilendirerek yönlendirebilmektedir. Araştırmada fasulye hatları ve standart çeşitlerde incelenen morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Analizi değerleri Çizelge 4.5'de verilmiştir.

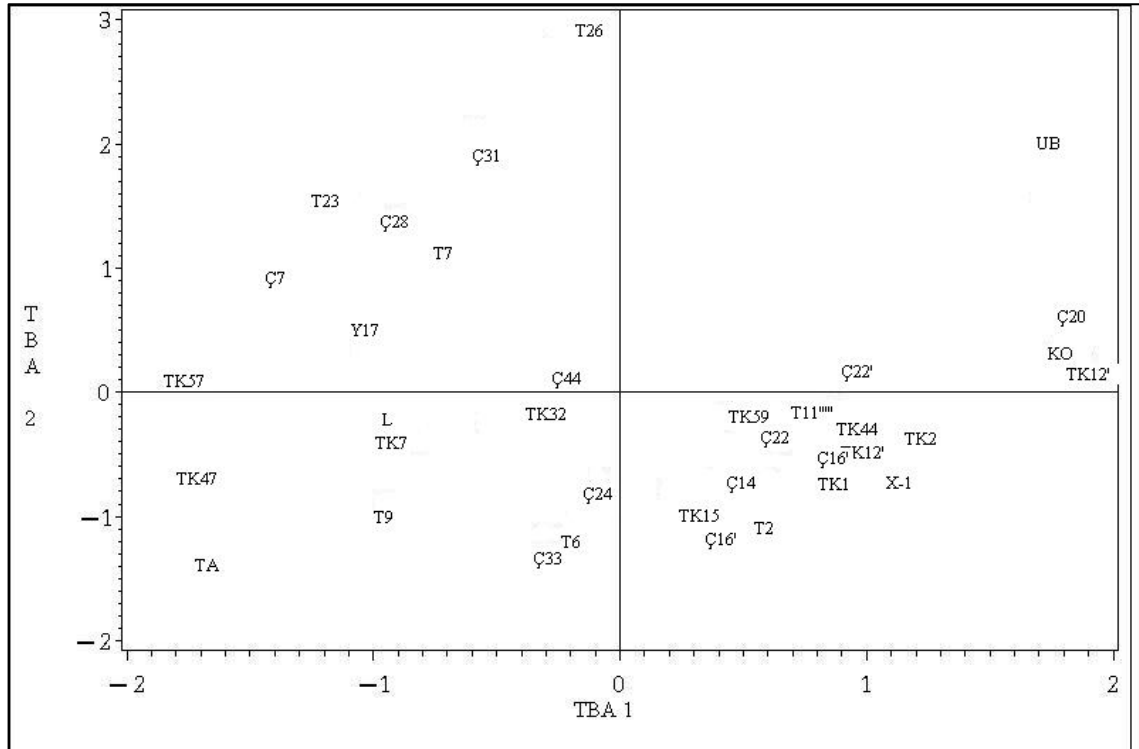
Çizelge 4.5. Fasulye hatları ve standart çeşitlerinde incelenen morfolojik özelliklere ait Temel Bileşen Analizi değerleri (Eigen Vektör)

Morf. Öz.	TBA1	TBA2	TBA3	TBA4	TBA5	TBA6	TBA7	TBA8	TBA9	TBA10
ÇS	-0.046	0.190	0.529	-0.115	-0.149	0.184	0.120	0.235	0.171	-0.078
İÇKGS	-0.064	0.055	0.456	-0.086	-0.329	0.172	0.390	-0.341	0.187	0.053
BR	-0.066	0.052	-0.300	0.450	-0.217	-0.146	0.371	-0.400	0.202	-0.033
BB	-0.271	-0.317	0.108	0.229	0.149	0.270	0.249	-0.061	-0.360	0.118
BE	0.216	0.135	-0.174	-0.056	0.058	0.679	0.019	-0.075	0.185	0.301
BETK	-0.290	0.213	-0.015	0.262	0.428	0.012	0.230	-0.152	-0.165	-0.126
BU	-0.214	-0.073	0.337	0.303	-0.300	-0.246	-0.349	0.008	-0.003	0.055
BŞ	-0.251	-0.132	-0.136	0.284	-0.122	0.112	0.267	0.742	0.181	-0.026
BKD	0.251	0.251	0.271	0.347	0.214	-0.025	-0.187	-0.053	-0.012	-0.272
BBe	0.318	0.087	0.190	0.362	0.093	0.243	-0.096	0.120	-0.384	0.178
BTB	0.368	0.244	-0.083	0.320	-0.053	-0.004	0.058	0.115	0.333	-0.238
ÇR	-0.015	0.425	0.129	-0.020	-0.020	-0.298	0.263	0.126	-0.267	0.419
BEŞ	-0.198	-0.041	0.187	0.064	0.570	-0.137	-0.109	-0.015	0.575	0.395
GU	0.100	-0.380	0.256	-0.087	0.273	0.050	0.203	-0.027	0.020	-0.486
TR	0.413	-0.266	0.079	-0.024	0.075	-0.243	0.221	0.001	0.012	0.243
TAR	-0.021	0.398	-0.057	-0.331	0.205	-0.140	0.291	0.149	-0.081	-0.221
TİAR	0.391	-0.288	0.041	0.023	0.022	-0.239	0.283	0.110	-0.008	0.155

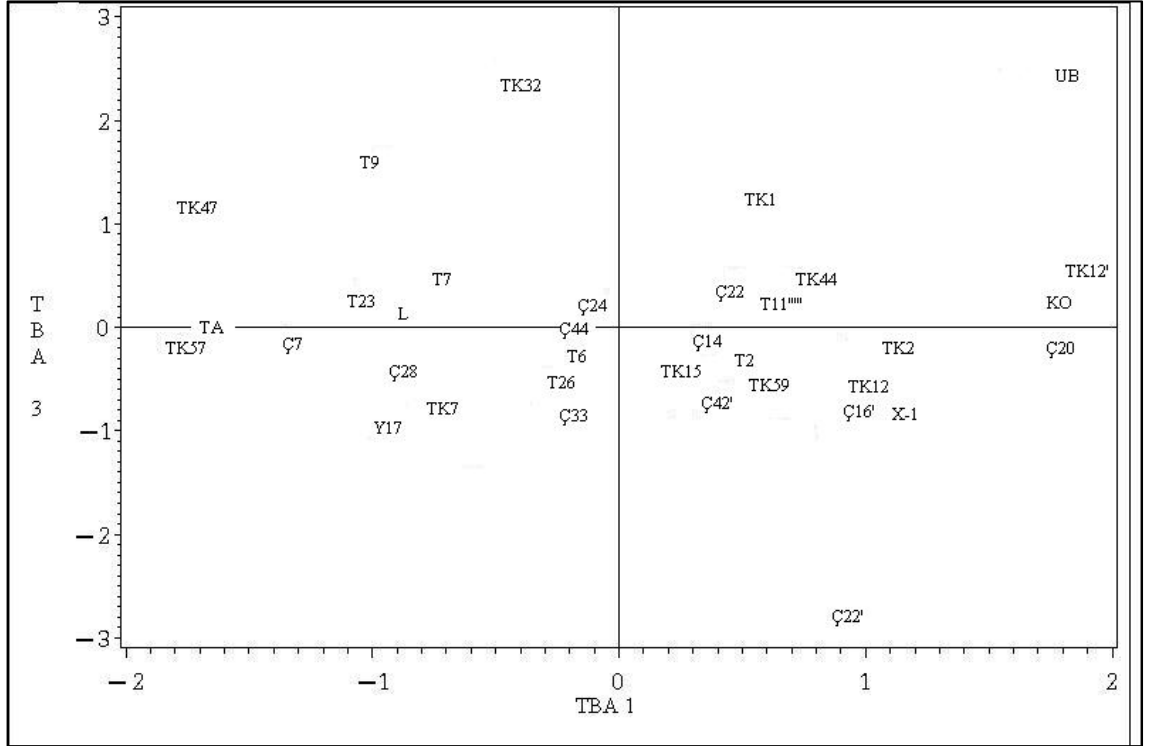
Çizelge 4.5 incelendiği zaman TBA1'i etkileyen özelliklerin; BETK, BBe, BTB, TR ve TİAR olduğu görülmektedir. TBA2 için BB, ÇR, GU ve TAR değerleri

önemlilik göstermektedir. TBA3'ü etkileyen özellikler ise ÇS, İÇKGS ve BU olarak tespit edilmiştir. İlk üç Temel Bileşen 19 özelliğin 12 tanesini ifade edebilmektedir ki bu nedenden dolayı ilk üç Eigen değeri % 50 varyasyonu açıklayabilmektedir. TBA1 değerleri incelendiği zaman; 0.413 ile TR özelliğinin en yüksek değeri aldığı, 0.015 ile ÇR'nin ise en düşük değeri aldığı yani TR özelliği için TBA1 değeri en fazla çeşitliliği açıklarken ÇR özelliği en az çeşitliliği açıklamaktadır. Aynı şekilde TBA2 için en yüksek değer 0.425 ile ÇR özelliğine ait iken en düşük değer 0.041 ile BEŞ özelliğine aittir. TBA3 için ise en yüksek değer 0.529 ile ÇS, en düşük değeri 0.015 ile BETK özelliği almaktadır. İlk üç Temel Bileşenin tamamının genetik çeşitliliğe etkisine bakıldığında 0.529 ile ÇS özelliği en etkin rolü oynamaktadır.

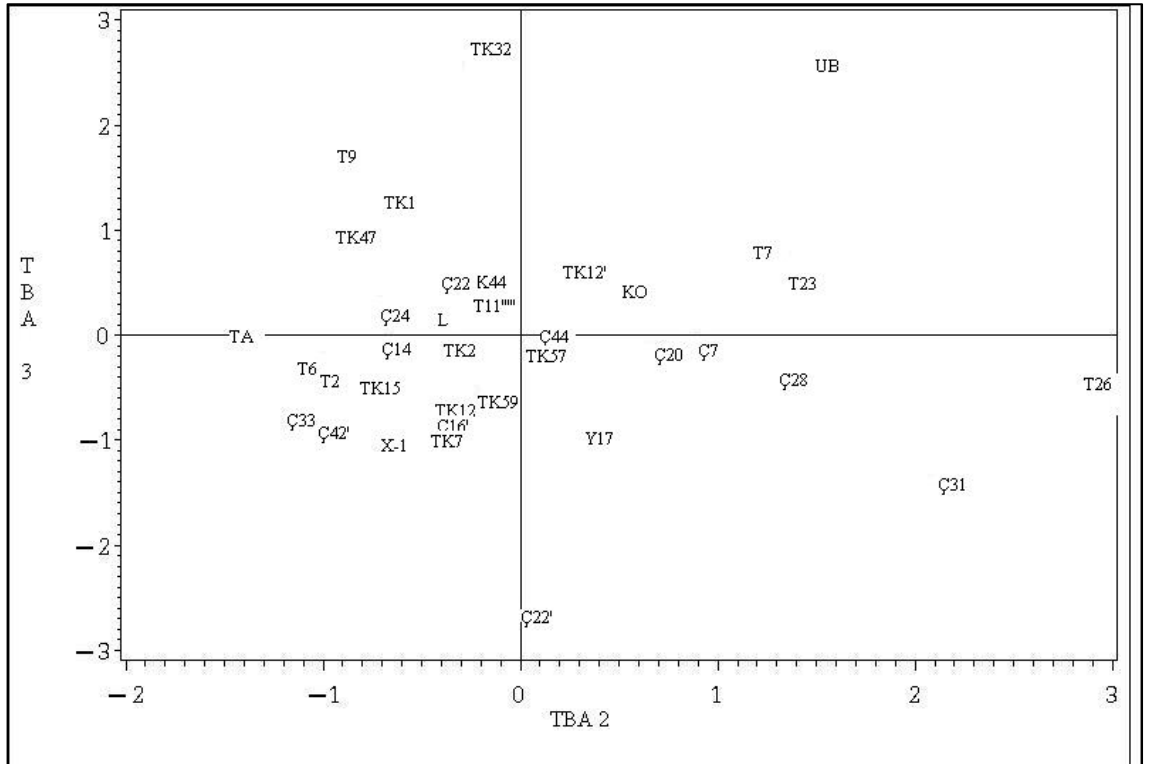
Temel Bileşen Analizi, değişken indirgeme yöntemidir. Yani çok sayıda değişkeni az sayıda unsur ile ifade etmede kullanılmaktadır. Bu çalışmada 19 değişken 3'e indirilerek genetik ilişki açıklanmaya çalışılmaktadır. TBA1, TBA2 ve TBA3 kullanılarak oluşturulan grafikler (Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3) genotiplerin dağılımını ve bir birleri ile olan ilişkilerini ortaya koymaktadır.



Şekil 4.1. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA1 ve TBA2 temsil ettiği özellikler bakımından fasulye hatlarının ve çeşitlerinin dağılımı



Şekil 4.2. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA3 ve TBA1 temsil ettiği özellikler bakımından fasulye hatlarının ve çeşitlerinin dağılımı



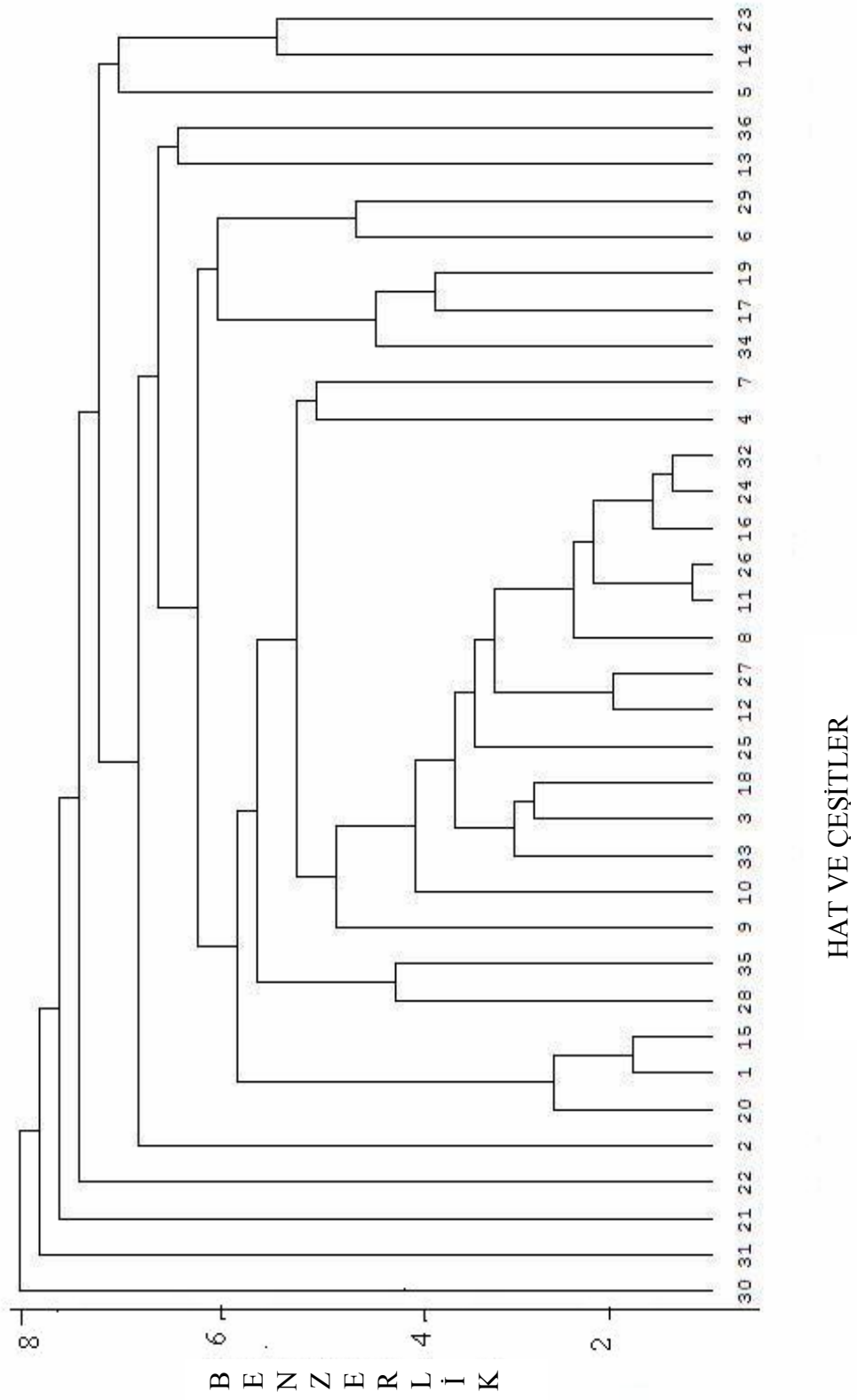
Şekil 4.3. Temel Bileşenler Analizi sonucunda TBA3 ve TBA2 temsil ettiği özellikler bakımından fasulye hatlarının ve çeşitlerinin dağılımı

TBA1'in ifade ettiği değişkenler; BETK, BBe, BTB, TR ve TİAR'dır. TBA2'nin ifade ettiği özellikler; BB, ÇR, GU ve TAR'dır. TBA3'ün ifade ettiği özellikler ise; ÇS, İÇKGS ve BU'dur. TBA1 ve TBA2'nin ifade ettiği özellikler açısından Şekil 4.1 incelendiği zaman özellikle 30 (UB), 20 (Ç20), 1 (KO) ve 15 (TK12') çeşit ve hatları ile 36 (TA), 5 (TK47), 21 (TK) çeşit ve hatları arasında genetik mesafenin en fazla olduğu görölmektedir. Bununla birlikte birbirine yakın 6 grubun oluşmuş olduğu da söylenebilir.

Şekil 4.2 incelendiğinde, Şekil 4.1'de elde edilen sonuçlara benzer biçimde 20 (Ç20), 1 (KO), 15 (TK12') hatlarının 21 (TK57), 36 (TA), 5 (TK47) çeşit ve hatlarından oldukça uzak olduğu görölmektedir. Şekil 4.1'den farklı olarak 30 (UB) standart çeşidi daha uzak bir mesafede yer alarak Şekil 4.1'deki grubundan kopmuş durumdadır. Bir önceki şekil ile aynı biçimde genotipler birbirine yakın mesafeli küçük gruplar oluşturmuşlardır. 31 (Ç22') ve 14 (TK32) hatları bu gruplardan tamamen ayrılmıştır. Bu durum bu hatların diğerlerinden oldukça farklı olabileceğini göstermektedir.

Şekil 4.3 incelendiğinde ise, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'den farklı olarak 6 (T26), 29 (Ç31) ve 31 (Ç22') hatları ortada konumlanmış olan çeşit ve hatlardan ayrılmıştır. Diğer iki şekildeki sonuca benzer olarak 30 (UB) ve 14 (TK32) çeşit ve hattı da ana gruptan ayrı konumlanmıştır.

Elde edilen dendogram 8 ana gruba ayrılmıştır (Şekil 4.4). Ç22' (31), UB (30), TK57 (21), Ç33 (22) hatlarının birbirinden tamamen farklı olduğu saptanmıştır. TK47 (5), TK32 (14), T9 (23) hatları bir grup oluşturmuşlardır ancak bu hatlar genetik olarak çok yakın değillerdir. Ç7 (2) hattı da diğerlerinden bağımsız olarak tek başına bir grup olarak ele alınabilir. L (13) ve TA (36) hatları ayrı bir grup olarak dendogramda kümelenmişlerdir. Son olarak en büyük grubu Ç20 (20), KO (1), TK12' (15), TK7 (28), Y17 (35), Ç44 (9), TK59 (10), TK1 (33), T11'''''' (3), TK44 (18), Ç16' (25), Ç24 (12), T6 (27), TK2 (8), T2 (11), TK15 (26), TK12 (16), Ç42' (24), X-1 (32), Ç22 (4), Ç14 (7), T7 (34), T23 (17), Ç28 (19), T26 (6) ve Ç31 (29) hat ve çeşitleri oluşturmuştur. Bu grup ise kendi içinde 2 alt gruba ayrılmıştır.



Şekil 4.4. Fasulye hatlarının ve çeşitlerinin Kümeleme Analizi ile sınıflandırılması

Birinci alt grubu; Ç20 (20), KO (1), TK12' (15), TK7 (28), Ç44 (9), TK59 (10), TK1 (33), T11'''''' (3), TK44 (18), Ç16' (25), Ç24 (12), T6 (27), TK2 (8), T2 (11), TK15 (26), TK12 (16), Ç42' (24), X-1 (32), Ç22 (4), Ç14 (7) hatları ve Y17 (35) çeşidi, ikinci alt grubu ise T7 (34), T23 (17), Ç28 (19), T26 (6) ve Ç31 (29) hatları oluşturmuştur. Genetik olarak en yakın hatlar T2 (11) ve TK15 (26); Ç42' (24), X-1 (32) ve bu iki hat bağlantılı olarak TK12 (16); KO (1) ve TK12' (15); Ç24 (12) ve T6 (27) olarak saptanmıştır. Flores vd (2003)'nin 112 fasulye aksesyonunda yaptıkları çalışmada istatistiksel analizleri sonucunda aksesyonlar üç grupta kümelenmişler ve aksesyonların toplandığı bölgenin batı kısmında doğu kısmına kıyasla daha yüksek varyasyon olduğunu saptamışlardır. Yapılan çalışmada, Tekkeköy, Terme ve Çarşamba ilçelerinde genetik yakınlığa sahip genotipler tespit edilirken Ladik ilçesi dendogramda ayrı kümelenerek bölgesel olarak varyasyon göstermiştir ve standart çeşit olan Tamara çeşiti ile ilişkilendirilmiştir.

Madakbaş vd (2007)'nin Orta Karadeniz bölgesinde yetiştirilen bodur taze fasulye populasyonlarından Ayşe Kadın özelliğinde seçtikleri genotiplerle seleksiyon çalışmaları sonucunda saf hatlar elde ederek morfolojik ve fenolojik özellikleri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda 11 hat öne çıkmıştır. Bunlar; TK15 (26), TK7 (28), TK57 (21), T26 (6), Ç31 (29), T7 (34), KO (1), TK1 (33), T23 (17) ve Ç28 (19)'dir. Antalya koşullarında yürütülen araştırmada kullanılan hatlardan bazıları aynıdır. Elde edilen dendogram incelendiği zaman söz konusu çalışmada öne çıkan hatlardan T26 (6), T23 (17), Ç28 (19), Ç31 (29) ve T7 (34)'nin aynı alt grupta; bunun yanı sıra KO (1), TK15 (26), TK7 (28) ve TK1 (33)'in de diğer alt grupta yer aldıkları görülmektedir. TK57 (21) hattı ise tek başına bir grup oluşturmuştur. Escibano vd (1997)'nin yaptıkları çalışmada, 59 fasulye populasyonunu ve 5 ticari çeşiti 3 farklı çevre koşulunda yetiştirerek 16 morfolojik ve fenolojik özellik bakımından incelemişlerdir. Araştırma sonucunda çevre x genotip interaksiyonunu, taze bakla ve kuru tohum özellikleri için önemli bulmuşlardır. Benzer şekilde aynı genotiplerin Orta Karadeniz ve Batı Akdeniz'de fenolojik olarak farklı sonuçlar vermesi BElenmektedir ki, KO (1) hattının Samsun'da 7., Antalya'da 9. günde topraktan çıkış göstermesi, TK1 (33) hattının ise Samsun'da 8., Antalya'da 10. günde topraktan çıkış göstermesi çevre x genotip interaksiyonu ile açıklanmaktadır.

Madakbaşı vd (2006b) yaptıkları bir diğer çalışmada, ayırma analizi ve kümeleme analizleri sonucunda tespit ettikleri uzak ve yakın hatların birbirine benzemediğini tespit etmişlerdir. Benzer şekilde çalışmada tek başlarına birer ana grupmuş gibi görünen Ç7, TK57, Ç33, UB, Ç22' hatları da bakla rengi, brakte şekli, kılçıklılık, baklada benek bulunması, baklada tohum belirginliği, çiçek rengi, bakla eti şekli, tane rengi, tanenin ana rengi ve tanede ikinci ana renk kriterleri bakımından incelendiğinde birbirlerinden oldukça farklı oldukları görülmüştür.

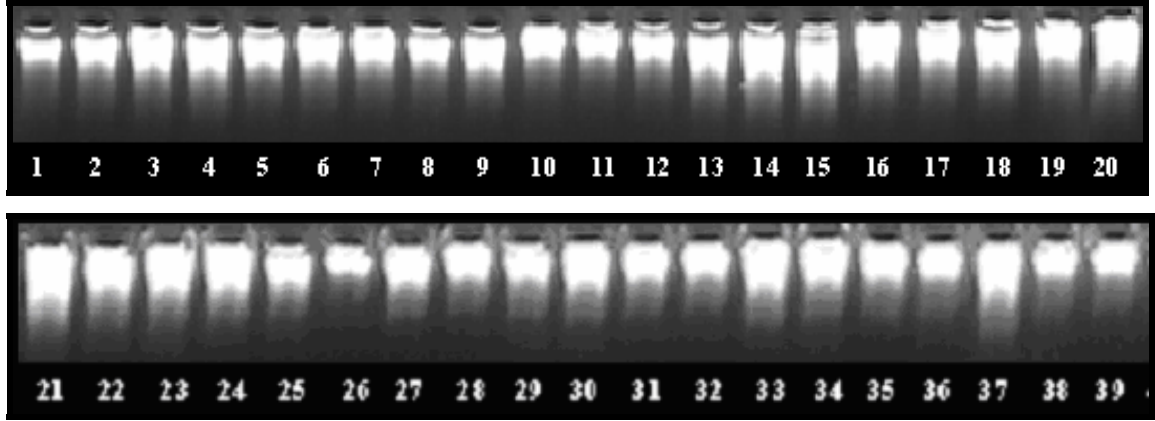
Son yıllarda daha iyi özelliklere sahip lahana çeşitleri elde etmek için genetik özelliklerin tespit edilmesinde DNA işaretleyicileri ve moleküler teknikler kullanılarak başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Birçok çalışma morfolojik ve tarımsal özelliklerin incelenmesi sonucu elde edilen karakterizasyon ile izoenzimler, alloenzimler, RAPD ve RFLP sonuçlarının farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (Balkaya vd 2005). Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Ulusal Gen Kaynakları Bankası'nda ve Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde oldukça fazla sayıda fasulye populasyonunun olduğu bilinmektedir. Çiçek yapısının kapalı olmasından dolayı verim ve diğer kantitatif özellikleri geliştirmek için yapılan ıslah çalışmalarının zor olmasından dolayı moleküler işaretleyicilerin kullanımı genetik faktörlerin anlaşılmasında ve süper genotiplerin seçilmesinde yardımcı olacaktır (Tar'ın vd 2002, Madakbaşı vd 2009). Madakbaşı vd (2006)'nin de bildirdiği gibi taze fasulye kendine döllen bir bitki olduğu için çiftçi kendi tohumunu kendisi elde etmektedir. Bu durumda da aynı renkli tohumlar arasında tohum karışımı olabilmekte ve çeşit olan tohumlar yıllar geçtikçe başka çeşitlerin karışımıyla çeşit özelliğini yitirebilmektedir. Bu nedenle morfolojik verilerin moleküler verilerle desteklenmesi son derece önemlidir.

4.2. Moleküler Analizlerin Değerlendirilmesi

4.2.1. DNA izolasyonu verilerinin değerlendirilmesi

Araştırmada kullanılan hatların genetik ilişkisinin tam olarak ortaya konulabilmesi için morfolojik değerlendirmelerin yanı sıra moleküler karakterizasyon çalışmaları da yapılmıştır. Moleküler çalışmalarda yapılan karakterizasyon için öncelikle yeterli

miktarda ve kalitede DNA elde etmek gerekmektedir. Bunun için Çalışkan (2005)'ın Doyle and Doyle (1988) metodunun modifiye ederek elde ettiği DNA izolasyon protokolü kullanılmıştır. Elde edilen DNA'lar, her hat ve çeşitten 6 µl genomik DNA ve 2 µl DNA yükleme tamponu olacak şekilde karıştırılarak % 1'lik agaroz jelde yürütülmüşlerdir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Moleküler analizlerde kullanılan hatların ve çeşitlerin genomik DNA fotoğrafları

Jel fotoğrafında da görüldüğü gibi elde edilen DNA'lar kaliteli ve miktar olarak iyi niteliktedir. Fotoğraflanarak miktarı ve kalitesi hakkında bilgi sahibi olduğumuz DNA'ların daha sonra spektrofotometrik ölçümleri yapılmıştır (Çizelge 4.6).

4.2.2. Moleküler işaretleyicilerle yapılan analizlerin değerlendirilmesi

Çalışmada 33 hat, 2 standart çeşit, 3 antraknozun farklı ırklarına dayanıklılığın tespitinde kullanılan ayırım seti çeşidi ve 1 tane de And Dağları gen havuzuna ait bir çeşit olmak üzere toplam 39 hat ve çeşitte moleküler karakterizasyon yapmak amacıyla 22 SSR ve 6 SCAR primer çifti kullanılmıştır.

4.2.2.1. SSR primer çiftleri ile yapılan analizlerin değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan 22 SSR primer çiftinden 6 tanesi değerlendirilen hat ve çeşitler için monomorfik olarak bulunmuştur.

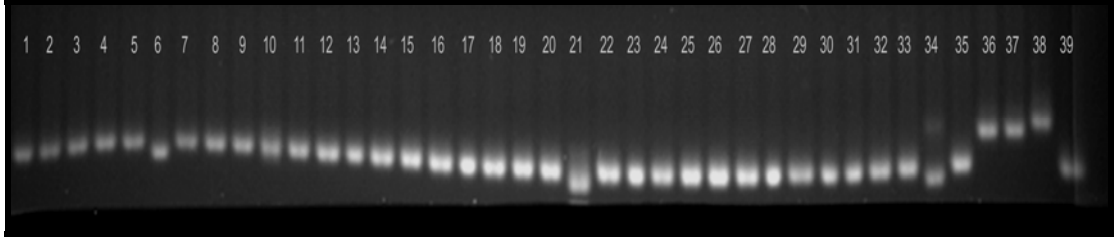
Çizelge 4.6. Moleküler analizlerde kullanılan hatların ve çeşitlerin DNA miktarları ve absorbands değerleri

Hat ve çeşitler	DNA miktarı (ng/μl)	A _{260/280} nm değeri	A _{260/230} nm değeri
KO	266,4	1,95	1,52
Ç7	443,2	1,96	1,86
T11''''''	772,9	1,98	1,79
Ç22	555,3	1,97	1,81
TK47	370,0	1,96	1,56
T26	357,3	1,98	1,52
Ç14	366,9	1,99	1,50
TK2	269,2	1,97	1,50
Ç44	406,1	1,95	1,82
TK59	397,1	1,95	1,65
T2	357,6	1,92	1,71
Ç24	199,2	1,94	1,40
L	237,7	1,95	1,52
TK32	418,4	1,95	1,85
TK12'	361,3	1,92	1,63
TK12	588,9	1,90	1,85
T23	353,9	1,94	1,67
TK44	386,6	1,93	1,66
Ç28	628,2	1,96	1,43
Ç20	576,8	1,91	1,36
TK57	677,1	1,87	1,84
Ç33	405,8	1,89	1,34
T9	451,8	1,91	1,71
Ç42'	418,2	1,91	1,87
Ç16'	283,0	1,93	1,62
TK15	212,1	1,97	1,34
T6	477,1	1,92	1,65
TK7	304,9	1,91	1,60
Ç31	231,7	1,92	1,11
UB	329,6	1,90	0,93
Ç22'	222,3	1,93	1,04
X-1	652,2	1,82	1,93
TK1	512,4	1,96	1,57
T7	450,1	1,96	1,39
TA	285,8	1,97	1,17
Cornell	391,5	1,94	1,39
Widusa	162,8	1,96	1,23
Kaboon	203,7	2,00	0,88
Redland Pioneer	183,7	1,89	1,06

Bu da araştırmada kullanılan fasulye hatlarının belirtilen SSR primer çiftleri (PV-aaat001, SSR-IAC26, SSR-IAC63, SSR-IAC84, BMd-8 ve BMd-48) tarafından çoğaltılan alanlar açısından büyüklük (amplikon) yönünden birbirinden farklı olmadığını göstermektedir. Bu sonuca göre kullanılan SSR primer çiftlerinin yaklaşık % 27'si monomorfik iken % 73'ü polimorfik sonuçlar vermiştir. SSR primer çiftlerinin polimorfizm bilgi içeriği (PBI) 0.047 (PV-atcc001) ile 0.373 (SSR-IAC116) arasında değişim göstermiştir. Bu primer çiftlerinden PBI değeri 0.25'in üzerinde olan PH7B3 (0.27), Drough1 (0.35), PV-at008 (0.31) ve SSR-IAC116 (0.373)'nın ileride yapılacak karakterizasyon çalışmaları için önerilebileceği sonucuna varılmıştır.

BM210:

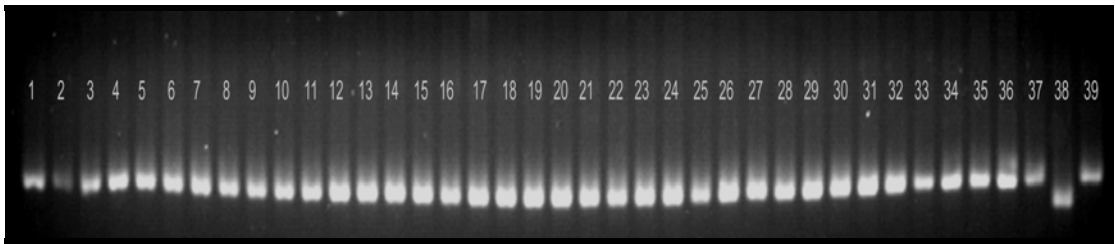
(CT)₁₅ tekrarındaki farklılığa göre polimorfizm veren ve cyclopropane yağ asiti sentezleyen protein ile benzer içeriğe sahip olan (Gaitan-Solis vd 2002) BM210 primer çifti kullanılarak elde edilen PCR ürünlerinin (% 4'lük) agaroz jelde yürütölmesi sonucunda polimorfik 4 bant elde edilmiştir (Şekil 4.6). T26 (6), TK57 (21) ve T7 (34) hatları aynı bandı verirken antraknoz ayırım setine ait çeşitlerde tamamen farklı bantlar elde edilmiştir. Ancak T7 (34) hattının ilk alleli ile Cornell (36) ve Widusa (37) çeşitlerinin allelleri aynı büyüklükte banda sahip olmuşlardır. Orta Amerika gen havuzuna ait olan Kaboon (38) çeşidi diğerlerinden farklı büyüklükte bant vererek tamamen ayrılmıştır. And Dağları gen havuzuna ait Redline Pioneer (39) çeşidi ise diğer hatlar ve çeşitler ile aynı büyüklüğe sahip bant vermiştir. BM210 primer çifti çalışılan bitkilerde oldukça düşük bir polimorfizm bilgi içeriği (PBI= 0.149) vermiştir. Elde edilen sonuç, bu primer çiftinin üzerinde çalışılan hatlar için yeterli bilgi içeriğine sahip olmadığını göstermektedir. Ancak Teixeira vd (2005)'nin Jalo EEP 558 ve Small White çaprazlaması sonucu elde ettikleri popülasyonda yaptıkları çalışmada bu primer çifti yüksek derecede polimorfizm vermiştir ve araştırmacılar çalıştıkları popülasyon için BM210'un en önemli iki işaretleyiciden biri olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen düşük PBI değeri ile Teixeira vd (2005)'nin elde ettikleri PBI değerindeki farklılık PBI hesaplama yönteminden veya kullanılan popülasyonların farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.



Şekil 4.6. BM210 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

BM146:

(CTGTTG)₄(CTG)₄(TTG)₃(CTG)₃(CTG)₄ tekrarlarındaki farklılığa göre polimorfizm veren (Gaitan-Solis 2002) BM146 primer çiftinin literatürlerde herhangi bir gen ile ilişkisi bulunamamıştır. Üzerinde çalışılan bitkiler açısından ayırt edicilik özelliği düşük olan (PBI=0.050) bu primer ile yapılan PCR ürünlerinin bant profilleri incelendiği zaman sadece Kaboon (38) çeşidinin diğerlerinden farklı büyüklükte bant verdiği görülmüştür (Şekil 4.7). Diğer tüm hatlar ve çeşitler için ise elde edilen bantlar monomorfiktir. BM146 primer çifti, bu çalışmada karakterizasyon için yeterli polimorfizmi vermemesine rağmen Teixeira vd (2005)'nin yaptığı çalışmada kullandıkları populasyonda köşeli yaprak lekesine dayanıklılığı tespit etmek için yararlanılabilecek en önemli iki işaretleyiciden biri olmuştur. BM146 primer çiftinin PBI değerinin düşük olması ve bant profillerinin sadece Kaboon (38) çeşidi için ayırt edici olması, bu allel bakımından üzerinde çalışılan hatlar ve çeşitler arasında genetik yakınlığın yüksek olabileceğini göstermektedir.

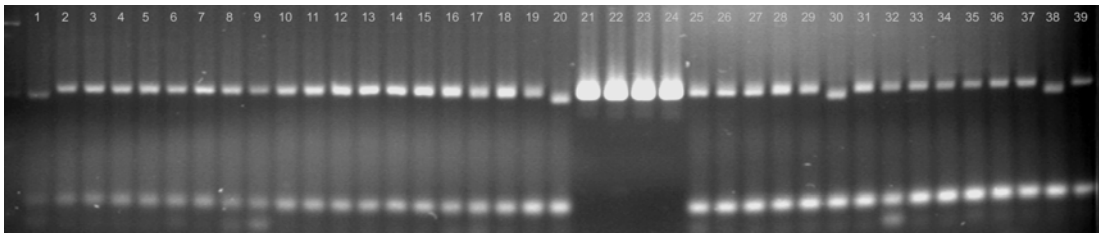


Şekil 4.7. BM146 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PH10B11:

(CT)₁₁ tekrarındaki farklılığa göre polimorfizm veren PH10B11 primer çifti patogenesisle ilişkili bir gene bağlı bulunmaktadır (Sicard vd 2005). Bu primer çifti ile

toplam 3 adet polimorfik bant elde edilmiştir (Şekil 4.8). KO (1), Ç20 (20) hatları ile UB (30) ve Kaboon (38) çeşitleri sahip oldukları her iki allelde de aynı bant profilini vermişlerdir. TK57 (21), Ç33 (22), T9 (23) ve Ç42' (24) hatları da verdikleri bant profili ile diğer hat ve çeşitlerden ayrılmıştır. Bu primer çiftinin BM210 ve BM146 gibi PBİ değerinin (0.184) düşük olmasına rağmen BM210 ve BM146 primer çiftlerine göre, çalışılan bitkiler için ayırım gücü daha yüksektir. Sicard vd (2005), Orta İtalya'nın 11 farklı bölgesinde bulunan 12 çiftlikten 14 *P. vulgaris* ve 9 *P. coccineus* türüne ait toplam 23 yerel çeşit toplamışlar ve bu çeşitlerin genetik ilişkilerini incelemişlerdir. Çalışmada, PH10B11 primer çifti verdiği 11 allel ile en polimorfik lokus olmuştur. Bu primer çifti hem *P. vulgaris* hem de *P. coccineus* türleri için yüksek düzeyde polimorfizm göstermiştir. Araştırmada iki farklı türün çalışılmış olması polimorfizm oranını arttırmıştır. Bununla birlikte Orta İtalya gibi daha geniş bir alandan materyal toplanması da polimorfizmin artmasındaki nedenlerden birisidir. Yapılan çalışmada ise hatlar sadece Samsun ilinin 4 ilçesinden toplanmıştır ve bu ilçelerden 3 tanesi (Terme, Tekkeköy, Çarşamba) Şekil 3.2'de de görüldüğü gibi birbiri ile sınırı olan ilçelerdir. KTAE'de ümitvar olarak teksel seleksiyonla tespit edilen bu hatların, genetik olarak ayırımının yapıldığı bu çalışmada, genotiplerin çok dar bir alandan toplanmış olması ve polimorfizmin düşük olması birlikte düşünüldüğünde genotiplerin üretimini yapan üreticiler tarafından yıllar içerisinde karıştırılmış ve farklı isimlerle aynı tiplerin yetiştirilmiş olabileceği ihtimalini düşündürmektedir.

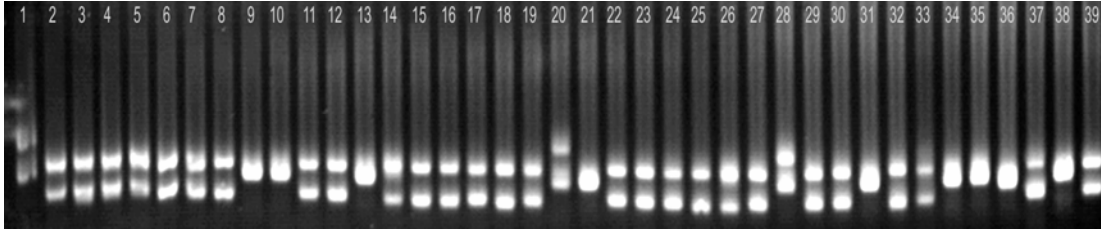


Şekil 4.8. PH10B11 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PH7B3:

(AT)₉ tekrarında meydana gelen farklılığa göre polimorfizm veren PH7B3 primer çifti de yine patogenesisle ilişkili bir gene bağlı bulunmaktadır (Sicard vd 2005). Bu primer çifti ile yapılan mevcut çalışmada toplam 6 adet polimorfik bant elde edilmiştir (Şekil 4.9). Araştırmacılar aynı çalışmada PH7B3 primer çiftini de kullanmışlar ve

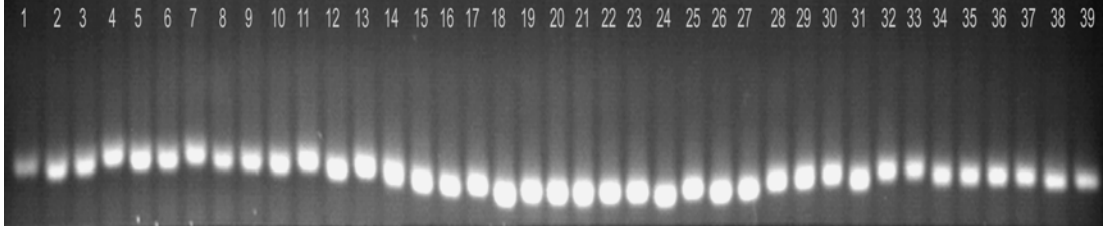
PH10B11 primer çifti gibi bu primer çiftinin de her iki tür için (*P. Vulgaris* ve *P.coccineus*) polimorfik olduğunu tespit etmişlerdir. PH10B11 primer çifti PH7B3 primer çiftine göre daha fazla polimorfik bant verirken bu çalışmada PH7B3 primer çifti daha fazla polimorfik bant vermiştir. Bu sonuç PBI değeri (0.27) düşük olmasına rağmen üzerinde çalışılan bitkilerin karakterizasyonunda PH7B3 primer çiftinin daha etkin olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 4.9. PH7B3 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

DROUGH 1:

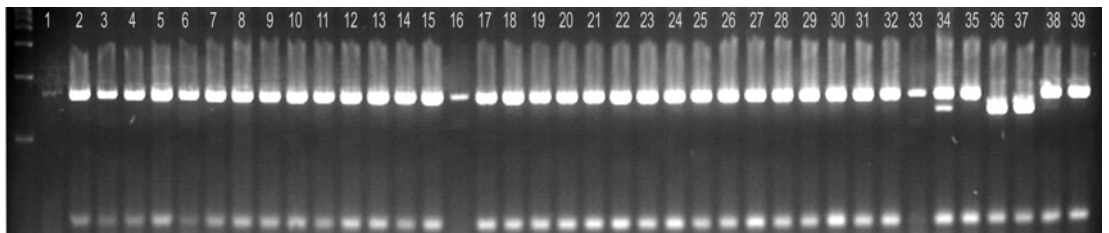
(TA)₅ tekrarında meydana gelen farklılığa göre polimorfizm veren Drough1 primer çiftini *P. vulgaris* ve *P. coccuneus* türlerinde deneyen Guerra-Sanz vd (2004), toplam 20 SSR primer çifti içerisinde 7 allel ile en bilgilendirici lokusun Drough 1 olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada ise Drough 1 primer çifti 3 allel vermiş ve polimorfizm bilgi içeriği 0.35 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.10). Bu değer çalışılan SSR ve SCAR primer çiftlerinin verdiği PBI değerlerinin en yükseklerinden bir tanesidir. Elde edilen bant profili incelendiği zaman T23 (17) hattı diğer hat ve çeşitlerden ayrılmış durumdadır. Bunun yanı sıra aşağıda belirtilen 2 ayrı grup daha oluşmuştur. I. grupta Ç22 (4), Ç14 (7), T2 (11), L (13), TK32 (14), TK12' (15), TK12 (16), TK44 (18), Ç28 (19), Ç20 (20), TK57 (21), Ç33 (22), T9 (23), Ç16' (25), TK7 (28), Ç31 (29), UB (30), X-1 (32) ve TK1 (33) hat ve çeşitleri yer alırken, II. grupta KO (1), Ç7 (2), T11'''' (3), TK47 (5), T26 (6), TK2 (8), Ç44 (9), TK59 (10), Ç24 (12), T23 (17), Ç42' (24), TK15 (26), T6 (27), Ç22' (31), T7 (34) hatları, TA, Cornell, Widusa, Kaboon ve Redline Pioneer çeşitleri yer almıştır.



Şekil 4.10. DROUGH 1 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

BMd-45/AIA:

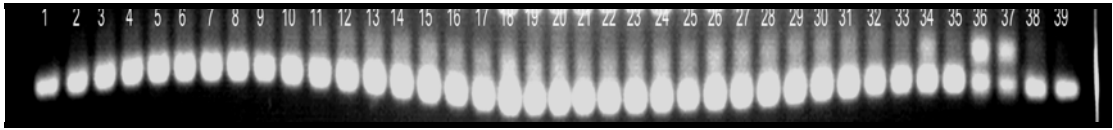
9 nükleotidlik kusurlu bir tekrar olan BMd-45/AIA primer çifti, BMd-45 SSR primer çiftinin forward AIA primer çiftinin ise reverse primerlerinin birleştirilmesi ile elde edilmiştir. Bu primer çifti ile yaptığımız analiz sonucunda 207 ve 245 bp uzunluğunda iki adet polimorfik bant elde edilmiştir (Şekil 4.11). 207 bp uzunluğundaki bantlar Widusa (37) ve Cornell (36) çeşitlerinde elde edilirken, 207 bp uzunluğundaki bantlar diğer tüm bitkilerde elde edilmiştir. Her iki çeşit te Orta Amerika gen havuzuna aittir. 245 bp uzunluğunda bant veren Kaboon (38) çeşidi Redline Pioneer (39) gibi And Dağları gen havuzuna aittir ve diğer tüm hat ve çeşitler ile aynı uzunlukta bant vermişlerdir. PBI değerinden (0.065) bu primer çiftinin çalışılan bitkilerdeki polimorfizmi ortaya çıkarmak için uygun olmadığı görüşüne varılmıştır. Paneda vd (2007)'nin 3 farklı popülasyonda *fin* genine bağlı moleküler işaretleyicileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, denenen BMd-45/AIA primer çiftinin MDRK (*finfin*-bodur) ve V225 (*FinFin*-sırık); Xana (*finfin*) ve Cornell 49242 (*FinFin*) çeşitlerini çaprazlayarak oluşturdukları 2 ayrı F₂ popülasyonunda ko-dominant ayrım gösterdiğini belirlemişlerdir ve bu primer çiftinin *fin* genine yüksek oranda bağlı (popülasyonlar için sırasıyla 4.1 cM ve 3.3 cM) olduğu sonucuna ulaşmışlardır.



Şekil 4.11. BMd-45/AIA SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PV-atcc001:

(ATCC)₃(AG)₂ tekrarındaki farklılığa göre polimorfizim veren PV-atcc001 primer çifti, beta-phaseolin genine bağlı bulunmaktadır (Yu vd 2000). Yapılan mevcut çalışmada PV-atcc001 primer çifti iki allel vermiştir ve PBİ değeri 0.047 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.12). Üzerinde çalışılan hatlar için polimorfizim düzeyi düşük olan bir primer çifti olmakla birlikte T7 (34) hattı ile antraknozun bazı ırklarına dayanıklı olan Cornell (36) ve Widusa (37) çeşitlerinde aynı büyüklükte bant vermiştir. PV-atcc001 primer çifti, Blair vd (2006)'nin 43 *P. vulgaris* [(12 tanesi And Dağları'na ait (10 kültür, 2 yabani), 31 Orta Amerika gen havuzuna ait genotip] ve 1 adet *P. acutifolius* genotipinin 150 SSR primer çifti kullanarak karakterize edildiği çalışmada kullanılmıştır. Çalışmada, bu primer çifti yaklaşık 172 bp uzunluğunda tek bant vermiştir ve PBİ değeri monomorfik olmasından dolayı 0 olarak hesaplanmıştır. PV-atcc001 primer çifti her iki çalışmadaki popülasyonlar içinde ve arasındaki polimorfizmi belirlemede açıklayıcı olmamıştır. 28 allel veren ve PBİ değeri 0.942 olan BMd1 gibi primer çiftleri de kullanılarak gen havuzları arasındaki farklılık ortaya konabilmiş ve genotipler arasındaki genetik uzaklığa açıklama getirilmiştir. Bu araştırmada ise tekseleleksiyeon yöntemi ile ıslah edilmiş materyaller arasında yapılan bir çalışma olduğu ve hatların çok yakın olduğu düşünüldüğü için elde edilen sonuç öngörülerimiz ile örtüşmektedir. Ancak her iki çalışmada da, polimorfik bant verme açısından yetersiz kalan PV-atcc001 primer çiftinin mutlak tavsiye edilebilir bir SSR primer çifti olmadığı söylenebilir.

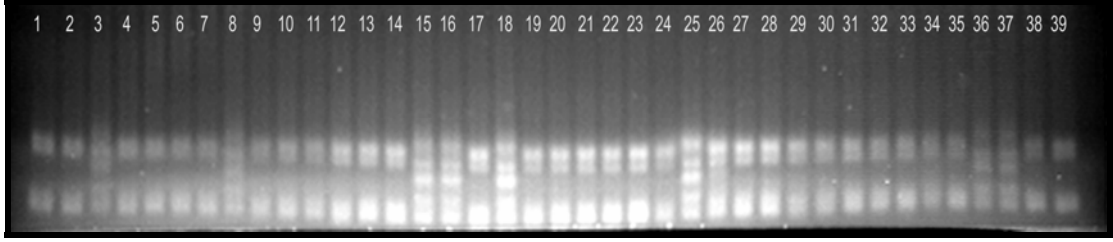


Şekil 4.12. PV-atcc001 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PV-ag004:

(AG)₈ tekrarındaki farklılığa göre polimorfizim veren PV-ag004 primer çifti Phytohemagglutinin ile ilişkilidir (Yu vd 2000). Bu primer çifti çalışılan hat ve

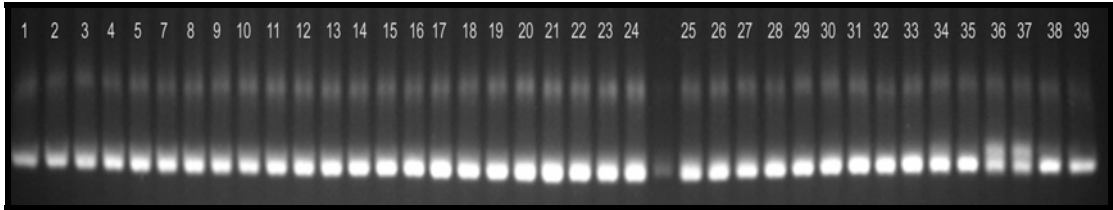
çeşitlerde 6 adet polimorfik bant vermiştir (Şekil 4.13). Verdiği bant profilleri incelendiği zaman hat ve çeşitler 2 gruba ayrılmıştır. T11'''''' (3), TK2 (8), TK12' (15), TK12 (16), TK15 (26) hatları ile Cornell (36) ve Widusa (37) çeşitleri bir grupta yer alırken diğerlerinin tamamı ikinci grubu oluşturmaktadır. Polimorfizm bilgi içeriği 0.217 olan bu primer çifti, Blair vd (2006)'nin yaptığı çalışmada 9 adet allel vermiş ve PBI değeri de 0.546 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.13. PV-ag004 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PV-atcc003:

PV-atcc003 primer çifti Alfa-phaseolin genine bağlıdır ve (ATCC)₃ tekrarındaki farklılığa göre polimorfizm veren içermektedir (Yu vd 2000). Blair vd (2006)'nin yaptığı çalışmada 3 allel veren bu primer çifti, üzerinde çalıştığımız hatlarda polimorfik bant vermemiş sadece antraknoz ayırım setine ait çeşitlerden Cornell ve Widusa için polimorfik bant vermiştir (Şekil 4.14).

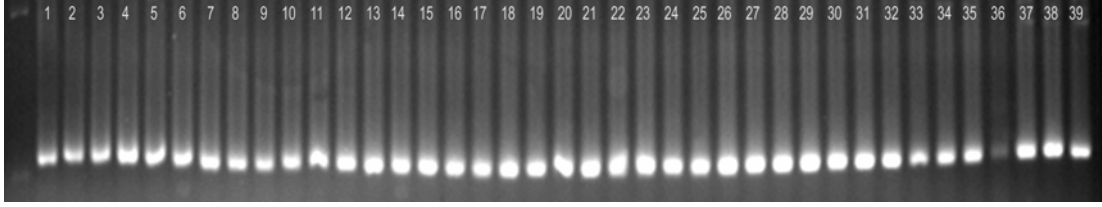


Şekil 4.14. PV-atcc003 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PV-tttc001:

Nitrat indirgeyici gene bağlı olan bu primer çifti (TTTC)₄ tekrarında bulunan farklılığa göre polimorfizm vermektedir (Yu vd 2000). Blair vd (2006)'nin yaptığı çalışmada 162- 258 bp aralığında 6 allel veren PV-tttc001 primer çifti bu araştırmada sadece polimorfik 2 bant vermiştir (Şekil 4.15). Elde edilen bant profiline göre KO (1),

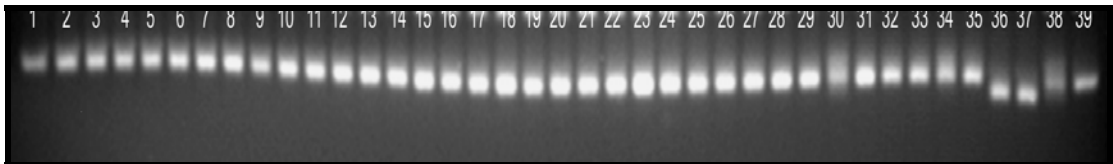
Ç14 (7), TK2 (8) ve Ç44 (9) hatları diğerlerinden farklı büyüklükte bant profiline sahip olmuşlardır.



Şekil 4.15. PV-tttc001 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PV-gaat001:

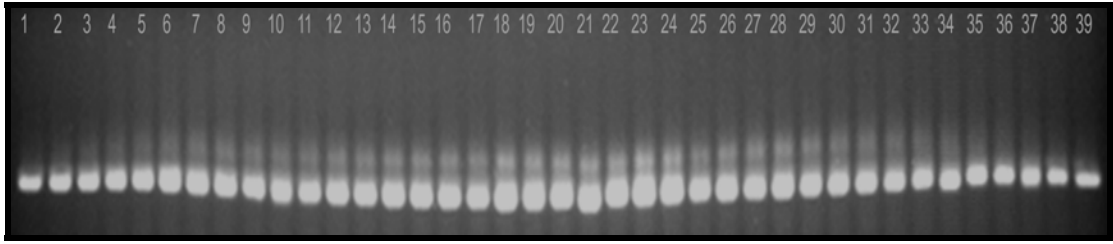
Carboxylase/oxygenase genine bağlı olan PV-gaat001 primer çifti (GAAT)₅ tekrarında bulunan farklılığa göre polimorfizm vermektedir (Yu vd 2000). Bu çalışmada, PV-gaat001 primer çifti ile 3 adet polimorfik bant elde edilmiştir (PBI= 0.112). Şekil 4.16’da da görüldüğü gibi Uludağ barbun (30) ve Kaboon (38) çeşitleri ile T7 (34) hattı benzer bantlar verirken Cornell (36) ve Widusa (37) çeşitleri de aynı büyüklükte bantlara sahip olurken diğer hat ve çeşitlerden ayrılmıştır. Mahuku vd(2009)’i yaptıkları çalışmada, And Dağları ve Orta Amerikan gen havuzuna ait genotiplerde köşeli yaprak lekesine karşı dayanıklılığı sağlayan genlerin karakterizasyonunu ve bunun için de bu genlere bağlı olan moleküler işaretleyiciler geliştirmeyi hedeflemişlerdir. Bu amaçla kullanılan PV-gaat001 primer çiftinin çalışılan popülasyonda monomorfik olduğunu tespit etmişlerdir. Carvalho Chediak vd (2007)’nin hazırladıkları rapora göre de PV-gaat001 primer çifti 0.19 ile düşük bir polimorfizm bilgi içeriği vermiştir. PV-gaat001 primer çiftinin kullanıldığı her üç çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında PV-gaat001 primer çiftinin karakterizasyon çalışmaları için mutlak önerilebilir bir primer çifti olmadığı söylenebilir.



Şekil 4.16. PV-gaat001 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

SSR-IAC14:

Serine/threonine protein ile ilişkili olan SSR-IAC14 primer çifti, (GT)₇ tekrarındaki farklılığa göre polimorfizim vermektedir (Benchimol vd 2007). PBI değeri 0.141 olarak bulunan bu primer çifti polimorfik 2 bant vermiştir (Şekil 4.17). Bant profili TK57 (21), T7 (34) hatları ile Widusa (37) ve Redline Pioneer (39) çeşitlerini diğer hat ve çeşitlerden ayırmaktadır. Benchimol vd (2007), (CT) ve (GT) mikrosatellit motifleri yönünden zengin olan 'IAC-UNA' çeşidini kullanarak bir fasulye genomik kütüphanesi oluşturmuşlardır. Seçilen 20 fasulye aksesyonunda toplam 123 mikrosateliti karakterize etmişler ve bunlardan 87 tanesi polimorfik, 33 tanesi monomorfik sonuç vermiştir. PBI değerleri ise 0.05 ila 0.83 arasında değişiklik göstermiştir. SSR-IAC14 primer çifti, polimorfik 2 bant vermiş ve PBI değeri ortalama 0.49 olarak hesaplanmıştır.

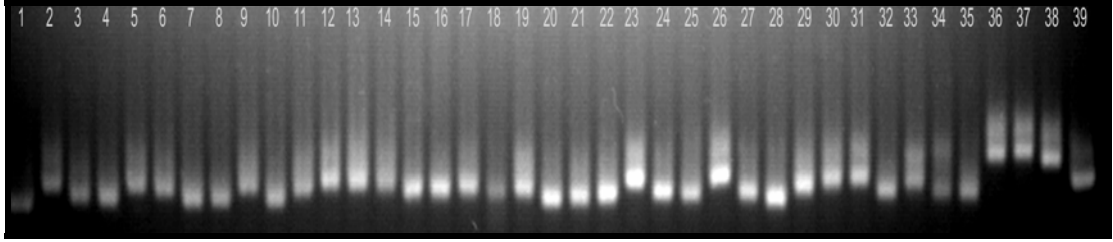


Şekil 4.17. SSR-IAC14 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PV-at007:

Malik enzim ile ilişkili bir primer çifti olan PV-at007, (AT)₁₂ tekrarındaki farklılığa göre polimorfizimi belirlemektedir (Yu vd 2000). Yu vd (2000)'nin yaptığı çalışmada polimorfik 10 bant veren PV-at007 primer çifti bu çalışmada da 8 polimorfik bant vererek en polimorfik primer çifti olmuştur. Şekil 4.18'de görüldüğü gibi elde edilen bant profilleri incelendiğinde verdikleri bantlara göre hatlar ve çeşitler 8 gruba ayrılmıştır. Bunlar; **1. Grup** Cornell (36) ve Widusa (37) **2. Grup** Kaboon (38) **3. Grup** Ç7 (2), TK47 (5), Ç20 (20), T9 (23), TK15 (26), UB (30), Ç22' (31) ve TK1 (33) **4. Grup** T7 (34) **5. Grup** Ç24 (12), L (13), TK32 (14) ve Redland Pioneer **6. Grup** T26 (6), Ç44 (9), T2 (11), TK12' (15), TK12 (16), T23 (17), TK44 (18), Ç42' (24), Ç16' (25), T6 (27), Ç31 (29), X-1 (32) ve TA (35) **7. Grup** T11'''''' (3), Ç22 (4), Ç14 (7),

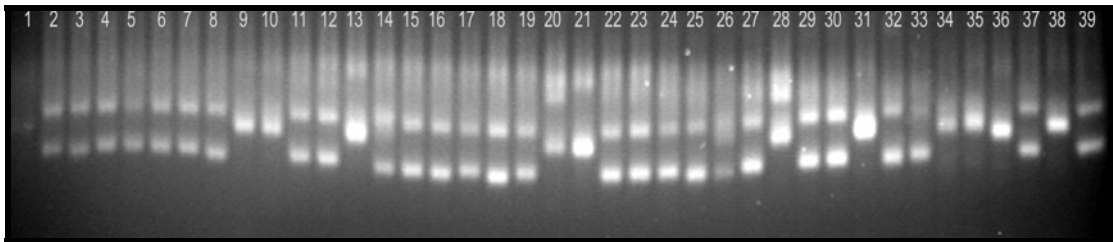
TK2 (8), TK59 (10), Ç20 (20), TK57 (21), Ç33 (22) ve TK7 (28) **8. Grup** KO (1). Bu çalışmada sadece Samsun ilinden dar bir alandan toplanan ve teksele seleksiyona tabi tutulan hatların kullanılması, genetik uzaklığın yüksek olmayacağı öngörüsünü oluşturmaktadır. Bu duruma rağmen PV-at007 primer çiftinin verdiği bant profili bu primer çiftinin karakterizasyon çalışmaları için kullanılabilir olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.18. PV-at007 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PV-at008:

PV-at008 primer çifti, (AT)₇(TA)₉ tekrarında bulunan farklılığa göre polimorfizmi tespit eden ve ribonükleaz benzeri bir patogenesis ile ilişkili bir gene bağlıdır (Yu vd 2000). Yu vd (2000)'nin yaptığı çalışmada 3 allel veren PV-at008 primer çifti, bu çalışmada 4 allel vermiş ve 0.310 polimorfizm bilgi içeriği ile de en polimorfik primer çiftlerinden biri olmuştur. Bant profili incelendiği zaman (Şekil 4.19); KO (1), Ç44 (9), TK59 (10), Ç22' (31), T7 (34) hatları ile Tamara (35) ve Kaboon (38) çeşitleri aynı büyüklükte bantlar vermişlerdir.

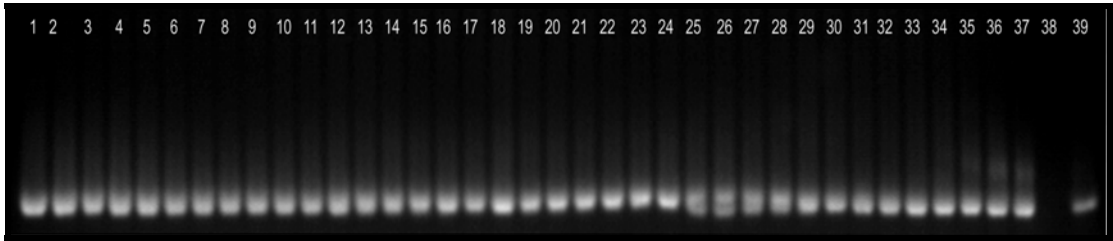


Şekil 4.19. PV-at008 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

SSR-IAC116:

SSR-IAC116 primer çifti (GA)₃(GT)₂ tekrarındaki farklılığa göre polimorfizmi belirlemektedir (Benchimol vd 2007). Benchimol vd (2007)'nin yaptığı çalışmada

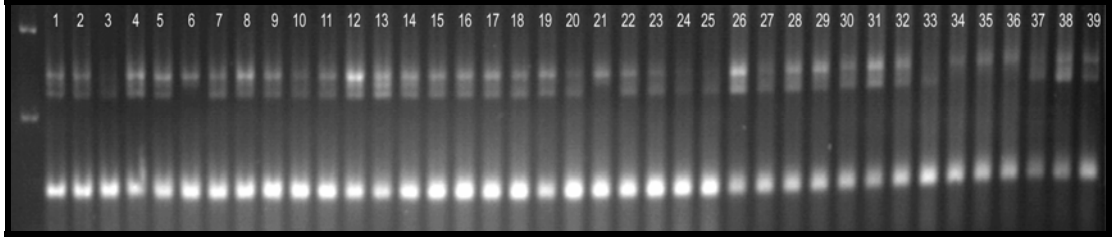
monomorfik tek allel veren SSR-IAC116 primer çifti, bu çalışmada polimorfik 3 bant vermiş (Şekil 4.20) ve Ç16' (25), TK15 (26), T6 (27) ve TK7 (28) hatları için ayırıcı olmuştur (PBI 0.373). SSR-IAC116 primer çiftinin Benchimol vd (2007)'nin çalıştığı 20 fasulye aksesyonunda polimorfizm vermemesine rağmen, bu çalışmada polimorfizm vermesi, bu primer çiftinin karakterizasyonu yapılan Ç16' (25), TK15 (26), T6 (27) ve TK7 (28) hatlarında ileride yapılacak çalışmalarda başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.20. SSR-IAC116 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

PV-atct001:

(ATCT)₃ tekrarındaki farklılığa göre polimorfizm veren PV-atct001 primer çifti polimorfik 3 bant vermiştir (PBI 0.091). Da Silva vd (2003) yaptıkları çalışmada, köşeli yaprak lekesi hastalığına (*Phaeoisariopsis griseola*) dayanıklı genotiplerin seçimine yardımcı olabilmek amacıyla bu hastalık ile ilişkili RAPD primer ve SSR primer çiftlerini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Denedikleri 108 RAPD primerinden ve 32 SSR primer çiftinden sadece birer tanesinin dayanıklılık alleli ile bağlandığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada da kullanılan PV-atct001 (5'CAA TTA AAA CTC AAC CAA CCC AAA TA3' ve 5'TTT CCC GCC ATA GAA TAT GTG AGA3') primer çiftinin, ayırım populasyonlarında dayanıklı bitkilerin seçilmesi için son derece kullanışlı bir işaretleyici olduğunu bildirmişlerdir. Da Silva vd (2003)'nin yaptığı çalışmada PV-atct001 primer çiftinin bant profillerinde hastalığa karşı hassas olanlar tek bant, dayanıklı olanlar ise çift bant vermiştir. Bu çalışmada da çift bant veren hatlar bulunmaktadır (Şekil 4.21). Bunlar; T26 (6), TK57 (21), T7 (34) hatları ile TA (35), Cornell (36), Widusa (37) çeşitleridir. Yu vd (2000)'nin yaptığı çalışmada ise bu primer çifti monomorfik tek allel vermiştir.



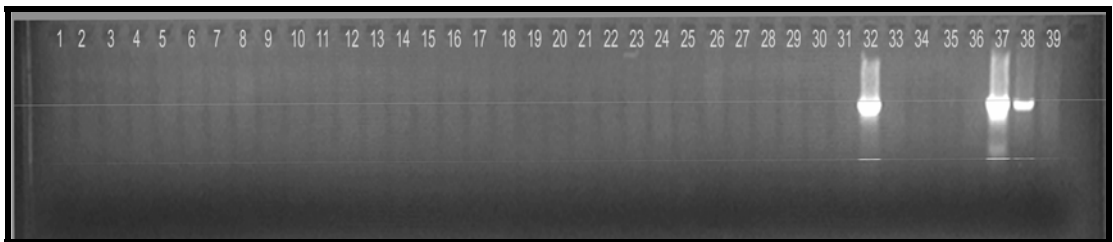
Şekil 4.21. PV-atct001 SSR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

4.2.2.2. SCAR primer çiftleri ile yapılan analizlerin değerlendirilmesi

Araştırmada toplam 6 adet SCAR primer çifti kullanılmış ve PCR ürünleri % 2'lik agaroz jelde yürütülmüştür. SCAR primer çiftlerinin tamamı araştırma yapılan 33 hat ve 6 çeşit için polimorfik bulunmuştur. SCAR primer çiftlerinin PBI değerleri 0.379 (SB10) ile 0.071 (SAP6) arasında değişim göstermiştir. PBI değerini 0.25'in üzerinde veren SB10, Phs (0.257) primer çiftleri olmuştur.

SAP6:

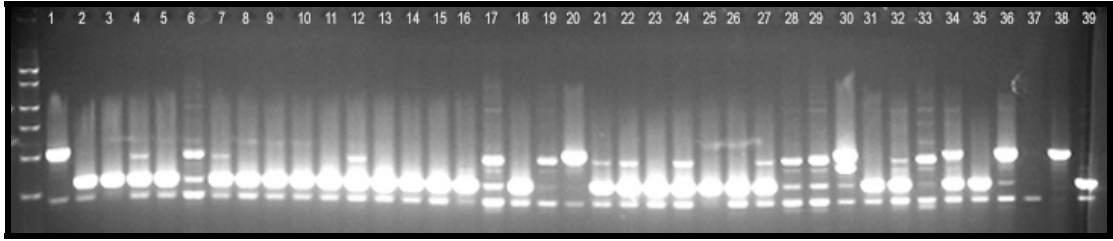
SAP6 primer çifti, çalışılan hat ve çeşitlerin sadece 3 tanesinde [X-1 (32) hattı ile Widusa (37) ve Kaboon (38) çeşitleri] amplifike olmuştur (Şekil 4.22). SAP6 primer çiftinin üzerinde çalışılan bitkiler için polimorfizm bilgi içeriği 0.071 bulunmuştur. Blair vd (2002) yaptıkları bir çalışmada, SEL1309 ile DOR476 çaprazlaması sonucu elde edilen bireyleri kullanarak, bakteriyel yanıklık ve fasulye altın mozaik virüsünü kontrol eden genleri tespit etmeye çalışmışlardır. Bunun için kullandıkları işaretleyiciler arasında bulunan SAP6 primer çifti bakteriyel yanıklığa hassas olan genotiplerin DNA'sından oluşturulan DNA bulkında 800 bp'lık bant verirken dayanıklı genotiplerin DNA'sından oluşturulan bulkında ise bant vermemiştir.



Şekil 4.22. SAP6 SCAR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

SB10:

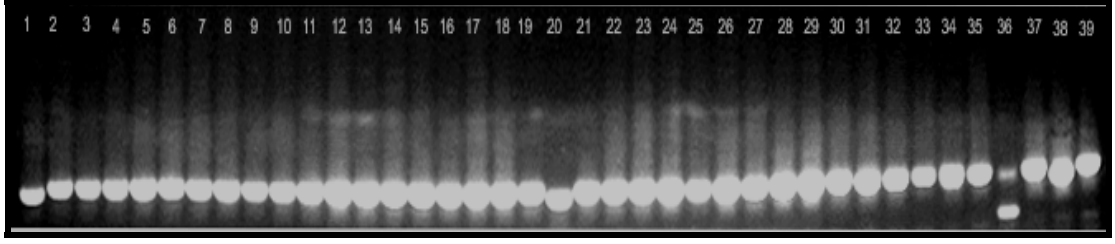
SB10 primer çifti, üzerinde çalışılan hat ve çeşitlerde en az bir en fazla beş bant oluşturmuştur. Şekil 4.23'te de görüldüğü gibi Toplam 6 polimorfik bant veren bu primer çifti çalışmada kullanılan en fazla polimorfizm veren primer çiftlerinden birisi olmuştur (PBİ 0.379). Yapılan Gradient PCR analiz sonucuna göre belirlenen bağlanma sıcaklığında oluşturulan SCAR protokolü ile SB10 primeri için istenilen kalitede bantlar elde edilmiştir. Myers vd (2004), SB10 primer çiftinin hale yanıklığına dayanıklılığı sağlayan Pse-1, Pse-3 ve Pse-4'ten Pse-1'e tamamen bağlı olduğunu bildirmişlerdir. SB10 primer çiftinin üzerinde çalışılan hatlarda hale yanıklığı hastalığı için ileride yapılacak olan ıslah çalışmalarında başarıyla kullanılabileceği tespit edilmiştir.



Şekil 4.23. SB10 SCAR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

SI19:

Toplam 3 adet polimorfik bant veren SI19 primer çiftinin bant profilleri incelendiği zaman KO (1), Ç20 (20) hatları ve Kaboon (38) çeşidi diğer hat ve çeşitlerden ayrılmıştır (Şekil 4.24). Bunun yanı sıra SI19 primer çifti ile Cornell (36) çeşidi diğer tüm hat ve çeşitlerden farklı bant vermiştir (PBİ 0.111). de Souza vd (2007) yaptıkları bir çalışma ile fasulye pasına dayanıklılığın kalıtımını tespit etmeyi ve SI19 primer çiftinin dayanıklılık genine bağlı (link) olduğunu teyit etmeyi amaçlamışlardır. Araştırmanın sonucunda dayanıklılığın tek bir dominant gen tarafından idare edildiğini ve SI19 primer çiftinin bu gene 3.31 cM uzaklıkta bağlı olduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada elde edilen verilere göre KO, Ç20 ve Kaboon hariç tüm diğer hat ve çeşitlerin fasulye pasına karşı dayanıklı olduğu düşünülebilir. Bu araştırmada kullanılan hatlar ile ileride yapılacak çalışmalarda pozitif kontrol kullanarak belirtilen öngörü teyit edilmelidir. Ayrıca KO, Ç20 ve Kaboon çeşitlerinde elde edilen ikinci allelin de ileride yapılacak çalışmalar ile araştırılması gerekmektedir.



Şekil 4.24. SI19 SCAR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

Psh:

Psh (phaseolin tohum proteini) primer çifti polimorfik 3 bant vermiştir. Ç16' (25) hattı ve Cornell (36) çeşidi tek bant verirken diğerlerinin bir kısmı 2, diğer kısmı ise 3 bant vermiştir. Miklas (2007)'ın yaptığı çalışmaya göre beyaz çürüklük hastalığına kısmen dayanıklı olan hatlarda T-phaseolin alleli (3 bantlı), hassas olan hatlarda ise S-phaseolin (2 bantlı) alleli bağlanmıştır. Bu çalışmada da benzer sonuçlar alınmıştır. Sing vd (1991)'nin bildirdiğine göre Orta Amerika gen havuzuna ait genotiplerde 'S' veya 'M' phaseolin bulunurken And Dağları'na ait gen havuzundaki genotiplerde 'T' veya 'B' phaseolin bulunmaktadır (Sing vd 1991). Bunların dışında 'CH' ve 'I' phaseolinde bulunmaktadır ki tek bant veren Ç16' hattının ileride yapılacak çalışmalarda bu açıdan incelenmesinde fayda görülmektedir.

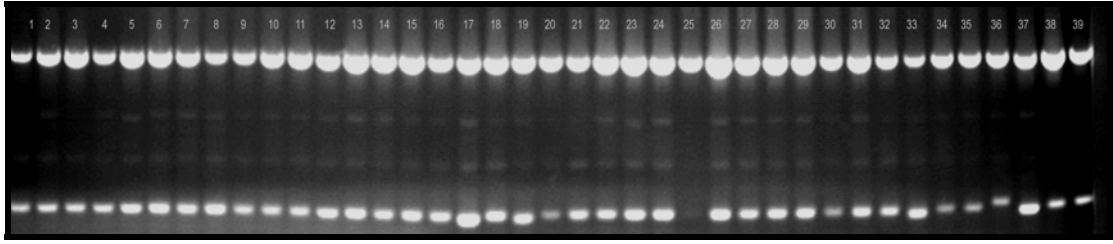
SY20:

SY20 SCAR primer çifti 3 adet polimorfik bant vermiştir. Tek bant veren 3 hat bulunmaktadır. Bunlar; KO (1), Ç14 (7) ve T23 (17) hatlarıdır. 2 bant verenler; Ç7 (2), Ç22 (4), Ç44 (9), TK15 (26), T6 (27) ve TK7 (28) hatlarıdır. Diğer hat ve çeşitler ise 3 bant oluşturmuştur (PBİ 0.17).

SN02:

SN02 primer çifti polimorfik 3 bant vermiştir. Verdiği bant büyüklüklerine göre T23 (17), Ç28 (19), TK1 (33) hatları ile Widusa (37) çeşidi bir grup oluşturmaktadır (Şekil 4.25). Cornell (36) çeşidi ise diğerlerinden tamamen farklı büyüklükte bir bant vermiş ve tek başına ayrılmıştır. Kalan tüm hat ve çeşitler ise SN02 primer çiftinin verdiği bant profiline göre aynı grupta yer almaktadır (PBİ 0.133). Nietzsche vd (2000), köşeli yaprak lekeli hastalığına dayanıklılığı sağlayan *Pgh-2* geninin Cornell çeşidinde

bulunduğunu bildirmişlerdir. SN02 primer çiftinin bant profiline baktığımız zaman tek bant verdiğini ve bu bantın da sadece Cornell çeşidinde var olduğunu görmekteyiz. Bu profil, Nietsche vd (2000)'nin araştırma sonucu ile karşılaştırıldığında Cornell (36) haricinde, çalışılan tüm hat ve çeşitlerin Nietsche vd (2000)'nin üzerinde çalıştığı köşeli yaprak lekesi ırkına hassas olabileceğini düşündürmektedir. Ancak kesin bir sonuca ulaşmak için ileride yapılacak çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.



Şekil 4.25. SN02 SCAR primer çifti ile amplifikasyon sonucu elde edilen bant profili

4.2.2.3. SSR ve SCAR analizleri sonucunda elde edilen dendogramın, benzerlik indeksinin ve PCO grafiğinin değerlendirilmesi

SSR ve SCAR primer çiftlerinin analizi sonucu elde edilen dendogram Şekil 4.26'da verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi hat ve çeşitler dendogramda öncelikle 2 ana gruba ayrılmışlardır. İlk grupta antraknoza dayanıklılık ayırım setinin üyesi olan ve Orta Amerika gen havuzunda yer alan Cornell (36) ve Widusa (37) çeşitleri yer almaktadır. Bu iki çeşit diğer gruptan 0.66 yakınlık derecesi ile ayrılmıştır. Antraknoz ayırım setinin bir çeşidi olan ve And Dağları gen havuzunda yer alan Kaboon (38) çeşidi ile yine And Dağları gen havuzunda yer alan bir Amerikan çeşidi olan Redland Pioneer (39) çeşidi ise denemeye alınan tüm hat ve çeşitler ile birlikte aynı ana grup altında toplanmıştır. Bu durum üzerinde çalışılan hatların And Dağları gen havuzu ile daha yakın bir genetik ilişkiye sahip olduğunu göstermektedir.

İstatistik analiz sonuçlarına göre fasulye hat ve çeşitleri arası genetik benzerlik indeksi 0.52–0.98 arasında değişim göstermektedir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. SSR ve SCAR primer çiftlerinin analizi sonucu elde edilen benzerlik indeksi

H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21	H22	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	H31	H32	H33	H34	H35	H36	H37	H38	H39	
H1	1																																						
H2	0,69	1																																					
H3	0,66	0,89	1																																				
H4	0,68	0,89	0,88	1																																			
H5	0,70	0,98	0,89	0,92	1																																		
H6	0,66	0,89	0,86	0,91	0,92	1																																	
H7	0,70	0,89	0,85	0,95	0,87	0,85	1																																
H8	0,69	0,87	0,95	0,88	0,90	0,86	0,88	1																															
H9	0,80	0,84	0,80	0,83	0,84	0,83	0,85	0,83	1																														
H10	0,76	0,85	0,84	0,86	0,88	0,84	0,81	0,84	0,91	1																													
H11	0,68	0,92	0,88	0,95	0,94	0,93	0,90	0,88	0,85	0,86	1																												
H12	0,70	0,95	0,89	0,94	0,98	0,94	0,89	0,90	0,84	0,88	0,94	1																											
H13	0,75	0,86	0,81	0,88	0,89	0,83	0,83	0,83	0,81	0,90	0,94	0,90	0,89	1																									
H14	0,67	0,95	0,89	0,94	0,95	0,89	0,91	0,87	0,84	0,85	0,96	0,95	0,91	1																									
H15	0,63	0,88	0,94	0,89	0,88	0,87	0,87	0,92	0,82	0,81	0,94	0,88	0,84	0,93	1																								
H16	0,64	0,85	0,92	0,87	0,86	0,84	0,84	0,89	0,79	0,78	0,92	0,86	0,82	0,90	0,98	1																							
H17	0,68	0,86	0,80	0,89	0,86	0,87	0,87	0,81	0,79	0,78	0,89	0,88	0,80	0,86	0,84	0,81	1																						
H18	0,62	0,82	0,88	0,86	0,85	0,84	0,81	0,89	0,76	0,77	0,91	0,85	0,81	0,87	0,94	0,83	1																						
H19	0,65	0,88	0,82	0,89	0,91	0,85	0,84	0,81	0,74	0,78	0,89	0,91	0,84	0,91	0,84	0,83	0,88	0,85	1																				
H20	0,84	0,72	0,74	0,79	0,75	0,71	0,73	0,72	0,78	0,84	0,79	0,75	0,85	0,77	0,73	0,72	0,71	0,74	0,78	1																			
H21	0,63	0,73	0,72	0,82	0,76	0,82	0,76	0,72	0,75	0,82	0,79	0,78	0,84	0,78	0,73	0,73	0,73	0,75	0,78	0,79	1																		
H22	0,66	0,87	0,86	0,95	0,89	0,88	0,90	0,86	0,78	0,84	0,93	0,92	0,85	0,92	0,87	0,87	0,88	0,92	0,81	0,86	1																		
H23	0,66	0,92	0,83	0,91	0,94	0,86	0,85	0,84	0,78	0,82	0,93	0,92	0,88	0,94	0,87	0,87	0,85	0,88	0,94	0,79	0,82	0,95	1																
H24	0,66	0,87	0,83	0,88	0,89	0,91	0,83	0,84	0,80	0,82	0,91	0,92	0,81	0,87	0,85	0,84	0,87	0,91	0,87	0,74	0,79	0,93	0,91	1															
H25	0,56	0,81	0,87	0,82	0,81	0,80	0,79	0,85	0,73	0,75	0,87	0,81	0,77	0,85	0,93	0,93	0,81	0,92	0,83	0,68	0,68	0,82	0,82	1															
H26	0,67	0,93	0,84	0,87	0,93	0,84	0,84	0,82	0,81	0,80	0,87	0,91	0,82	0,90	0,83	0,83	0,83	0,85	0,88	0,72	0,73	0,87	0,92	0,89	0,83	1													
H27	0,67	0,88	0,84	0,89	0,88	0,89	0,86	0,82	0,84	0,80	0,89	0,91	0,79	0,88	0,86	0,85	0,88	0,87	0,86	0,72	0,75	0,89	0,87	0,94	0,85	0,95	1												
H28	0,73	0,74	0,73	0,85	0,77	0,75	0,80	0,74	0,82	0,88	0,80	0,79	0,87	0,79	0,74	0,71	0,79	0,76	0,77	0,85	0,81	0,82	0,78	0,74	0,79	0,81	1												
H29	0,64	0,85	0,81	0,91	0,87	0,88	0,86	0,82	0,78	0,82	0,93	0,90	0,83	0,89	0,87	0,85	0,90	0,91	0,87	0,74	0,77	0,91	0,88	0,93	0,85	0,85	0,99	0,85	1										
H30	0,68	0,87	0,80	0,86	0,90	0,82	0,81	0,80	0,74	0,78	0,89	0,88	0,84	0,90	0,83	0,81	0,81	0,87	0,88	0,80	0,73	0,86	0,91	0,86	0,78	0,87	0,83	0,76	0,89	1									
H31	0,72	0,85	0,77	0,80	0,88	0,80	0,74	0,78	0,84	0,88	0,82	0,86	0,89	0,83	0,76	0,76	0,82	0,83	0,80	0,83	0,82	0,87	0,73	0,88	0,83	0,81	0,82	0,85	1										
H32	0,65	0,85	0,82	0,91	0,88	0,89	0,86	0,82	0,79	0,80	0,93	0,90	0,84	0,90	0,88	0,85	0,90	0,91	0,88	0,75	0,78	0,91	0,89	0,93	0,83	0,85	0,90	0,83	0,98	0,89	0,83	1							
H33	0,63	0,83	0,78	0,85	0,86	0,80	0,80	0,76	0,69	0,73	0,85	0,86	0,80	0,86	0,79	0,79	0,86	0,83	0,93	0,71	0,71	0,85	0,87	0,85	0,79	0,83	0,81	0,77	0,90	0,88	0,81	0,90	1						
H34	0,62	0,75	0,70	0,72	0,78	0,81	0,67	0,70	0,73	0,74	0,76	0,76	0,74	0,73	0,71	0,71	0,77	0,73	0,70	0,77	0,74	0,76	0,81	0,68	0,77	0,77	0,69	0,77	0,90	0,80	0,77	0,71	1						
H35	0,67	0,84	0,80	0,80	0,84	0,85	0,77	0,78	0,84	0,86	0,85	0,84	0,82	0,84	0,82	0,81	0,79	0,85	0,79	0,75	0,83	0,83	0,90	0,81	0,86	0,89	0,79	0,88	0,81	0,86	0,86	0,77	0,85	1					
H36	0,56	0,63	0,67	0,60	0,66	0,64	0,54	0,67	0,63	0,67	0,62	0,64	0,66	0,61	0,66	0,65	0,59	0,72	0,64	0,62	0,67	0,62	0,64	0,67	0,65	0,65	0,63	0,61	0,63	0,66	0,77	0,64	0,61	0,76	0,68	1			
H37	0,52	0,68	0,74	0,65	0,71	0,67	0,60	0,73	0,59	0,63	0,67	0,69	0,62	0,66	0,71	0,71	0,67	0,77	0,73	0,58	0,61	0,67	0,70	0,72	0,73	0,71	0,68	0,58	0,68	0,69	0,71	0,71	0,71	0,77	0,68	0,85	1		
H38	0,76	0,68	0,67	0,67	0,71	0,69	0,61	0,65	0,73	0,77	0,69	0,71	0,76	0,68	0,64	0,63	0,61	0,67	0,66	0,81	0,67	0,67	0,71	0,60	0,68	0,68	0,68	0,67	0,75	0,77	0,71	0,64	0,72	0,73	0,62	0,61	1		
H39	0,68	0,88	0,82	0,85	0,91	0,85	0,80	0,83	0,79	0,83	0,87	0,91	0,84	0,88	0,81	0,81	0,87	0,86	0,75	0,78	0,87	0,89	0,92	0,79	0,91	0,88	0,77	0,87	0,88	0,84	0,82	0,89	0,68	0,78	0,73	1			

Ancak sadece ikinci ana grup incelediğinde, bu grubun kendi arasındaki genetik benzerlik indeksinin 0.71–0.98 arasında değişim gösterdiği görülmektedir. İkinci ana grup birçok alt gruptan oluşmuş olup ilk olarak 2 alt gruba (2.1. ve 2.2.) ayrılmıştır. Şekil 4.26’da görüldüğü gibi 2.1. alt grubu Kaboon (38) çeşidi, KO (1) ve Ç20 (20) hatlarından meydana gelmiştir ve 1. ana gruba en yakın genetik mesafededir. 2.1 alt grubunun 1. ana gruptan Cornell çeşidi ile genetik yakınlık dereceleri sırasıyla 0.62, 0.56 ve 0.62 iken Widusa çeşidi ile 0.61, 0.52 ve 0.58’dir. Dendogram incelendiğinde, 2.2. alt grubunun tekrar 2 alt gruba (2.2.1. ve 2.2.2.) ayrıldığı görülmektedir. 2.2.1. alt grubunda T7 (34) ve TK57 (21) hatları bulunurken 2.2.2. alt grubu da yeniden 2 alt gruba (2.2.2.1 ve 2.2.2.2) ayrılmıştır. Bu şekilde 2. ana grup altında yer alan hat ve çeşitler 8 alt grup olarak incelenebilir. Alt gruplarda ve bunlarda yer alan hat ve çeşitler Çizelge 4.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8. İkinci ana grupta oluşan alt gruplar ve bu alt gruplarda yer alan hat ve çeşitler

Alt gruplar (8 grup)	Hatlar ve çeşitler
2.1. alt grup	Kaboon (38), KO (1), Ç20 (20)
2.2.alt grup	
2.2.1. alt grup	T7 (34), TK57 (21)
2.2.2.alt grup	
2.2.2.1 alt grup	TK59 (10), TK7 (28), L (13), Ç44 (9)
2.2.2.2 alt grup	
2.2.2.2.1 alt grup	Ç22’ (31), TA (35), Redland Pioneer (39)
2.2.2.2.2 alt grup	
2.2.2.2.2.1 alt grup	T11’’’’’ (3), TK2 (8), Ç16’ (25), TK12 (16), TK12’ (15), TK44 (18)
2.2.2.2.2.2 alt grup	
2.2.2.2.2.2.1 alt grup	T23 (17)
2.2.2.2.2.2.2 alt grup	
2.2.2.2.2.2.2.1 alt grup	TK15 (26), T6 (27), Ç42’ (24), X-1 (32), Ç31 (29), Ç33 (22), Ç22 (4), Ç14 (7), T26 (6), TK32 (14), T2 (11), Ç7 (2), Ç24 (12), TK47 (5)
2.2.2.2.2.2.2.2 alt grup	Ç28 (19), T9 (23), UB (30), TK1 (33)

Genotipler arasında 0.98 yakınlık derecesi ile 2.2.2.2.2.2.1 alt grupta yer alan TK47 (5) ve Ç24 (12) hatlarının ayrıca aynı alt grupta yer alan Ç31 (29) ve X-1 (32) hatlarının ve bunların yanı sıra 2.2.2.2.2.1. alt grupta yer alan TK12 (16) ve TK12' (15) hatlarının birbirine genetik olarak en yakın hatlar oldukları tespit edilmiştir. Dendogramda TK47 (5) ve Ç24 (12) hatlarına 0.95 yakınlık derecesi ile Ç7 (2) hattı bağlanmıştır. T2 (11) ve TK32 (14) hatlarının da 0.96 değeri ile birbirine yakın oldukları görülmektedir. Birbirine oldukça yakın genetik mesafelere sahip oldukları saptanan hat ve çeşitlerin oluşturduğu 2. ana grup içerisinde en uzak genetik yakınlık derecesine sahip hatlar 0.62 ile KO (1) ve TK44 (18), KO (1) ve T7 (34); 0.63 ile KO (1) ve TK12' (15), KO (1) ve TK1 (33), KO (1) ve TK57 (21); 0.64 ile KO (1) ve TK12 (16), KO (1) ve Ç31 (29); 0.65 ile KO (1) ve Ç44 (9) oldukları saptanmıştır. KO (1) hattı, Samsun merkezden toplanarak araştırmaya dahil edilen tek hattır ve bu benzerlik indeksi sonuçlarından da anlaşılacağı gibi Terme, Tekkeköy ve Çarşamba ilçelerinden toplanan hatlar ile en uzak ilişkili hat olması bakımından dikkat çekicidir. Bu hattın Ladik ilçesinden toplanan L (13) ve X-1 (32) hatları ile olan genetik yakınlık derecesi ise sırasıyla 0.75 ve 0.65'dir.

Morfolojik verilere göre elde edilen dendogramda KO (1) ve Ç20 (20) hatları moleküler analizler sonucu elde edilen dendogramda olduğu gibi aynı alt grupta yer almışlardır. Ancak diğer hatların dendogramdaki konumlanmaları herhangi bir benzerlik göstermemektedir. Şençiçek (2000)'in belirttiğine göre Johns vd (1997), Şili'de And Dağları ve Orta Amerika gen havuzuna ait fasulye yerel çeşitlerinin fenotipik gruplandırılmasında yeterince kesin sonuçlar elde edememişlerdir. Daha sonra RAPD kullanarak genetik kompozisyonunu tespit etmişlerdir. Morfolojik verileri uzaklık-yakınlık matrisinin ortaya çıkarılmasında kullanmışlar, bunları RAPD verileri ile karşılaştırmışlar ve morfolojik özelliklerin sınıflandırmada RAPD verilerine göre daha az etkili olduğunu bildirmişlerdir. Materyal ve metod bölümünde verilen hatların tohum resimleri (Şekil 3.5) incelendiği zaman Ç28 (19), TK1 (33), T23 (17), T26 (6) ve Ç31 (29) hatlarına ait tohumların siyah renkli oldukları görülmektedir. Aynı hatların çiçek renkleri incelendiğinde T26 (6), T23 (17) ve Ç28 (19)'in koyu eflatun TK1 (33) ve Ç31 (29)'in ise açık eflatun çiçeklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Moleküler verilerin analizleri neticesinde elde edilen dendogramda Ç28 (19) ve TK1 (33) 2.2.2.2.2.2.2. alt

Anlaşılabacağı gibi morfolojik karakterizasyonun net bir sonuç verebilmesi için ortam şartlarının stabil olması ve çok daha fazla özelliğın incelenmesi gerekmektedir. Balkaya vd (2005), lahanalarda yapılan birçok çalışmada morfolojik ve tarımsal özelliklerin incelenmesi sonucu elde edilen karakterizasyon ile izoenzimler, alloenzimler, RAPD ve RFLP sonuçlarının farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Morfolojik verilerin çevre koşullarından etkilenmesinden dolayı moleküler veriler daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Bu nedenle türlerin morfolojik karakterizasyonu ve sınıflandırılmasının yapıldığı çalışmaların mutlak suretle moleküler veriler tarafından da desteklenmesi gerekmektedir.

5. SONUÇ

Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (KTAE)'nden temin edilen 33 fasulye hattının genetik farklılığının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, morfolojik ve moleküler karakterizasyon yapılmıştır. Morfolojik karakterizasyon yapmak için Çarşamba Ovası'nda bulunan Terme, Tekkeköy ve Çarşamba ilçeleri ile Ladik İlçe'sinden toplanarak oluşturulan fasulye gen havuzunda yer alan bodur büyüme özelliği gösteren 33 fasulye hattı ve 3 fasulye standart çeşidi kullanılmıştır. Antalya'nın Varsak köyünde iki yıl açıkta yetiştirilen fasulye hat ve çeşitlerinde UPOV Kriterlerine göre morfolojik ve fenolojik gözlemler yapılmıştır. İncelenen özellikler; çıkış süresi, ilk çiçeklenme tarihi, bakla renginin yoğunluğu, bakla boyu, bakla eni kalınlığı, bakla eti kalınlığı, bakla eti şekli, bakla kıvrılma durumu, baklada beneklilik, baklada tohum belirginliği, bakla ucu şekli, brakte uzunluğu, brakte şekli, baklanın kılçıklılık durumu, çiçek rengi, gaga uzunluğu, tane rengi, tanenin ana rengi ve tanede ikinci renk sayısıdır.

Morfolojik gözlemler sonucu elde edilen verilerin Temel Bileşen Analizi yapılmıştır ve analiz sonucuna göre ilk üç bileşen toplam varyasyonun % 50'sini açıklamaktadır ki bu da hatlar arasındaki genetik çeşitliliğin yüksek olmadığını göstermektedir.

Elde edilen dendogramda ise hat ve çeşitler 8 ana gruba ayrılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre Ç22' (30), UB (31), TK57 (21), Ç33 (22) hatlarının birbirinden tamamen farklı olduğu saptanmıştır. TK47 (5), TK32 (14), T9 (23) hatları bir grup oluşturmuşlardır ancak bu hatlar genetik olarak da çok yakın değildir. Diğer taraftan Ç7 hattı da diğerlerinden bağımsız olarak tek başına bir grup olarak ele alınmış ve L (13) ve TA (36) hatları ayrı bir grup olarak dendogramda kümelenmişlerdir. Son olarak en büyük grubu Ç20 (20), KO (1), TK12' (15), TK7 (28), Ç44 (9), TK59 (10), TK1 (33), T11'''' (3), TK44 (18), Ç16' (25), Ç24 (12), T6 (27), TK2 (8), T2 (11), TK15 (26), TK12 (16), Ç42' (24), X-1 (32), Ç22 (4), Ç14 (7), T7 (34), T23 (17), Ç28 (19), T26 (6) ve Ç31 (29) hatları ve Y17 (35) çeşidi oluşturmuştur. Bu grup ise kendi içinde 2 alt gruba ayrılmıştır. Birinci alt grubu; Ç20 (20), KO (1), TK12' (15), TK7 (28), Ç44 (9), TK59 (10), TK1 (33), T11'''' (3), TK44 (18), Ç16' (25), Ç24 (12), T6 (27), TK2 (8),

T2 (11), TK15 (26), TK12 (16), Ç42' (24), X-1 (32), Ç22 (4), Ç14 (7) hatları ve Y17 (35) çeşidi, ikinci alt grubu ise T7 (34), T23 (17), Ç28 (19), T26 (6) ve Ç31 (29) hatları oluşturmuştur. Genetik olarak en yakın hatlar T2 ve TK15; Ç42', X-1 ve bu iki hat ile bağlantılı olarak TK12; KO ve TK12'; Ç24 ve T6 olarak saptanmıştır. Yapılan çalışmada, birbiri ile sınırı olan (Şekil 3.2) Tekkeköy, Terme ve Çarşamba ilçelerinden toplanan hatların genetik olarak yakın oldukları tespit edilirken bu ilçelerden biraz daha uzak mesafede yer alan Ladik ilçesi dendogramda ayrı kümelenerek bölgesel olarak varyasyon göstermiştir ve standart çeşit olan Tamara çeşidi ile ilişkilendirilmiştir.

Moleküler karakterizasyon yapmak için KTAE'nden temin edilen hatların yanı sıra antraknoz (*Coletotrichum lindemuthianum*) hastalığının ırklarının tespiti için kullanılan 12'lik antraknoz ayırım setinden Kaboon, Widusa ve Cornell 49-242 çeşitleriyle 1 adet And Dağları gen havuzuna ait Redland Pioneer çeşidi kullanılmıştır. Çalışkan (2005)'ın Doyle and Doyle (1988) metodunu modifiye ederek elde ettiği DNA izolasyon protokolü kullanılmış ve elde edilen genomik DNA'lar PCR tabanlı DNA işaretleme tekniklerinden SSR ve SCAR moleküler analiz metodları kullanılarak karakterize edilmişlerdir. 22 SSR ve 6 SCAR primer çifti ile yapılan analizlerin sonucuna göre SSR primer çiftlerinin yaklaşık % 27'si monomorfik iken % 73'ü polimorfik sonuçlar vermiştir. SCAR primer çiftlerinin ise çalışılan hat ve çeşitler için tamamı polimorfik sonuçlar vermiştir. İstatistik analiz sonuçlarına göre fasulye hat ve çeşitleri arası genetik benzerlik indeksi 0.52–0.98 arasında değişim göstermiştir. Hat ve çeşitler dendogramda öncelikle 2 ana gruba ayrılmışlardır. İlk grupta antraknoza dayanıklılık ayırım setinin üyesi olan ve Orta Amerika gen havuzunda yer alan Cornell (36) ve Widusa (37) çeşitleri yer almaktadır. Bu iki çeşit diğer gruptan ayrılmıştır. Antraknoz ayırım setinin bir çeşidi olan ve And Dağları gen havuzunda yer alan Kaboon (38) çeşidi ile yine And Dağları gen havuzunda yer alan bir Amerikan çeşidi olan Redland Pioneer (39) çeşidi ise denemeye alınan tüm hat ve çeşitler ile birlikte aynı ana grup altında toplanmıştır. Bu durum, üzerinde çalışılan hatların And Dağları gen havuzu ile daha yakın bir genetik ilişkiye sahip olabileceğini göstermiştir. İkinci ana grup incelediğinde, bu grubun kendi arasındaki genetik benzerlik indeksinin 0.71–0.98 arasında değişim gösterdiği görülmektedir. İkinci ana grup kendi içerisinde alt gruplara ayrılmaya devam etmiş ve en yakın genetik ilişkiye sahip hatlar (0.98); TK47 (5) ve

Ç24 (12), Ç31 (29) ve X-1 (32), TK12 (16) ve TK12' (15) hatları olduğu tespit edilmiştir. KO (1) hattı, Samsun merkezden toplanarak araştırmaya dahil edilen tek hattır ve benzerlik indeksi sonuçlarına göre Terme, Tekkeköy ve Çarşamba ilçelerinden toplanan hatlar ile en uzak ilişkili hat olmuştur. Morfolojik verilere göre elde edilen dendogramda KO (1) ve Ç20 (20) hatları moleküler analizler sonucu elde edilen dendogramdaki gibi aynı alt grupta yer almışlardır. Ancak diğer hatların dendogramdaki konumlanmaları herhangi bir benzerlik göstermemiştir.

Sonuç olarak, morfolojik ve fenolojik özelliklere dayanan karakterizasyon çalışmaları, çevre faktörlerinden etkilendikleri için oluşan gruplar yakın akraba olarak tespit edilebilmektedir. Morfolojik özelliklere göre yapılan karakterizasyonun yanı sıra genomik düzeyde yapılan karakterizasyon çalışmaları çalışılan populasyonların ya da bitkilerin akrabalık derecelerini güvenilir bir şekilde ortaya koymaktadırlar. Morfolojik ve moleküler verilere dayanarak oluşturulan dendogramlar kıyaslandığında moleküler verilerle elde edilen bilgilerin morfolojiklere göre daha gerçeğe yakın olduğu görülmüştür. Ayrıca ileride birbirine çok yakın olduğu tespit edilen bu hatlar ile yapılacak çalışmalarda daha fazla sayıda primer çifti ile çalışılması önerilebilir.

6. KAYNAKLAR

- ANDERSEN J. R. and LUBBERSTEDT T. 2003. Functional Markers in Plants. TRENDS in Plant Science Vol. 8 No. 11 554–560.
- ANLARSAL A. E., YÜCEL C. ve ÖZVEREN D. 2000. Çukurova Koşullarında Bazı Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşitlerinde Tane Verimi ve Verimle İlgili Özellikler İle Bu Özellikler Arası İlişkilerin Saptanması. Turk J Agric For 24 (2000) 19–29.
- ANONİM 1998. Descriptors for Bean. Guidelines for the Conduct for Tests for Distinctness, Homogeneity and Stability of New Varieties of Plants. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tohumculuk Tescil ve Sertifikasyon Merkezi Müdürlüğü, Ankara, Turkey.
- ANONİM 2005. FAO Production Year Book.
- ANONİM 2006. FAO Production Year Book.
- ANONİM 2008. http://www.css.msu.edu/bic/PDF/Angular_Leaf_Spot.pdf
- BAHÇECİ Z. 1999. Moleküler Biyoloji. Öğrenci Kitapevi Yayınları. s: 240–242, Kırşehir.
- BALKAYA, A. ve YANMAZ, R. 2001. “Bitki Genetik Kaynaklarının Muhafaza İmkanları ve Tohum Gen Bankalarının Çalışma Sistemleri”. Ekoloji Çevre Dergisi. Yıl:10, Sayı:39, 25–30.
- BALKAYA, A. ve YANMAZ, R. 2003. “Bazı taze fasulye çeşit adayları ile ticari çeşitlerin morfolojik özellikler ve protein markörler yoluyla tanımlanmalar”. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi. 9(2):182–188.

- BALKAYA, A., YANMAZ, R. APAYDIN A. and KAR H. 2005. Morphological characterisation of white head cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* subvar. *alba*) genotypes in Turkey. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2005, Vol. 33, 333–341.
- BENCHIMOL L. L., DE CAMPOS T., CARBONELL S. A. M, COLOMBO C. A., CHIORATTO A. F., FORMIGHIERI E. F., GOUVEA L. R. L. and DE SOUZA A. P. 2007. Structure of genetic diversity among common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties of Mesoamerican and Andean origins using new developed microsatellite markers. Genetic Resources and Crop Evolution An International Journal. 54 (8): 1747- 1762.
- BLAIR W.M., CAULA C., PEDRAZA F., MORALES F. and BEEBE S. E. 2002. Tagging BMGV and CBB resistance in the population SEL1309 X DOR476. http://www.calayuca.org/webciat/biotechnology/pdf/biotech_2002_1_2.pdf
- BLAIR W.M., PEDRAZA F., BUENDIA H. F., GAITÁN-SOLÍS E., BEEBE S. E., GEPTS P. and TOHME J. 2003. Development of a Genome-Wide Anchored Microsatellite Map for Common Bean *Phaseolus vulgaris*. Theor. Appl. Genet. 107: 1362–1374.
- BLAIR W.M., GIRALDO M. C., BUENDIA H. F., TOVAR E., DUQUE M. C. and BEEBE S. E. 2006. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Theor. Appl. Genet. 113: 100- 109.
- BOZOĞLU H. and SÖZEN Ö. 2007. Some Agronomic Properties of the Local Population of Comon Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) of Artvin Province. Turk J Agric For 31 (2007) 327–334.
- BROUGHTON W. J., HERNÁNDEZ G., BLAIR M., BEEBE S., GEPTS P. and VANDERLEYDEN J. 2003. Beans (*Phaseolus vulgaris*) – Model Food Legumes. Plant and Soil. 252: 55–128.

- BUSO G. S. C., AMARAL Z. P. S., BRONDANI R. P. V. and FERREIRA M. E. 2006. Microsatellite Markers For the Common Bean *Phaseolus vulgaris*. *Molecular Ecology Notes* 6, 252 -254.
- CEBEL N. 1989. Organik Tarımda Yararlı Mikroorganizma Kullanımı (Mikrobiyal Gübreler). www.tegeb.gov.tr
- CAIXETA E. T., BORÈM A. and KELLY J. D. 2005. Development of Microsatellite Markers Based on BAC Common Bean Clones. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 5: 125 -133.
- CATTAN-TOUPANCE I., MICHALACIS Y. and NEEMA C. 1998. Genetic Structure of Wild Bean Populations in Their South-Andean Centre of Origin. *Theor Appl Genet* 96: 844–851.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL (CIAT). 2001. Plant genetic resources: Beans. <http://www.ciat.cgiar.org/pgr/beans.htm>
- CEOLIN A. C. G., GONÇALVES-VIDIGAL M. C., FILHO P. S. V., KVITSCHAL M. V., GONELA A. and SCAPIM C. A. 2006. Genetic Divergence of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Group Carioca Using Morpho-Agronomic Traits by Multivariate Analysis. *Hereditas* DOI: 10.1111/j.2006.0018–0661.01943.x
- CHEDIAK G. L., BRONDANI R. P. V., PELOSO M. J. D., MELO L. C. and BRONDANI C. 2007. Análise de Pureza genética de sementes de feijoeiro comum utilizando marcadores microssatélites em sistema de genotipagem multiplex. http://www.cnpaf.embrapa.br/publicacao/boletimpesquisa/bolpesq_28.pdf
- CORRÊA R. X., COSTA M. R., GOOD-GOD P. I., RAGAGNIN V. A., FALEIRO F. G., MOREIRA M. A. and de BARROS E. G. 2000. Sequence Characterized

Amplified Regions Linked to Rust Resistance Genes in the Common Bean. Crop Sci. 40: 804–807.

CRUZ E. P., GEPTS P., GARCIAMARI'N P. C. and VILLAREAL D. Z. 2003. Spatial distribution of genetic diversity in wild populations of *Phaseolus vulgaris* L. from Guanajuato and Michoaca'n, M_exico Genetic Resources and Crop Evolution 00: 1–11, 2004

ÇALIŞKAN M. 2005. RAPD Analizi ile Güllerde (*Rosa* sp.) Genetik Tanılama. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 81 sayfa.

DA SILVA G. F., DOS SANTOS J. B. and RAMALHO M. A. P. 2003. Identification of SSR and RAPD markers linked to a resistance allele for angular leaf spot in the common bean (*Phaseolus vulgaris*) line ESAL 550. Genetics and Molecular Biology. 26 (4): 459- 463.

DAVIS J. H. C. 1997. *Phaseolus* Beans. In: H. C. Wien, The Physiology of Vegetable Crops, CAB International, pp: 409–428.

DEBOUCK, D. G. 1988. Phaseolus Germplasm Exploration. In: P. Gepts (Editor), Genetic Resources of Phaseolus Beans, Kluwer Academic Publishers, pp. 3- 31, Netherlands.

DEBOUCK, D. G., TORO O., PAREDES O. M., JOHNSON W. C. ve GEPTS P. 1993. Genetic Diversity and Ecological Distribution of *Phaseolus vulgaris* (*Fabaceae*) in Northwestern South America. Econ Bot. 47: 408–423.

DE MELO C. L. P., RAGAGNIN V., ARDUDA K. M. A., DE BARROS E. G., CARNEIRO P. C. S., CARNEIRO P., DE PAULA T. J., MOREIRA M. A. and CARNEIRO J. E. D. 2008. PhenotyPBI and Molecular Characterization of Genitors of Carioca-Type Common Bean Regarding Their Resistance to Pathogens. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 43 (4): 495 -504.

- DE RON A. M., CASQUERO P. A., GONZÁLEZ A. M. and SANTALLA M. 2004. Environmental and Genotype Effects on Pod Characteristics Related to Common Bean Quality. *J. Agronomy & Crop Science* 190, 248-255.
- DE SOUZA T. L. P. O., ALZATE-MARIN A. L., DESSAUNE S. N., NUNES E. S., DE QUEIROZ V. T., MOREIRA M. A. and DE BARROS E. G. 2007. Inheritance study and validation of SCAR molecular marker for rust resistance in common bean. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. 7: 11- 15.
- DİREK M., BAYRAMOĞLU Z. ve PAKSOY M. 2002. Konya İlinde Fasulye Üretiminde Karşılaşılan Sorunlar ve Çözüm Önerileri. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 16 (30): 21–27.
- DOYLE J.J. and DOYLE L.H. 1988. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12 (1): 13- 15.
- DURA' N L. A., BLAIR M. W., GIRALDO M. C., MACCHIAVELLI R, PROPHETE E., NIN J. C. and BEAVER J. S. 2005. Morphological and Molecular Characterization of Common Bean Landraces and Cultivars from the Caribbean. *Crop Sci.* 45: 1320–1328.
- ESCRIBANO M. R., SANTALLA M. and DE RON A. M. 1997. Genetic Diversity in Pod and Seed Quality Traits of Common Bean Populations From Northwestern Spain. *Euphytica* 93: 71–81, 1997.
- FLORES F., SÁNCHEZ-TREJOS P., CUBERO J. I. and J. GIL J. 2003. Variation in morphological traits in *Phaseolus vulgaris* L. from northern Spain. *Journal of Agricultural Science* (2003), 140, 435–442.
- GAÍTÁN-SOLÍS E., DUQUE M. C., EDWARDS K. J., and TOHME J. 2002. Microsatellite Repeats in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*): Isolation,

Characterization, and Cross-Species Amplification in *Phaseolus* spp. Crop Science. 42: 2128–2136.

GARCÍA E. H., PENA-VALDIVIA C. B., AGUIRRE J. R. R., and MURUAGA J. S. M. 1997. Morphological and Agronomic Traits of a Wild Population and an Improved Cultivar of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Annals of Botany 79: 207-213.

GEPTS P. 1999. Development of an Integrated Linkage Map. In: S. P. Singh (Editor), Common Bean Improvement in the Twenty-First Century, Kluwer Academic Publishers, pp. 53- 93, Netherlands.

GUERRA-SANZ J.M. 2004. New SSR Markers of *Phaseolus vulgaris* from sequence databases. Plant Breeding 123, 87–89.

GÜLŞEN O. ve MUTLU N., 2005. Bitki Biliminde Kullanılan Genetik Markırlar ve Kullanım Alanları. Alatarım. 4 (2): 27–37.

HALLDEN C., NILSSON N. O., RADİNG I. M. and SALL 1994. Evalution of RFLP and RAPD markers in a comparision of *Brassica napus* breeding lines. Theor. Appl. Genet., 88: 123-128.

HORŇÁKOVÁ O., ZÁVODNÁ M., ZÁKOVÁ M., KRAIC J. and DEBRE F. 2003. Diversity of Common Bean Landraces Collected in the Western and Eastern Carpatien. Czech J. Genet. Plant Breed., 39, (3): 73–83.

KARACA, M. 2001. Characterization of *Cynodon* spp. and *Gossypium* spp. genomes using molecular and cytological techniques. Ph.D. Dissertation [DAI, 62, no. 05B (2001): p. 2119 ISBN: 0-493-26105- 2]. Mississippi State University, Mississippi State, MS.

- KARACA, M., SAHA, S., CALLAHAN, F. E., JENKİNS, J. N., READ, J. J. and PERCY, R. G. 2004. Molecular and cytological characterization of a cytoplasmic specific mutant in cotton. *Euphytica* 139: 187–197.
- KELEŞ D. 2007. Farklı Biber Genotiplerinin Karakterizasyonu ve Düşük Sıcaklığa Tolerans. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 212 sayfa.
- KOVACH W. L. 2005. MVSP- A Multivariate Statistical Package for Windows, ver. 3.1. Kovach Computing Services, Pentraeth, Wales, U.K.
- LARSEN R. J. A., 2005. Discovery and Utilization of Molecular Markers for Genetic Studies of Common Bacterial Blight Resistance and Seed Coat Colour in *Phaseolus vulgaris* L. Tez Çalışması.
- LIOI L., PIERGIOVANNI A. R., PIGNONE D., PUGLISI S., SANTANTONIO M. and SONNANTE G. 2005. Genetic Diversity of Some Surviving On-Farm Italian Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Landraces. *Plant Breeding* 124, 576 -581.
- MADAKBAŞ, S. Y., 2006a. Samsun İlinin Çarşamba Ovası ve Ladik İlçesinde Toplanmış Taze Fasulye Populasyonları. *Hasad*. Eylül yıl: 22 sayı: 256 (86–90).
- MADAKBAŞ, S. Y., ÖZÇELİK H. ve ERGİN M. 2006b. Çarşamba Ovası'nda Bodur Taze Fasulye Populasyonlarından Belirlenmiş Olan Hatlar Arasındaki Farklılıkların Belirlenmesi. *Harran Üniv. Ziraat Fak. Dergisi*. 10(3/4): 71–77.
- MADAKBAŞ, S. Y., ERGİN M., ÖZÇELİK H. ve KÜÇÜKOMUZLU B. 2007. Orta Karadeniz Bölgesinde Yetiştirilen Bazı Bodur Taze Fasulye Populasyonlarından Seçilen Bodur Ayşe Kadın Özelliğinde Saf Hatların Bazı Morfolojik ve Tarımsal Özelliklerinin Belirlenmesi. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 21 (41): (2007) 68–73.
- MADAKBAŞ S. Y., ELLİALTIOĞLU Ş. ve ERGİN M. 2009. Fasulyede Döllenme Biyolojisi ve Melezleme Tekniği. *Hasad* 24 (284): 72- 80.

- MAHUKU G. S., IGLESIAS A. M. and JARA C. 2009. Genetics of angular leaf spot resistance in the Andean common bean accession G5686 and identification of markers linked to the resistance genes. *Euphytica*. 167 (3): 381- 396.
- MANLY B. F. J. 1994. Multivariate statistical methods: a primer. Chapman and Hall, London, 215p.
- MÉTAIS I., AUBRY C., HAMON B., PELTIER D. and JALOUZOT R. 1998. Cloning, Quantification and Characterization of a Minisatellite DNA Sequence From Common Bean *Phaseolus vulgaris* L. *Theor Appl Genet* 97: 232 -237.
- MÉTAIS I., AUBRY C., HAMON B., JALOUZOT R. and PELTIER D. 2000. Description and Analysis of Genetic Diversity Between Commercial Bean Lines (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet* 101: 1207 -1214.
- MIKLAS P. N. 2007. Marker-Assisted Backcrossing QTL for Partial Resistance to Sclerotinia White Mold in Dry Bean. *Crop Science*. 47: 935- 942.
- MURRAY J., LARSEN J., MICHAELS T. E., SCHAAFSMA A., VALLEJOS C. E. and PAULS K. P. 2002. Identification of putative genes in bean (*Phaseolus vulgaris*) genomic (Bng) RFLP clones and their conversion to STSs. *Genome*. 45: 1013–1024.
- NEI, M. and LI, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76: 5269–5273.
- NIETSCHKE, S., A BORÉM, G.A. CARVALHO, R.C. ROCHA, T.J. PAULA, E.G. DE BARROS and M.A. MOREIRA. 2000. RAPD and SCAR markers linked to a gene conferring resistance to angular leaf spot in common bean. *J. Phytopathol.* 148:117- 121.

- ÖZ A. ve KAPAR H. Karadeniz koşullarında geliştirilen tek melez mısır çeşit adaylarının verim ve bazı agronomik karakterlerinin belirlenmesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18: 45-60.
- RAKOCZY-TROJANOWSKA M. and BOLIBOK H. 2004. Characteristics and a Comparison of Three Classes of Microsatellite-Based and Their Application in Plants. Cellular & Molecular Biology Letters. Vol 9, 221–238.
- RODINO, A. P., SANTELLA DE, R. A. M. and SINGH S. P. 2003. A Core Collection of Common Bean from the Iberian Peninsula. Euphytica, 131:165–175.
- RODRÌGUEZ-SUÁREZ C., MÉNDEZ-VIGO B., PAÑEDA A., FERRIRA J. J. and GIRALDEZ R. A 2006. Genetic Linkage Map of *Phaseolus vulgaris* L. and Localization of Genes for Specific to Six Races of Anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*). Theor Appl Genet doi 10.1007/s00122 -006 -0471 -3.
- RODRÌGUEZ-SUÁREZ C., FERRIRA J. J., CAMPA A., PAÑEDA A., and GIRALDEZ R. 2008. Molecular Mapping and Intra-Cluster Recombination Between Anthracnose Race-Specific Resistance Genes in the Common Bean Differential Cultivars Mexico 222 and Widusa. Theor Appl Genet doi 10.1007/s00122 -008 -0714 -6.
- SAHA, S., KARACA M. and LANG, D. J. 2001. Improved methods for screening cotton cDNAs using fluorochrome-labelled AFLP and SSR-specific primers. pp. 239–255 In Genetic Improvement of Cotton: Emerging Technologies (Eds: Jenkins, J. N. and S. Saha) Science Publishers, Inc. UK.
- SAHA, S., KARACA, M., JENKINS, J. N., ZİPF, A. E., REDDY, O. U. K., PEPPER, A. E. and KANTETY, R. 2003. Simple sequence repeats as useful resources to study transcribed genes of cotton. *Euphytica* 130: 355–364.

- SICARD D., NANNI L., PORFIRI O., BULFON D. and PAPA R. 2005. Genetic Diversity of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. coccineus* L. Landraces in Central Italy. *Plant Breeding* 124, 464–472.
- SINGH, S. P., BOUCK DE, D. G. and GEPTS, P. 1988. Races of Common Bean. *Phaseolus vulgaris* L. CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropiċa) Cali, Colombia. Current TroPBİs in Breeding of Common Beans Working Document, no: 47.
- SINGH, S. P., GEPTS, P. and BOUCK DE, D. G. 1991. Races of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* Fabaceae). *Econ. Bot.*, 45: 379-396.
- SINGH, S. P. 1999. Production and Utilization. In: S. P. Singh (Editor), *Common Bean Improvement in the Twenty-First Century*, Kluwer Academic Publishers, pp.1- 25, Netherlands.
- SOLIS E. G., DUQUE M. C., EDWARDS K. J. and TOHME J. 2002. Microsatellite Repeats in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*): Isolation, Characterization, and Cross-Species Amplification in *Phaseolus* ssp. *Crop Sci.* 42: 2128 –2136.
- SOLMAZ İ. and SARI N. 2008. Characterization of Watermelon (*Citrullus lanatus*) Accessions Collected From Turkey For Morphological Traits. *Genet Resour Crop Evol* doi 10.1007/s10722–008–9353–7.
- SÖZEN Ö. 2006. Artvin İli Yerel Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Populasyonlarının Toplanması, Tanımlanması ve Morfolojik Varyabilitenin Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun. Yüksek Lisans Tezi.
- STOILOVA T., PEREIRA G., SOUSA DE M. M. T. and CARNIDE V. 2005. Diversity in Common Bean Landraces (*Phaseolus vulgaris* L.) from Bulgaria and Portugal. *Journal Central European Agriculture*. Volume 6 No. 4, 443–448.

- ŞEHİRALİ S. 1988. Yemeklik Dane Baklagiller. Ankara Üniv., Ziraat Fakültesi Yayınları:1089. Ders Kitabı:314, 421s.
- ŞENÇİÇEK, A.G.E. 2000. RAPD Markerlerini Kullanarak Türk Susam (*Sesamum indicum* L.) Populasyonlarında Genetik Uzaklıkların Analizi. Akdeniz Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü,Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 102 s.
- TAR'AN B., MICHAELS T. E. and PAULS K. P. 2002. Genetic Mapping of Agronomic Traits in Common Bean. *Crop Science* 42:544-556.
- TEIXEIRA F.F., RAMALHO M.A.P., SANTOS J.B., ABREU F.B., GUIMARAES, C.T. and OLIVIERA A.C.C. 2005. QTL Mapping for Angular Leaf Spot in Common Bean Using Microsatellite Markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Vicosa, MG, v.5, p.272.
- THOME J., BEEBE S., GONZALEZ O. and DUQUE M.C. 1996. AFLP Analyses of the Wild *Phaseolus vulgaris* Core Collection. Annual Report of The Bean Improvement Cooperation-BIC, v.39, p.176-177.
- TORRES R. I. G., VILLALOBOS R. A., GAÍTÁN-SOLÍS E. and DEBOUCK D. G. 2004. Wild Common Bean in Central Valley of Costa Rica: Ecological Distribution and Molecular Characterization. *Agronomía Mesoamericana* 15(2): 145–153.
- TUNAR M. ve KESİCİ S. 1998. İlkbahar İçin Bodur ve Sırık Ayşe Fasulyelerinin Teksel Seleksiyon Yöntemi ile Islahı. II. Sebze Tarımı Sempozyumu 28 -30 Eylül s:209-215 Tokat.
- ÜLKER M. ve CEYHAN E., 2006. Konya İlinde Fasulye Tarımında Karşılaşılan Problemler ve Çözüm Önerileri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 20 (49): 73–82.

- VURAL H., EŞİYOK D. ve DUMAN İ. 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 2000.
- WEBER, J.L. 1990. The Informativeness of Human (DC-DA) N(DG-DT)N Polymorphism. *Genomics*, 7:524-539
- YU K., PARK J. S. and POYSA V. 1999. Abundance and variation of microsatellite DNA sequences in beans (*Phaseolus* and *Vigna*). *Genome* 42: 27–34.
- YU K., PARK S. J., POYSA V. and GEPTS P. 2000. Integration of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers Into a Molecular Linkage Map of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *The American Genetic Association* 91: 429-434.
- YU K., PARK S. J., ZHANG B., HAFFNER M. and POYSA V. 2004. An SSR Marker in the Nitrate Reductase Gene of Common Bean is Tightly Linked to a Major Gene Conferring Resistance to Common Bacterial Blight. *Euphytica* 138: 89 -95.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Antalya’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Antalya’da tamamladı. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nden 1997 yılında Ziraat Mühendisi olarak mezun oldu. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda açılmış olan yüksek lisans sınavını kazandı ve araştırma görevlisi olarak atandı. ‘Bazı Biber Türlerinin (*Capsicum* spp) RAPD Markerlarıyla Belirlenmesi ve Akrabalık Derecelerinin Araştırılması’ isimli tez çalışmasını 2000 yılında tamamlayarak Ziraat Yüksek Mühendisi ünvanını aldı. 2001 yılında aynı bölümde Doktora’ya başladı. Halen aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Evli ve 2 çocuk annesidir.