

OCAK 2023

Yüksek Lisans Tezi - Biyoloji

MERAL DEMRAL

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Vigna radiata EKOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE
FİLOGENETİK İLİŞKİLERİN BELİRLENMESİ

BİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERAL DEMRAL
OCAK 2023

***Vigna radiata* EKOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE
FİLOGENETİK İLİŞKİLERİN BELİRLENMESİ**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Canan CAN

Meral DEMRAL

Ocak 2023



©2023[Gaziantep Üniversitesi]

***Vigna radiata* EKOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE
FİLOGENETİK İLİŞKİLERİN BELİRLENMESİ**

başlıklı bu çalışma, **Meral DEMRAL** tarafından hazırlanmış ve yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü**'nde Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet İshak YÜCE
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

Prof. Dr. Canan CAN
Biyoloji Bölüm Başkanı

.....

Prof. Dr. Canan CAN
Danışman

.....

Sınav Tarihi: 25 Ocak 2023

Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Canan CAN
Gaziantep Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi Hidayet SAĞLAM
Kilis 7 Aralık Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi Feyza Nur KAFADAR
Gaziantep Üniversitesi

.....

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilmek suretiyle tezde yer aldığını beyan ederim.

Meral DEMRAL

ABSTRACT

DETERMINATION OF GENETIC DIVERSITY AND PHILOLONETIC RELATIONSHIPS IN *Vigna radiata* ECOTYPES

DEMRAL, Meral

M.Sc. in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Canan CAN

January 2023

51 pages

Mung bean is an important legume plant grown in tropical and subtropical climatic conditions in the world. The richness of this agricultural plant in terms of nutrient content and its readiness to harvest in the short term makes it an important grain legume in plant rotation systems. Agriculture of grain legumes such as lentils, chickpeas and beans are widespread in Turkey. Therefore, genetic and molecular studies are mainly carried out in these plants. Although mung beans lag behind other legume plants in terms of research, they are cultivated in Southeastern and Eastern Anatolia Regions. Studies of molecular characterization and genetic diversity of mung beans in Turkey have not been found during the literature review. Mung bean studies until this time focused on phenotypic and agricultural importance in general. This situation severely limits the proper evaluation of genetic resources due to lack of information to be able to be evaluated in terms of genetic diversity. The aim of this study is to determine genetic diversity with the help of RAPD and ISSR marker systems after phylogenetic analysis and diagnosis by DNA barcoding in mung bean seeds from which morphologically similar ones are collected. In this study, genetic diversity and phylogenetic analyzes of mung bean culti-genes collected from agricultural seeds in Gaziantep, Kahramanmaraş, Adıyaman, Ankara and Malatya will be carried out using RAPD, ISSR and DNA barcode marker systems. Our study is the first study of genetic characterization of mung bean population in Turkey.

Key Words: Mung Bean, Genetic Diversity, DNA Barcode Genes, RAPD, ISSR

ÖZET

***Vigna radiata* EKOTİPLERİNDE GENETİK ÇEŞİTLİLİK VE FİLOGENETİK İLİŞKİLERİN BELİRLENMESİ**

DEMRAL, Meral
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji
Danışman: Prof. Dr. Canan CAN
Ocak 2023
51 sayfa

Maş fasulyesi, dünyada tropik ve subtropik iklim koşullarında yetiştirilen önemli bir baklagil bitkisidir. Bu tarım bitkisinin besin içeriği açısından zenginliği ve kısa dönem içerisinde hasata hazır olması bitki rotasyon sistemlerinde önemli tane baklagil haline gelmesini sağlamaktadır. Türkiye’de mercimek, nohut ve fasulye gibi tane baklagillerin tarımı yaygın olarak yapılmaktadır. Bundan dolayı genetik ve moleküler çalışmalar ağırlıklı bu bitkilerde yapılmaktadır. Maş fasulyesi diğer baklagil bitkilerinden araştırma açısından geride kalmasına rağmen Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgeleri’nde tarımı yapılmaktadır. Türkiye’de maş fasulyesinin moleküler karakterizasyonu ve genetik çeşitliliği çalışmalarına literatür taraması sırasında rastlanmamıştır. Maş fasulyesinde bu zamana kadar yapılan çalışmalarda genel olarak fenotipik ve zirai önemi üzerinde durulmuştur. Bu durum genetik çeşitlilik açısından değerlendirilme yapılabilmesi bilgi eksikliğinden dolayı genetik kaynakların doğru değerlendirilmesini ciddi ölçüde sınırlamaktadır. Bu çalışmanın amacı; morfolojik olarak birbirine benzer olanların toplandığı maş fasulyesi tohumlarında DNA barkodlama yapılarak filogenetik analiz ile teşhisler sonrasında RAPD ve ISSR markır sistemleri yardımıyla genetik çeşitliliği belirlemektir. Çalışmamızda Gaziantep, Kahramanmaraş, Adıyaman, Ankara ve Malatya illerinde tarımı yapılan tohumları toplanan maş fasulyesi külti-genlerinin RAPD, ISSR ve DNA barkod markır sistemleri kullanılarak genetik çeşitlilik ve filogenetik analizler gerçekleştirilmiştir. Çalışmamız Türkiye’de tarımı yapılan maş fasulyesi popülasyonunun ilk genetik karakterizasyonu çalışması olma özelliğini taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Maş Fasulyesi, Genetik Çeşitlilik, DNA Barkod, RAPD, ISSR

Mucizevi akvaryumunda bana yer verip beni büyüten, doğaya salıp serpiştiren, her koşulda yanımda olan desteğini hiç esirgemeyen canım annem Emel'e ithafen.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan ve tezimde büyük emeği olan hocam, sayın Prof. Dr. Canan CAN'a sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmada maddi destek sağlayan Gaziantep Üniversitesi BAP Yönetim Birimi'ne (FEF.YLT.20.14 no'lu proje),

Örneklerin toplanmasında ve teşhislerinde desteklerini benden esirgemeyen her türlü konuda destek olup akademik karmaşada beni dindiren çok değerli hocam Arş. Gör. Dr. Derya İŞLER CEYHAN'a,

Çalışmalarında bana yol gösteren her anlamda destek olan, akademik stresimi en aza indirgeyen sevgili ve çok değerli hocam Doç. Dr. Adile AKPINAR'a,

Tüm çalışmalarında yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen ekip arkadaşlarım Sevil ve Selçuk BAŞBUĞA, Olcay DECECAN, Talap TALAPOV, Özge DEMİREL, Oğuz AKVEÇ, Ahmed Rami ALSAADI'ye,

Karşılaştığım ve tanıdığım ilk andan itibaren benden sevgisini, samimiyetini esirgemeyen, maddi manevi tüm zor zamanlarımda bana sonsuz destek olan, çok kıymetli, sevgili ve saygıdeğer dostum ve hocam Veysel KAYGUSUZ'a,

Bu dikenli, uzun ve yorucu yolda bana destek olan, tüm streslerimi, sıkıntılarımı, üzüntülerimi ve mutluluklarımı benimle paylaşan, beni koşulsuz seven, başka dünyalara kapılarımı açan hayattaki en büyük sonsuz şansım, kıymetlim, annem Emel DEMRAL'a,

Minik kalbiyle bana yardımcı olan, güzel sözlerini benden esirgemeyen biricğim kardeşim Ömer DEMRAL'a,

Teşekkürlerimi ve saygılarımı bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	v
ÖZET.....	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
SEMBOLLER LİSTESİ.....	xiv
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xv
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
BÖLÜM 2 KAYNAK ÖZETLERİ.....	7
2.1 <i>Vigna radiata</i> İle İlgili Yapılan Genel Çalışmalar.....	7
2.2 <i>Vigna radiata</i> İle İlgili Yapılan Moleküler Çalışmalar.....	11
2.3 <i>Vigna radiata</i> İle İlgili DNA Barkodlama Çalışmaları.....	16
BÖLÜM 3 MATERYAL VE METOTLAR	18
3.1 Bitki Materyali	18
3.2 Tohum Ekimi	19
3.3 Total DNA İzolasyonu	20
3.3.1 CTAB Protokolü	21
3.3.2 Agaroz Jelin Hazırlanması ve Total DNA'ların Elektrophorezi	22
3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonlarının Amplifikasyonu (PZR)	23
3.4.1 RAPD Analizi	24
3.4.2 ISSR Analizi	25
3.4.3 DNA Barkodlama.....	26
3.5 PZR Ürünlerinin Elektrophorez İle Ayrımı	27
3.6 Sekans Verilerinin İncelenmesi ve Filogenetik Analiz.....	28
BÖLÜM 4 BULGULAR.....	29
4.1 Moleküler Markır Çalışmasına Ait Bulgular	29
4.2 DNA Barkodlama Çalışmalarına Ait Bulgular	34

4.3 Sekans Verilerine Ait Bulgular	36
BÖLÜM 5 TARTIŞMA	39
BÖLÜM 6 SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ.....	50



TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 3.1 <i>Vigna radiata</i> ekotipleri	18
Tablo 3.2 Çalışmalarda kullanılan RAPD primerleri	24
Tablo 3.3 RAPD markırı için PZR koşulları	25
Tablo 3.4 Çalışmada kullanılan ISSR primerleri	25
Tablo 3.5 ISSR markırı için PZR koşulları	26
Tablo 3.6 DNA barkod bölge primerleri	26
Tablo 3.7 DNA barkodlama için PZR koşulları	27
Tablo 3.8 Sekans hizmeti için seçilen ekotipler	28
Tablo 4.1 NCBI erişim numaraları	37

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 3.1	<i>Vigna radiata</i> tohumlarının ekimi ve gelişim süreci..... 20
Şekil 3.2	<i>Vigna radiata</i> 'nın örneklenmesi ve muhafazası..... 20
Şekil 3.3	<i>Vigna radiata</i> örneklerinin DNA izolasyon aşamaları..... 22
Şekil 3.4	Total DNA'ların agaroz gel elektroforezi görüntüsü 23
Şekil 3.5	Agaroz jel elektroforezi uygulaması 28
Şekil 4.1	VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 701 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki UBC 702 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki UBC 703 primeri 29
Şekil 4.2	VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 706 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 709 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 711 primeri..... 30
Şekil 4.3	VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 717 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 729 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 751 primeri..... 30
Şekil 4.4	VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 763 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 764 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 771 primeri..... 31
Şekil 4.5	VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 778 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 783 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 790 primeri..... 32
Şekil 4.6	VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 809 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 812 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 817 primeri..... 32
Şekil 4.7	VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 813 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 818 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 826 primeri..... 33

Şekil 4.8	VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 828 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 840 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 866 primeri.....	33
Şekil 4.9	VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 886 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 887 primeri	34
Şekil 4.10	VR-9 VR- 22 arası örnekler <i>rpoc1</i> bölgesi	35
Şekil 4.11	VR-9 VR-22 arası örnekler <i>psbK-psbI</i> bölgesi	35
Şekil 4.12	VR-9 VR-22 arası örnekler IGS bölgesi	36
Şekil 4.13	<i>psbK-psbI</i> barkod bölgeleri için taksonların evrimsel ilişkileri	36
Şekil 4.14	<i>rpoc1</i> barkod bölgeleri için taksonların evrimsel ilişkileri	37



SEMBOLLER LİSTESİ

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
µL	Mikrolitre



KISALTMALAR LİSTESİ

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
AVRDC	Asya Sebze Araştırma ve Geliştirme Merkezi
BINA	Bangladeş Nükleer Tarım Enstitüsü
CBOL	Yaşam Barkodu Konsorsiyumu
CTAB	Cetyltrimethyl Ammonium Bromide
EST	Expressed Sequence Tag
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
ISSR	Inter-Simple Sequence Repeats
ITS	Internal Transcribed Spacer
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PCR-RFLP	PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism
PVP	Polivinilpirolidon
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region
SRAP	Sequence-related amplified polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeat
TAE	Tris - Acetate - EDTA
UBC	British Columbia University
V	Volt

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Dünya çapında ve ülkemizde de tarım ürünlerindeki çeşitlilik gün geçtikçe artış göstermektedir. Bu tarım ürünlerinden yemeklik tane baklagiller; yüksek adaptasyon yeteneği, tanelerin zengin protein, mineral, vitamin, nişasta içerikleri ve havadaki serbest azotları toprağa bağlayan yapıları nedeniyle önemli bir yere sahiptir (Lakhanpaul vd., 2000; Bozoğlu ve Topal, 2005). Diğer protein kaynaklarına göre ucuz ve elde edilmesi kolay, ekonomik bir ürün grubunda yer alan yemeklik tane baklagiller, yüksek oranda (%18 - 31,6) protein içerdiğinden beslenmedeki sorunların çözümünde ve protein açığını kapatması açısından önemlidir (Adak vd., 2015).

Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde hayvansal kaynaklı proteinlerin yüksek fiyatlı olması, depolama koşulları ve taşıma zorluklarının yanı sıra bazı ülkelerde dini kısıtlamalar nedeniyle bitkisel kaynaklı besinlere ihtiyaç artmıştır. Türkiye konumu itibarıyla ekolojik ve biyolojik çeşitlilik bakımından zengindir. Her iklim tipinin gözlemlendiği bu coğrafyada birçok tarım ürünü yetişmektedir. Bu tarım ürünlerinin biri de ülkemizde maş fasulyesi olarak bilinen *Vigna radiata* (L.) Wilczek'tir (Dalkılıç, 2010).

Maş fasulyesi'nin (*Vigna radiata* L.) anavatanı Hindistan olarak belirtilmektedir. Avustralya, Afrika, Amerika ve Asya kıtalarında tüketimi olan, genel olarak sarı veya yeşil renkte olan, baklagiller sınıfında olup besin değeri oldukça yüksek olan bir tarım ürünüdür (Kittipongpatana vd., 2006).

Maş fasulyesi (*V. radiata* L.) 7 adet Asya *Vigna* türü (*V. aconitifolia*, *V. angularis*, *V. mungo*, *V. radiata*, *V. reflexo-pilosa*, *V. stipulacea*, *V. umbellata*) arasında en yaygın olanıdır. Kısa büyüme mevsimine adaptasyonu, düşük su isteği ve toprak verimliliği gibi şartlardan dolayı büyük önem taşımaktadır. Hindistan ve Çin başta olmak üzere Güney ve Güneydoğu Asya'da yaygın olarak yetiştirilmektedir (Bisht ve Singh, 2013).

Dünyadaki maş fasulyesi ekim alanı yaklaşık 7,3 milyon hektar olup, ortalama verim 721 kg/ha olduğu bildirilmektedir. Hindistan ve Myanmar, dünya çapındaki 5,3

milyon tonluk üretimin %30'unu oluşturmaktadır. Maş fasulyesi, toplam alanı ve üretim sırasıyla 0,24 milyon hektar ve 0,28 milyon ton üretimi ve hektar başına 1160 kg ulusal ortalama üretimi ile Bangladeş'teki en önemli ikinci bakliyat ürünüdür. (Nair ve Schreinemachers, 2020).

Maş fasulyesinin Türkiye'deki üretimin bölgeleri Akdeniz Bölgesi, Güneydoğu Anadolu Bölgesi ve Doğu Anadolu Bölgesi olarak belirtilmektedir (Dalkılıç ve Önder, 2011; Karaman ve Kaya, 2020). Bu bölgeler içerisinde ise özellikle Gaziantep, Diyarbakır, Adıyaman, Batman, Şırnak ve Malatya illerinde yerel olarak tarımının yapıldığı bildirilmiştir. Yerel üretimden dolayı da maş fasulyesi yetiştiriciliği konusunda Türkiye'de istatistiksel veriler bulunmamaktadır (Dalkılıç ve Önder, 2011).

Bu bitki ailesi en büyük çiçekli bitkiler içerisinde üçüncü sırada yer almaktadır. Tüm dünyada yaygınlaşan *V. radiata*, yaklaşık 650 cins ve 20.000 türe sahip Fabaceae familyasına ait (Doyle, 1994) olup, fenolik asit, polifenol, organik asit, lipid, yüksek düzeyde protein, amino asit, vitamin (B6, potasyum, magnezyum, bakır, demir, manganez) bakımından zengin bileşenleri içermektedir (Tang vd., 2014).

Günümüzde gıdanın yanı sıra ilaç olarak da kullanılabilir olan maş fasulyesi, aynı zamanda detoksifikasyon, anti-oksidatif, anti-diyabetik, anti-tümör ve anti-kanser gibi özelliklere de sahiptir (Tian vd., 2017).

V. radiata birçok ülkede tahıl kökenli diyetlerin temelini oluşturmaktadır. Ülkemizde ise henüz yeni ve küçük alanlarda ekimi yapılan bir baklagildir. Ancak maş fasulyesi yeni bir tarım ürünü olarak görülse de hem yetiştirme süresi, hem çeşitli iklim koşullarına çabuk adaptasyonu hem de düşük üretim maliyeti düşünüldüğünde tarım için büyük bir potansiyele sahiptir. Türkiye'de çiftçiler için çok iyi bir alternatif olmasının yanı sıra toprak verimliliği açısından da oldukça avantajlı bir üründür. Bu sebeplerden dolayı maş fasulyesinin ekim alanlarının yaygınlaştırılması konusu üzerine ciddi çalışmaların yapılması gerekmektedir (Toker vd., 2002; Canci ve Toker, 2014; Pekşen vd., 2015).

Abiyotik faktörlerden ısı ve kuraklığa karşı toleranslı olan maş fasulyesi, demir ve protein açısından zengin bir içeriğe sahiptir. Bundan dolayı da giderek artan insan

nüfusunun besin kaynağı olarak kullanması konusunda büyük bir potansiyele sahiptir (AVRDC, 2022).

Karbonhidrat, protein ve diyet lifi maş fasulyesinin en önemli bileşenleri olmasının yanında düşük yağ oranı ve sodyum içeriği bu baklagilin değerini daha çok arttırmaktadır (Tian vd., 2017). Protein (%14,6-32,6), karbonhidrat (%53,3-67,1) ve enerji (338-347 kcal/100 g), yağ (%0,71-1,85), diyet lifi (%3,80-6,15) ve kül (%0,17-5,87) maş fasulyesinin temel yapısını oluşturur (Dahiya vd., 2015).

Maş fasulyesi yapısında tiamin, riboflavin, niasin, pantotenik asit, A vitamini karotenoidleri ve yüksek oranda C vitamini barındırmaktadır (Herranz vd., 2016; Boukid vd., 2019). Yağ oranının düşük olmasına karşın büyüme ve gelişim destekleyici olan linoleik asit, palmitik asit ve oleik asit gibi yağ asitlerine de sahiptir (Herranz vd., 2016). Ayrıca anti-kanser özellik gösteren tokoferoller ve E vitamini de içermektedir (Du vd., 2014; Sęczyk vd., 2016; Yi-Shen vd., 2018).

Maş fasulyesinin beslenme açısından sindirimi diğer baklagillerle kıyaslandığında daha kolaydır (Sandhu ve Lim, 2008; Nair vd., 2013). Bunun yanında besin elementlerini bağlayan antibesinsel madde (fitik asit, tripsin inhibitörü, tanin vb) içeriği oldukça az orandadır (Lee vd., 2011; Dahiya vd., 2015; Nair vd., 2015).

Bu bitki genomik çalışmalar açısından diğer baklagillerin gerisinde kalmaktadır. *Vigna* cinsine ait türler morfolojik olarak birbirine benzerlik gösterdiklerinden dolayı teşhis sırasında sorun teşkil etmektedir (Bisht ve Singh, 2013). Benzerliklerindeki bu zorlukların ayrımı için DNA barkodlama çalışmaları yapılmaktadır.

Sahip olduğu içerikten dolayı maş fasulyesinin gen havuzu, ürün çeşitliliği ve kalitesinin geliştirilmesi açısından genetik çeşitliliğin tanımlanması önem taşımaktadır. Bu sebeple maş fasulyesinin gen havuzunu oluşturan çeşitli germplazm varlıklarının ve koleksiyonlarının detaylı bir şekilde karakterize edilmesi gerekmektedir (Lavanya vd., 2008).

DNA barkodları genom üzerinde bulunan önceden belirlenen ya da teşhis edilen bölgelerde, genelde kısa genomik bölgeler olup (600-1500 bp), DNA dizilerinin taksonomik moleküler türlerin teşhis edilmesini sağlayan tür içi ve türler arası akrabalık ilişkilerinin tanımlanmasında güvenilir bir teknik olarak kullanılmaktadır

(Lahaye vd., 2008). Çekirdek (ITS= Transkripsiyonu Yapılan İç Ara Bölgeler) ve plastid genomunda bulunan birkaç bölge (rbcL, rpoC1, rpoB, ycf5, psbA-trnH, trnL, atpF-atpH, psbK-psbI) bitkiler için DNA barkod lokusları olarak önerilmektedir. CBOL (Consortium for Barcode of Life) bitki çalışma grubuna göre plastid bölgelerinde 4 kodlanan (matK, rbcL, rpoB, rpoC) ve 3 kodlanmayan (atpF-atpH, trnH-psbA, psbK-psbL) olmak üzere 7 bölge barkod özelliğini taşımaktadır (CBOL, 2009). DNA barkodlamanın en büyük avantajlarından birisi canlı grupları arasında evrensel olmasıdır ve bu özelliğinden dolayı taksonomistler tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır (Kress ve Erickson, 2007). Bu yaklaşım, teşhisi zor yapılan canlı grupları arasındaki filogenetik ilişkiyi de ortaya koyabilmektedir (Kress vd., 2005).

Çekirdek genomun, sistematik botanikte daha az kullanılmasının nedenleri tekrarlanabilirliğinin sınırlı ve kompleks olmasıdır. Çekirdek genomunda tek kopya genler kadar intronların fazla olması da bu genomun aday gen olmasını engellemiştir (Kress vd., 2005). Ribozomal RNA içerisinde tekrarlanan bir bölge olan ITS, türler arası farklılığı yüksek seviyede gösteren, özellikle funguslarda tür düzeyinde güçlü bir filogenetik markıdır. (Álvarez ve Wendel, 2003). Bitki barkod çalışmalarında, özellikle kloroplast genomunda yer alan (kodlanan veya kodlanmayan) bölgeler, çekirdek ribozomal DNA bölgeleri de barkod çalışmalarında uygun seçeneklerin başında aday olarak kullanılmaktadır (Chase vd., 2005).

DNA markırları, bir türdeki farklı bireylerde dizi polimorfizmi gösteren DNA bölgeleri olarak bilinen ve varyasyonun belirlenmesinde en sık kullanılan yöntemdir (Liu, 2017). DNA teknolojisi ve moleküler biyolojideki hızlı gelişmeye paralel olarak daha ekonomik, kolay ve polimorfik özelliklerinden dolayı PZR temelli DNA markır sistemleri PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism), ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), SSR (Simple Sequence Repeats), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism), SCAR (Sequence Characterized Amplified Region), EST (Expressed Sequence Tag), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) genetik çalışmalarda daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Weber ve May, 1989; Liu, 2017).

DNA markır sistemlerinden RAPD, oligonükleotidler yardımıyla rastgele bağlanan bölgelerde genomik DNA'nın PZR tekniği kullanılarak amplifikasyona dayanan bir

analizdir (Williams vd., 1990). RAPD rastgele nükleotid dizilimine sahip tek bir primerin kullanılmasıyla DNA parçalarını amplifiye eden ve bunun sonucunda oluşan farklı bant profiline göre DNA polimorfizmi tespit edilebilmektedir. Bu markırlar kullanılarak yapılan çalışmalarda, aynı lokustaki iki farklı allel belirli büyüklükteki bantların varlığıyla ya da yokluğuyla ayırt edilebilmektedir (Liu, 2017). RAPD markırlarının avantajları, DNA dizi bilgisine ihtiyacın olmaması, diğer markırlara göre özellikle de RFLP'ye göre maliyetinin az olması, az miktarda DNA ile kısa sürede sonuçlar alınabilmesidir. Ayrıca polimorfizm oranının yüksek olmasına rağmen en önemli dezavantajı RFLP'ye göre güvenilirliğinin sınırlı ve düşük olmasıdır (Thormann vd., 1994). AFLP tek bir reaksiyonla çok sayıda bant (60-500 bç) verebilir ve bitkilerde genetik harita oluşturabilmek için avantajlıdır. RAPD markırına göre daha uzun primer kullanıldığından tekrarlanabilir. Yine RAPD markırına kıyasla daha yüksek maliyetlidir (Vuylsteke vd., 2007). SCAR'lar hızlı ve kolay uygulanması yönüyle avantajlıdır ve RAPD'lerde karşılaşılan düşük tekrarlanabilirlik problemiyle karşılaşmaz. En zayıf yönü ise PZR primerlerini tasarlamak için dizi verisine ihtiyaç vardır (Paran ve Michelmores, 1993).

ISSR analiz yöntemi 2'li, 3'lü ve 4'lü tekrarlanan nükleotidlere sahip primer kullanılan, tekrarlanan genomların tesadüfi dağıldığı, tekrarlanan DNA zincirlerinin primer olarak PZR reaksiyonunda kullanılmasını, PZR ürünlerinin elektroforez ile büyüklüklerine göre ayrılmasını ve jel üzerinde DNA'ların tespitini içeren bir analizdir. ISSR markırının kullanımı çabuk sonuç vermesi, kolay uygulanabilirliği ve yüksek tekrarlanabilirliğinden dolayı güvenilirdir. Polimorfizm oranı yüksek, maliyeti düşük ve dominant bir markırdır. ISSR ve SSR markırlarının polimorfizmi yüksek olsa da karşılaştırıldığında maliyeti yüksek ve tekrarlanabilirliği düşüktür (Zietkiewicz vd., 1994).

Günümüzde tüketicilerin sağlıklı çevre taleplerine karşılık organik gıda alımlarında ve tüketimlerdeki artış tarımsal anlamda temiz gıdaya erişmenin güçlüğüyle ve sağlıklı beslenme bilinçlerinin oluşması birleştiğinde alternatif anlamda yeni protein kaynaklarının önemi her geçen gün artmaktadır (Demirel vd., 2022). Baklagillerin ve özellikle maş fasulyesinin detoksifikasyon, antioksidatif, anti-diyabetik, anti-tümör ve anti-kanser özelliklerinin bu seçimde önemi büyüktür.

Multidisipliner bir kavram olarak sürdürülebilirlik ve tarımsal amaçların birlikteliği yeterli ve dengeli beslenme, sürdürülebilir gıda arzlarının sağlanması ve sağlıklı gıda gibi önemli seçimlerin farkındalığını ortaya çıkartmıştır. Bunun beraberinde getirdiği sosyal ve ekonomik kalkınma planlarına uygunluk ile yaşanan ekosistemin korunması amaçları yenilikçi alternatif teknolojilerin geliştirilmesi gerekliliğinin hem gıdaların korunması hem de sürdürülebilirlik açısından önemini vurgulamaktadır (Güneş vd., 2022).

Tarımsal açıdan sahip olduğu yüksek besin değeri, sıralı ekim için uygunluğu ve birçok iklim koşuluna adaptasyon yeteneği gibi özellikleri, maş fasulyesiyle ilgili çalışmaların artırılması gerekliliğini gözler önüne sermektedir. Bu kapsamda maş fasulyesinin ıslah programlarına dahil edilmesi büyük önem arz etmektedir.

Bu sebeplerden dolayı çalışmanın amacı, Türkiye’de morfolojik bakımdan birbirine benzer maş fasulyesi tohumlarında DNA barkodlama yapılarak filogenetik analiz ile teşhisler sonrasında RAPD ve ISSR markır sistemleri yardımıyla genetik çeşitliliğini ve popülasyon farklılığının olup olmadığını belirlemektir.

BÖLÜM 2

KAYNAK ÖZETLERİ

Dünyada ve ülkemizde son yıllarda önem kazanmaya başlayan ve popüleritesi giderek artan *Vigna radiata* üzerinde yapılmış bazı çalışmalar; tarımsal uygulamalar, moleküler marker çalışmaları ve DNA barkodlama çalışmalarına yönelik olan kaynaklar, kronolojik olarak başlıklar altında özetlenmeye çalışılmıştır.

2.1 *Vigna radiata* İle İlgili Yapılan Genel Çalışmalar

Gebeloğlu ve Yazgan (1992a), Tokat ilinin hava koşullarında 22 maş fasulyesi çeşidinde en uygun ekim zamanını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, ilkbahar, yaz ve sonbaharda üç ayrı mevsimde ekimini yapmışlardır. Bu üç mevsimde tohumların tümünün çimlendiğini ancak sıcaklığın 0 °C'ye düşmesi ile ilkbahar ve sonbaharda ekimi yapılan tohumların 8 - 10 cm'deki fidelerin tamamının öldüğünü gözlemleyerek raporlamışlardır. Bu durumun aksine yazın ekilen bitkilerin boylarının 28,00 - 44,67 cm, bakla sayılarının 11,93 - 35,20 adet ve bakladaki tohum sayısının 9,13 - 13,53 adet arasında değiştiğini raporlamışlardır.

Gebeloğlu ve Yazgan (1992b), Tokat ilinin ekolojik şartlarında 22 adet maş fasulyesi çeşidinin en uygun ekim zamanının belirlenmesi için ilkbahar ve sonbaharda düşük sıcaklıklara maruz kalmasından dolayı olumsuz olarak etkilendiğini, yazın yapılan ekimdeyse; çeşitlerin ortalama çiçeklenme süresini 54,33 - 64,33 gün, ilk bakla olgunlaşma süresini 75,67 - 90,33 gün, bin tane ağırlığını 54,23 - 82,30 g ve tane verimini 37,7 - 116,9 kg/da gözlemlemişlerdir.

Kumbhar vd. (1995), maş fasulyesinde (*V. radiata*) gübreleme çalışmasında toprak içeriğinin mevcut azot, azot alımı ve verim arasında önemli ve olumlu bir bağlantı olduğunu bildirmişlerdir.

Turgut (1997), Tokat (Kazova)'ta farklı ekim sıklıklarının maş fasulyesi (*Vigna radiata* L. Wilczek) çeşitlerinde verim ve bazı agronomik özelliklerine etkisini belirlemek için yapılan bu çalışmada toplam vegetasyon süresi 114 gün olup, VC 417

6 A çeşidi 30 x 5 cm ekim sıklığında en yüksek verim elde etmiş olup popülasyon yoğunluğunun artmasıyla verimin arttığını belirlerken bitki başına düşen verimin azaldığını bildirmiştir. Elde edilen verilere göre; 30 x 5, 30 x 10, 40 x 5 ve 50 x 5 cm ekim sıklıkları arasındaki farkın önemli olmadığını, bu nedenle maş fasulyesi için bu ekim sıklıklarının önemli olabileceğini raporlamıştır.

Oad vd. (2003), Pakistan'da farklı seviyelerde fosfor ve potasyum gübresinin maş fasulyesi çeşitleri üzerinde büyüme etkisine ve verimine olumlu yönde etkisini tespit ederek, 100 kg/ha P_2O_5 ve 100 kg/ha K_2O gübrelemenin maş fasulyesinde tane verimini artırıp gelişimine etkisini bildirmişlerdir.

Tuz stresinin maş fasulyesi üzerindeki verimine ve bileşenine etkisini tespit etmek amacıyla Ahmed vd. (2009), Pakistan'da yaptıkları araştırmada 5 maş fasulyesi genotipi (245/7, 241/11, NM-51, NM-92, 6601) kullanmışlardır. Araştırma maş fasulyesinde hem normal hem de tuzlu koşullarda verim ve bileşen özellikleri bakımından farklılık göstermiştir. Tuz stresine maruz kalan genotipler tohum doldurma süresinin uzaması ve olgunlaşan bitkileri artan sıcaklık nedeniyle sıcaklık ve su stresine sürükleyerek hem tuzluluk hem de su stresi etkisiyle tohumların buruşuk olmasına neden olarak verim düşüşüne sebebiyet vermiştir. Deney sonucunda; 5 genotipin hepsinde tohum gelişiminin yanı sıra çiçeklenme ve tohum doldurma aşamalarında tuz stresinin etkili olduğunu gözlemlemişlerdir. NM-92 genotipi tuzlu su koşullarından daha az etkilenecek dayanıklılık göstermiştir. Bitkiyi tuz stresi nedeniyle gecikmiş olgunluğa ve buruşuk tohuma neden olan kuraklık stresine ittiği sonucunu da bildirmişlerdir.

Dülgerbaki (2011), maş fasulyesinde farklı miktarlardaki çinko uygulamalarının verime ve verim faktörlerine etkisinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada Gaziantep ilinde yetişen maş fasulyesi tohumlarını kullanılmıştır. Çalışma; tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekrarlı olacak şekilde denemede 4 farklı tohum prosedürü (saf su, %0,04 Zn solüsyonu, %0,05 Zn solüsyonu ve %0,06 Zn solüsyonu) kullanılarak çinkonun etkilerini kıyaslamak için hem tohuma hem de toprağa Zn gübrelemesi yapılarak varyans analizi gerçekleştirilmiştir. Bitkinin boyu, bitkideki dal sayısı, bitkideki meyvenin sayısı, bitkinin ağırlığı, bitkide bulunan tane sayısı, bitkinin tane verimi, yüz tane ağırlığı, birim alana düşen tane verimi, hasat indeksi, ham protein

oranı ve tane çinko içeriği uygulamaların etkisinin önemli olduğunu ve bakladaki ilk yüksekliğin uygulamalarda etkisi olmadığı rapor edilmiştir.

Baydemir (2013), farklı sıra aralığı ve fosfor dozlarının maş fasulyesindeki [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] verim ve verim faktörlerine etkisini yorumlamak için çalışmasında; Karaman ilinden topladığı maş fasulyesi tohumlarının yerel çeşidinin farklı fosfor dozları ve sıra aralığında ekimini yapmıştır. Maş fasulyesi genotipinin sıra mesafe ortalamasını en yüksek tane veriminin fosfor dozunun 6 kg/da uygulandığı alandan, en yüksek protein miktarının ise fosfor dozunun 8 kg/da uygulandığı alandan elde edildiği sonucuna varmıştır. Fosfor dozu artışının, tane verimine olumlu etkisinin olduğunu ve ortalama fosfor dozunun sıra mesafesi arttıkça tane veriminde doğru orantılı olarak arttığı sonucuna varmıştır.

Bhardwaj ve Hamama (2015), yerli üretim kurmak ve *Triticum aestivum* L. ile 2012 ve 2013 yıllarında 2 çeşit, 2 farklı ekim tarihi ve 2 sıra aralığı (37,5 ve 75 cm) kullanarak denemeler kurmuşlardır. Kültivar ve ekim tarihinin tohum verimi üzerine etkisi bulunamamış ancak dar ve geniş sıra aralıkları yüksek tohum verimi ve protein konsantrasyonu önemli ölçüde etkili olmuştur (1,76'ya karşı 0,86 mg/ha⁻¹ verim ve %24,9'a karşı %23,7 protein). Yapılan bu çalışmada erken ekimde, geç ekime göre daha düşük şeker ve yağ konsantrasyon içeriği olduğu gözlenmiştir. Tohum verimi, boyutu ve protein, yağ, şeker konsantrasyonları için ortalama maş fasulyesi değerini 1,31 mg/ha⁻¹, 7,08 g/tohum¹⁰⁰ olduğu sonucuna varmışlardır. Düşük hasat indeks değerinin (%17 - %25) sıra aralıklarından değil, çeşitler ve ekim tarihlerinden önemli ölçüde etkilendiğini görmüş ve maş fasulyesi tohum veriminde gelişim potansiyeli olduğunu göstermişlerdir. 2 yıllık bu çalışma sonunda ABD'nin Orta Atlantik Bölgesi'nde maş fasulyesi Temmuz ayı sonunda ekim, Ekim ayının sonunda hasat edilerek *Triticum aestivum* L. ile dönüşümlü olarak üretilebileceği sonucuna varmışlardır.

Pekşen vd. (2015), yaptıkları çalışmada 20 maş fasulyesi genotipinin Samsun ilindeki hava koşullarına adaptasyonunu ve yetiştirilmesini değerlendirmek amacıyla Türkiye'de lokal yetiştirilen 3 ve yabancı 17 maş fasulyesi genotipi kullanarak tarla denemesi yapmışlardır. Genotip denemesini rastgele bloklar halinde dört tekerrürlü gerçekleştirmişlerdir. Maş fasulyesi genotiplerinin ilk çiçeklenme ve ilk meyve oluşumundaki gün sayısı, bitkinin boyu, baklanın sayısı ve boyutları, baklada bulunan

tane sayısının, 100 tane ağırlığının hasat ve tohum verimine etkilerinde farklar olduğunu bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışmaya göre sonuçları ümit verici bulmuş ve maş fasulyesinin Türkiye'nin Orta Karadeniz Bölgesi'nin hem ılıman sahil kuşağı hem de kuraklığa eğilimli daha iç bölgelerindeki baklagil üretimi yapan çiftçiler için bir seçenek olabileceği konusunda önemini vurgulamışlardır.

Akgündüz (2016), Samsun'da 20 maş fasulyesi genotipini iyi sulama ve doğal koşulda yağışların, ekim sonucunda verim ve kuraklık stresine direncini kıyaslamak amacıyla yaptığı çalışmada doğal hava şartlarındaki yağışlarla yetiştirilen genotiplerin olumsuz etkilendiğini bildirmiştir.

Gölgül (2019), Kayseri Erciyes Üniversitesi Tarımsal Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yaptığı çalışmada farklı sulama suyunun maş fasulyesi üzerindeki verime etkisini raporlamak için; damla sulama sistemi ve farklı sulama düzeyi uygulamıştır. Çalışma sonucunda en yüksek verim en çok sulanan genotiplerde olurken en düşük verim ise en düşük seviyede sulanan genotiplerde olduğunu bildirmiştir.

Karaman ve Kaya (2020), yaptıkları çalışmada ülkemiz illerinden toplanan farklı tohumların Isparta ili koşullarında fenolojik özelliklerini belirlemek için (Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde) deneme kurmuş ve araştırmayı Augmented Deneme Deseni'ne göre 5 tekrarlı olarak uygulamışlardır. 2015 yılında ön çalışma amacıyla 91 adet tohum toplanarak aynı yılda tohum çoğaltılması yapılmıştır. Bu ön çalışma sonuçlarına göre seçmiş oldukları 50 maş fasulyesi genotipinin yurtdışından temin edilen 4 tescilli çeşitle (Jade-AU (Avustralya), Partow (İran), Vidiyala (Irak) ve Kalkınış (Türkmenistan)) 2017 ve 2018 yıllarında deneme alanlarına ekimini yapmışlardır. Deneme verilerine göre 2 yılın fenolojik çıkış süresi, çiçeklenme süresi, vejetasyon süresi ve bakla bağlanma süresini gözlemlemişlerdir. Bu iki yılın ortalaması 10,5 - 17,4 gün arasında değişim göstermiştir. En erkenci çeşit olarak belirlenen Kalkınış çeşidinden erken çıkan 13 genotip gözlemlemiş ve 27 S 08 genotipi olduğunu testlemişlerdir. Yine erken çiçeklenen çeşit 27 S 08 genotipi olarak belirlenmiş bakla bağlanma süresi 91 - 129 gün olup 27 S 08 en düşük değere sahip olduğunu ortaya çıkarmışlardır. Maş fasulyesinin erkenci ve geçici genotiplerinin olması farklı bölgelerde uyumlu genetik materyal olduğunu gözlemlemişlerdir.

Türkay ve Karaman (2021), bu araştırmayı Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi uygulama alanlarında 2020 yılında maş fasulyesi genotiplerinde farklı ekim derinliklerinin çimlenme ve bazı büyüme unsurları üzerine etkisini belirlemek amacıyla açık alanda saksı denemesi olarak yaz aylarında uygulamışlardır. Bu çalışmanın sonucu olarak farklı tane büyüklüğündeki maş fasulyesi tohumlarının çimlenme ve fide özelliklerinin ekimdeki derinlikten etkilendiğini gözlemleyerek raporlamışlardır. Maş fasulyesinde farklı tohum büyüklüğü belli derinlikte ekildiğinde çimlenme süresinin ve fidenin büyümesi üzerinde olumlu etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

2.2 *Vigna radiata* İle İlgili Yapılan Moleküler Çalışmalar

Santalla vd. (1998), RAPD markırlarını kullanarak maş fasulyesi germplazmındaki genetik çeşitliliği belirlemek adına yaptıkları araştırmada; ekili maş fasulyesi *V. radiata*, *V. mungo*, *V. radiata* ve *V. luteola* dâhil olmak üzere 19 yerel tür kullanmışlardır. Amplifikasyon reaksiyonlarında totalde 60 RAPD primeri kullanarak 28 primerin bilgilendirici olduğunu primer başına 8,2 fragment ve polimorfik 246 fragment oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Çok boyutlu ölçeklemede (MDS) dengdrograma dönüştürülmüş *V. radiata* yerel türlerinin, *V. mungo* ve *V. luteola* içeren 3 ana grupta kümelendiğini gözlemlemişlerdir. Testlenen germplazmların sınıflandırılması, yerel tür tanımlaması ve yetiştiriciliğinde moleküler markırların uygulanabilir olduğu sonucuna varmışlardır.

Lakhanpaul vd. (2000), Asya'da verimi düşük maş fasulyesinde genetik değişkenlik eksikliğinin kısıtlayıcı bir faktör olup olmadığını belirlemek amacıyla 32 Hint çeşidi, 21 RAPD primeri kullanarak analiz gerçekleştirmişlerdir. Genel polimorfizm %64 ile primer başına ortalama 12,71'de toplam 267 amplifikasyon ürünü oluşturmuşlardır. Polimorfizm derecesinin orta ila düşük arasında olduğunu belirtmişlerdir. Jaccard benzerlik katsayısı değerleri 0,65 ile 0,92 arasında değişkenlik göstermiş ve küme analizi, aynı kaynaktaki çeşitler arasında daha fazla homoloji ortaya çıkaran 3 ana grupta kümelemiştir. Geliştirilen çeşitlerin çoğunun dar bir genetik tabana sahip olduğu, bu nedenle sınırlı bir potansiyele ve değişen büyüme koşullarına uyum sağlama yeteneğinin zayıf olduğunu gözlemlemişlerdir.

Afzal vd. (2004), 21 maş fasulyesi çeşidinin genetik çeşitliliğini değerlendirmek için yaptıkları çalışmada 34 RAPD primeri kullanılarak analizler gerçekleştirmişlerdir. Tüm primerler, varyasyon göstermiş olup %75 polimorfizm sergilemiştir. Jaccard benzerlik katsayısı 0,54 ve 0,85 arasında farklılık göstermiştir. Bu araştırma sonucunda; çeşitlerin dar bir genetik tabana sahip olduğunu, genetik benzerlik çeşitlilik merkezlerinden ve diğer kaynaklardan elde edilen çeşitli germplazmaların toplanmasının genetik tabanı genişletebileceğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte, bu çalışmada gözlemlenen makul çeşitliliğin, verim iyileştirmesi için daha fazla kullanılabilir olduğunu bildirmişlerdir.

Betal vd. (2004), çalışmalarında 14 farklı RAPD primeri kullanarak elde ettikleri bant paterni temelinde dendrogram oluşturmuşlardır. Neighbour joining ile oluşturulan filogenetik ağaç, RAPD analizi sonucunda elde edilen bant patternlerinin çeşitlerin fenotipik karakterleri ile korelasyona sahip olduğunu ortaya koymuşlardır.

Chattopadhyay vd. (2008), çalışmalarında büyük ve etkili gen havuzu oluşturmayı hedeflemişlerdir. Kayıtlı yabani ve yerel çeşitleri içeren gen kaynaklarının genetik çeşitliliğini incelemek için RAPD ve ISSR gibi moleküler markır sistemlerini kullanmışlardır. Çeşitler arasındaki polimorfizmi orta olduğu halde polimorfizmin tüm yüksek gen kaynakları dikkate alınmıştır. Çoklu ileri polimorfik bantlar ve polimorfik bilgi içeriği değerlerinin ISSR markırlarının RAPD markırlarından daha etkili olduğunu gözlemlemişlerdir.

Lavanya vd. (2008), gelişmiş ve yerel kara ırklarını içeren 54 maş fasulyesi arasındaki varyasyonu belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, totalde 40 RAPD primerini testlemiş, 7 primerden ortalama 24,85 bant ile 174 amplikasyon ürünü oluşmuş ve moleküler düzeyde geniş bir varyasyonun varlığını gösteren 0 ile 0,48 aralığında bir Jaccard benzerlik katsayısı elde etmişlerdir. Araştırmanın sonucu olarak, RAPD profillerinin aralarındaki morfolojik özellik farklılıklarını yansıtabilecek maş fasulyesi katılımlarının ön genetik çeşitlilik değerlendirmesi için kolay ve basit bir teknik sağladığını bildirmişlerdir.

Tangphatsornruang vd. (2009), Shotgun sekanslama metodunu kullanarak *V. radiata*'da SSR markerlerini araştırmışlardır. 454 sekanslama teknolojisini kullanarak 100,5 MB'lık genom sekansını analiz ederek, 1493 potansiyel SSR motifi

bulmuşlardır. 17 farklı maş fasulyesi çeşidinde 192 primer testleyerek ortalama polimorfik bilgi içeriği 0,2594 olan 60 polimorfik loki keşfetmişlerdir. Aynı zamanda 16 SSR lokusları *Asya Vigna* grubunda araştırarak onların arasındaki filogenetik ilişkiyi incelemişlerdir. Filogenetik analiz sonucunda, 20 türe ait 35 genotipin 2 farklı grupta toplandığını rapor etmişlerdir. Çalışmada keşfedilen mikrosatellit markırların gelecekte gen kaynaklarının analizinde, genetik çeşitlilik araştırmalarında ve linkaj gruplarının oluşturulmasında kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Khajudparn ve Tantasawat (2011), hibridizasyon yoluyla maş fasulyesinin iyileştirmesi, daha sonraki selfing/crossing ve seçim nesillerinden önce kontrollü çaprazlardan gerçek F1 hibritlerinin tanımlanması gerektiğini belirtmişlerdir. Bu amaçla, morfolojik özellikleri kendi dişi ebeveynlerinininkine çok benzeyen ve kendi kendine tozlaşan soydan görsel olarak ayırt edilemeyen altı çapraz kombinasyondan varsayılan F hibritlerini tanımlamak için basit dizi tekrarı (ISSR) belirteçlerini kullanmışlardır. 10 ISSR primerine dayalı olarak, altı çapraz kombinasyonun hepsinin dişi ve erkek ebeveynleri arasında polimorfizmler oluşturduğunu belirlemiş ve en yüksek genetik farklılaşma değerinin (%21,4) SUT3 x M5-1 çaprazının erkek ve dişi ebeveynleri arasında olduğunu gözlemişlerdir. Bu 10 ISSR primeriyle, erkek ve dişi ebeveynler arasında ortalama %12,1 ile %2,8 - 25,0 polimorfizm ve F1 hibrit ve dişi ebeveynler arasında ortalama %4,8 ile %0 - 13,0 polimorfizm meydana getirdiğini ve altı çapraz kombinasyonun tümünün F1 hibritlerinin ISSR 835 primeri ile birlikte sadece ISSR 841 veya 857 primerleri kullanılarak dişi ebeveynlerinin kendi kendine tozlanan soylarından ayırt edilebilir olduğunu tespit etmişlerdir. ISSR belirteçlerinin kontrollü melezlemelerde maş fasulyesi F hibritlerini tanımlamak için yararlı ve verimli olduğu sonucuna varmışlardır.

Sony vd. (2012), Bangladeş'ten temin edilen 13 maş fasulyesi çeşidinin genetik çeşitliliğini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırma kapsamında PZR tabanlı RAPD markır sistemini kullanarak 20 dekamer primeriyle analizler gerçekleştirmişlerdir. Primerlerden yalnızca 10'unun primer başına 37,9 bant ile totalde 379 bant ürettiğini tespit etmişlerdir. 0,7 - 1,08 arasında değişen genetik mesafeler nedeni ile maş fasulyesi çeşitlerinin genetik çeşitliliklerinin geniş olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırma sonucunda, 13 maş fasulyesinden BARI ve BANI çeşidinin her birinin patentlendirilmesini gerçekleştirerek, BINA mung 2 - 7 çeşidinin bitki yetiştirilmesinde potansiyel ebeveyn olduğunu tespit etmişlerdir.

Bhuyan vd. (2014), Asya Sebze Araştırma ve Geliştirme Merkezi'nden (AVRDC) 7 germplazm, Bangladeş Nükleer Tarım Enstitüsü'nden (BINA) 3 germplazm maş fasulyesi temin etmişlerdir. Bu maş fasulyesi genotiplerinin genetik çeşitliliğini ve filogenetik ilişkilerin boyutunu değerlendirmek amacıyla, yapılan araştırmada 23 RAPD primeri kullanılmış ve bu primerlerden yalnızca 3'ünün tekrarlabılır ve maksimum bant ürettiğini rapor etmişlerdir. Polimorfik lokus oranı bakımından ele alınan maş fasulyesi genotipleri arasında orta düzeyde varyasyon olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada hibridizasyon, gen transfer teknolojisi veya diğer moleküler tekniklerin kullanılarak yüksek verimli yeni çeşitlerin geliştirilmesi için yüksek verimli ebeveyn genotipi tanımlanmasında etkili olabileceğini, bu nedenle özellikle hibridizasyon için hedeflenen genotipin, istenen genotiplerin evrimi için fayda sağlayacak farklı kümelerden seçilebilir olduğu seçeneğini bildirmişlerdir.

Singh vd. (2014), 35 *Vigna* genotipi arasındaki genetik çeşitliliği SSR, ISSR, RAPD markırlarını kullanarak analiz etmişlerdir. SSR için 21, ISSR için 17 ve RAPD için 25 primer kullanarak totalde 63 primer testlenerek 319 polimorfik bant üretmişlerdir. ISSR markırı heterozigotluk açısından kıyaslandığında belirteç indeksinin daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışma sonucunda, *Vigna* spp.'nin farklı kültüre alınmış ve yabani genotipleri arasındaki, türler arası ve intraspesifik çeşitlilik ve tür ilişkileri düzeyini belirlemede başarılı bir değerlendirme gösterdiğini belirtmişlerdir. Yabani ve kültüre alınan çeşitlerin ayrı kümelerde farklılaşması, sadece salınan çeşitlerin dar genetik tabanını değil, aynı zamanda hibridizasyon yoluyla yerli çeşitlerin dar genetik tabanını genişletmek için yabani çeşitlerin kullanılma potansiyelini de vurgulamışlardır.

Sao vd. (2015), belirlemiş oldukları 4 maş fasulyesi genotipini ISSR ve SSR markırlarını kullanarak polimorfizm açısından analiz etmişlerdir. Genotip DNA'sının ISSR ve SSR primerleri ile amplifikasyonu, 56'sı polimorfik olan primer başına 8,0 polimorfik fragmanlarla skorlamış ve 162 bant elde etmişlerdir. ISSR ve SSR primerlerinin güçlendirilmiş bant sayılarının 7 ile 37 arasında değişkenlik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu belirteçlerin her ikisinin de tek tek genetik ilişkilerinin belirlenmesinde etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermiş ve *Vigna* genotipleri arasındaki genetik benzerlikler ve çeşitlilik moleküler teknikler kullanılarak kolayca tanımlanabileceği sonucuna varmışlardır.

Nath vd. (2018), birleştirilmiş benzerlik matrisi elde etmek için RAPD ve ISSR verilerini değerlendirmiş, benzerlik katsayılarının 0,46 - 0,68 arasında olduğu sonucuna varmışlardır. RAPD ve ISSR çalışmasının ışığında, 8 genotipin 4 kümeye ayrılabilceğini göstermiş, BM4 ve PDM 139 genotiplerini kümeler üzerinde gruplandırmışlardır. BM4 x PDM 139 çaprazlarının ebeveynlerini %53 farklılığa sahip olan ve ayrı kümeler halinde gruplandırmış, genetik çeşitliliklerinden fark edilerek ayırt etmişlerdir.

Breria vd. (2020), Dünya Sebze Merkezi'nden sağlanan mini maş fasulyesi koleksiyonunun popülasyon yapısını incelemek amacıyla SNP belirtecini kullanarak analiz etmişlerdir. Tohum kabuk parlaklığıyla lokuslar arasında bağlantısının varlığını, bu özelliğin genetik temelini anlamak ve fenotipik varyasyondan sorumlu genetik varyantları belirlemek için GWAS yapmışlardır. Yapılan araştırmanın sonucunda, tohum kabuk parlaklığı ile alakalı kromozom 5 üzerinde 2 lokus tanımlamışlardır. Tohum kabuk parlaklığı nitel bir özellik olarak kabul edildiğinden GWAS yapılan bu özelliğin birden fazla lokusta varyasyon sağlamakta olduğunu bildirmişlerdir.

Mangave vd. (2020), çalışmada belirgin morfolojik farklılıklara sahip 52 *V. radiata* için 15 ISSR markeri kullanarak analiz gerçekleştirmişlerdir. 2721 bant amplifiye olurken, 2671 bant %92,93 oranında polimorfizm gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda ISSR markerlerinin germplazmlar arasındaki polimorfizmi belirlemek için büyük bir potansiyel olduğunu ve istenilen genotiplerin geliştirilmesinin genetik çeşitlilik için faydalı olabileceğini bildirmişlerdir.

Tabasum vd. (2020), Pakistan'da yaptıkları araştırmada 21 maş fasulyesi genotipini karakterize etmek amacıyla RAPD, ISSR ve SSR markır sistemlerini kullanarak üç markır sistemi için toplamda 42 primeri analiz etmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmanın sonucu olarak, RAPD'e kıyasla hem ISSR hem de SSR markırları polimorfizm belirlenmesinde etkin olarak kullanılabileceğini saptamışlardır. Çalışmada tanımlanan yüksek oranda polimorfik primerler, Pakistan'dan maş fasulyesi genotiplerinin DNA profillendirilmesi için faydalı moleküler tanımlayıcıların üretilmesinde kullanılabilir olduğunu bildirmişlerdir.

2.3 *Vigna radiata* İle İlgili DNA Barkodlama Çalışmaları

V. radiata genomik araştırması, Fabaceae familyasındaki diğer türlerin gerisinde kalmıştır (Tangphatsornruang vd., 2010).

Goel vd. (2002), *Vigna* ürün bitkisindeki taksonomik çelişkiyi ve bunun *Phaseolus* ile ilişkisini çözümlemek için ITS dizileri kullanarak filogenisini incelemişlerdir. Neotropik kökenli *Plectotropis* alt cinsinin Afrika (*Vigna* alt cinsi) ve Asya (*Ceratotropis*) *Vigna* türleri arasında bağlantı oluşmadığını ve *Vigna* alt cinsiyle yakından ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. *Phaseolus* taksonunun kardeş grubu olduğunu raporlamışlardır. Ayrıca ITS bölgesinin *V. mungo*, *V. radiata*, *V. umbellata*, *V. unguicalata* yabani progenitörlerini belirlemek ve taksonomideki sorunları aydınlatmak için yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Saini ve Jawali (2009), 5S rRNA gen bölgesinin evrimi *Vigna* alt cinsi *Ceratotropis*'e ait 10 tür arasında incelenmiş, *V. radiata* dışında *Vigna* türleri arasında karakterize edilemediğini raporlamışlardır. 5S IGS, ITS ile karşılaştırılabilir ve cpDNA'nın atpB-rbcL'den daha iyi ayırım sağladığı sonucuna varmışlardır. 5S IGS *Vigna* türlerini değerlendirmek için yeterince polimorfik bir bölge olduğunu bildirmişlerdir.

Javadi vd. (2011), yaptıkları çalışmada *Vigna* cinsi *Ceratotropis* alt türü üyelerinin türler arası ve coğrafi ilişkilerini açıklamak amacıyla, kloroplast DNA sekanslarını (petA-psbJ, psbD-trnT, trnT-trnE ve trnT-trnL) kullanarak filogenisini ve biyocoğrafyasını araştırmışlardır. Filogenetik epigeal çimlenmenin plesiomorfik olduğunu çimlenme biçiminin, bu alt cinsten bağımsız olarak birçok defa evrimleştiğini bildirmişlerdir. Alt cinsinin türler arası ilişkilerinden ekolojik ve coğrafi filogenetik yapılarının anlaşıldığı sonucuna varmışlardır. Bu çalışmanın *Vigna* türleri ile taksonomik olarak ilişkili gelecekteki çalışmalar için bir yol gösterici nitelikte olduğunu raporlamışlardır.

Takahashi vd. (2016), yabani *Vigna* koleksiyonunun genetik çeşitliliğini artırmak ve çevresel stres taraması amacıyla çeşitli gen bankalarından *Vigna* tohumlarını temin etmişlerdir. Genomlardaki çevresel stres adaptasyonundan sorumlu genlerin varlığının, tarımda yenilikler gösterebilir olduğunu bildirmişlerdir. Bundan dolayı *Vigna* olarak tanımlanmamış yeni genetik kaynakların morfolojik olarak tanımlanmasıyla birlikte rDNA - ITS ve atpB - rbcL DNA dizilerine dayalı çalışmalar

yapmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda *Ceratotropis* alt cinsinin, *Vigna* alt türlerinden *Plectotropis* alt türü yoluyla ortaya çıktığını raporlamışlardır. Ayrıca *V. marina*, nispeten yakın filogenetik konumlarına dayalı olarak, *V. subterranea* ile türler arası melezler üretmeye değer, *V. luteola* tuzluluğa ve alkali toprağa karşı oldukça toleranslı ve *V. subterranea* ise kurak topraklara adapte edilmiş bir mahsul olduğunu bildirmişlerdir.

Raveenadar vd. (2018), *Vigna* cinsi alt türler ve türler arasındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek amacıyla; rbcL, psbA-trnH, matK ve ITS2 DNA barkodları olarak bilinen bölgeleri kullanmışlardır. ITS2 bölgesini tek bir barkod olarak en kullanışlı bölge olduğunu kanıtlamışlardır. ITS2 bölgesinin de dahil olduğu dört barkod bölgesinin kombinasyonu en iyi ayrımı sağlamış olduğunu raporlamışlardır.

Mayada vd. (2022), rbcL gen bölgesinin *Phaseolus* spp. tohumlarını kullanarak araştırmışlardır. *Phaseolus vulgaris*, *V. radiata* ve *V. unguiculata* ile ilişkili olduğunu, tür ve cins bazında tanımlamada kısmen başarılı olduğunu raporlamışlardır. Son derece benzer türler arasında ayrım gücünün zayıf olduğu ve cins seviyesinde tanımlayamadığını buna ek olarak başka DNA barkod yaklaşımlarının kullanılabilirliğini bildirmişlerdir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOTLAR

3.1 Bitki Materyali

Ekotip, belirli iklim koşullarına adaptasyon sağlayan popülasyon olarak tanımlanmaktadır. Bu kapsamda çalışmada kullanılan *Vigna radiata* tohumları Gaziantep, Malatya, Adıyaman, Ankara, Kahramanmaraş ve bu illere bağlı ilçelerin farklı lokasyonlarından toplanarak Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde muhafaza edilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1 *Vigna radiata* ekotipleri

İL	İLÇE	KÖY	RENK	KOD	İZOLAT ADI
Adıyaman	Gerger	-	Siyah	02 GG1 (S)	VR-1
Adıyaman	Gerger	-	Siyah	02 GG2 (S)	VR-2
Adıyaman	Gölbaşı	-	Siyah	02 GLŞ1 (S)	VR-3
Adıyaman	Gölbaşı	-	Yeşil	02 GLŞ1 (Y)	VR-4
Adıyaman	Gölbaşı	-	Siyah	02 GLŞ2 (S)	VR-5
Adıyaman	Gölbaşı	-	Yeşil	02 GLŞ2 (Y)	VR-6
Adıyaman	Gölbaşı	Karabağşili	Siyah	02 GLŞ "KB" (S)	VR-7
Adıyaman	Gölbaşı	Karabağşili	Yeşil	02 GLŞ "KB" (Y)	VR-8
Adıyaman	Gölbaşı	Karabağşili - Çayır	Siyah	02 GLŞ "KBÇ" (S)	VR-9
Adıyaman	Gölbaşı	Karabağşili - Çayır	Yeşil	02 GLŞ "KBÇ" (Y)	VR-10
Adıyaman	Kahta	-	Siyah	02 KT (S)	VR-11
Adıyaman	Merkez	Kuştepe	Siyah	02 MRK "KŞ" (S)	VR-12
Adıyaman	Tut	Enişdene	Siyah	02 T "E" (S)	VR-13
Ankara	Merkez	-	Yeşil	06 MRK (Y)	VR-14
Gaziantep	Şehitkamil	Battal	Yeşil	27 BTL (Y)	VR-15

Tablo 3.1 (devam)

İL	İLÇE	KÖY	RENK	KOD	İZOLAT ADI
Malatya	Doğanşehir	Örencik - Pancarlı	Siyah	44 DÖP1 (S)	VR-16
Malatya	Doğanşehir	Örencik - Pancarlı	Yeşil	44 DÖP1 (Y)	VR-17
Malatya	Doğanşehir	Örencik - Pancarlı	Siyah	44 DÖP2 (S)	VR-18
Malatya	Doğanşehir	Örencik - Pancarlı	Yeşil	44 DÖP2 (Y)	VR-19
Malatya	Doğanşehir	Örencik - Pancarlı	Kahverengi	44 DÖP2 (K)	VR-20
Malatya	Pötürge	-	Siyah	44 PG1 (S)	VR-21
Malatya	Pötürge	-	Yeşil	44 PG1 (Y)	VR-22
Malatya	Pötürge	-	Siyah	44 PG2 (S)	VR-23
Kahramanmaraş	Merkez	-	Yeşil	46 MRK (Y)	VR-24
Kahramanmaraş	Pazarcık	-	Yeşil	46 PZR (Y)	VR-25
Kahramanmaraş	Pazarcık	-	Kahverengi	46 PZR (K)	VR-26
Bilinmeyen		-	Yeşil	UNK (Y)	VR-27

3.2 Tohum Ekimi

Steril torf, kum ve perlit 2:2:1 oranlarında karıştırılarak 8 x 4'lük viyollere 3'er tane olacak şekilde tohum ekimi yapılmıştır. Ekim sonrası tohumlar 28±2 °C'de, %80 - 90 nem içeren ve 12 saat ışık, 12 saat karanlık olarak ayarlanan iklimlendirme odalarında, 2 hafta süre ile geliştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 *Vigna radiata* tohumlarının ekimi ve gelişim süreci

a) *Vigna radiata* tohumları, **b)** Tohum ekimi, **c)** *Vigna radiata* tohum ekim sonrası iklimlendirme odasındaki gelişimleri

3.3 Total DNA İzolasyonu

Bu çalışmada DNA ekstraksiyonu için 2 farklı yöntem uygulanmıştır. Bu metotların denenmesinde toplam 27 *V. radiata* ekotipi kullanılmıştır. İklimlendirme odasında gelişen bitkilerin yaprakları steril bistüri yardımıyla kesilerek, alüminyum folyoya sarılarak sıvı azot içerisine bırakılmıştır (Şekil 3.2). Ardından uzun süreli muhafaza için -80 °C’de (HS4486, -86 °C Ultra Freezer, Hettich, Almanya) saklanmıştır.



Şekil 3.2 *Vigna radiata*’nın örneklenmesi ve muhafazası

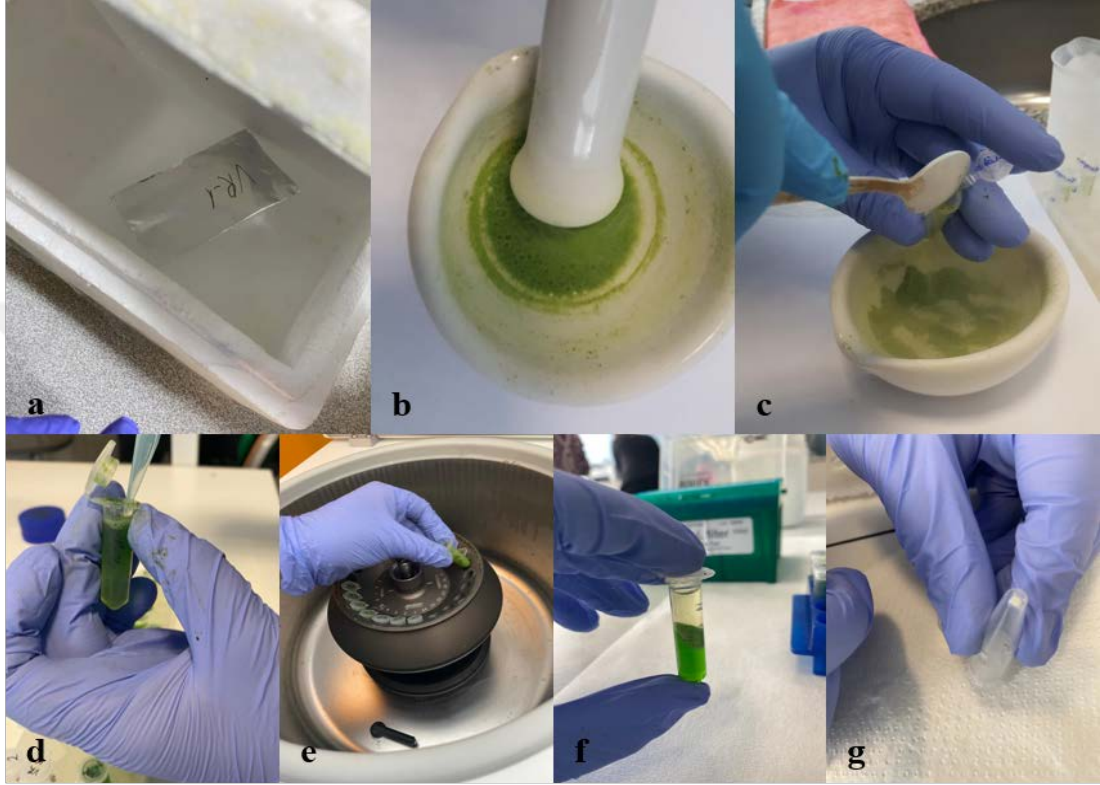
a) Steril bistüri ile yaprakların kesilmesi, **b)** Kesilen yaprakların folyolanması, **c)** Yaprakların sıvı azota bırakılması

3.3.1 CTAB Protokolü

Stoklanmış bitki yaprak örneklerine aşağıda protokolü verilmiş olan CTAB (N-Cetyl-N,N,N Trimethyl Ammonium Bromid) metodu (Doyle&Doyle, 1990) uygulanmış ve bitki total DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Örneklerin DNA izolasyonuna uygun hale gelebilmesi için porselen havan içerisine sıvı azot ile birlikte bitki materyali konularak ezme işlemi gerçekleştirilmiştir.

- 1) Sıvı azot ile ezilmiş 200 mg bitki yaprağı 2 mL'lik mikro santrifüj tüplerine (078.03.003, Isolab, Almanya) alınmıştır.
- 2) 900 µL CTAB solüsyonu (%2 CTAB (102342, Merck, Almanya), 1,4 M NaCl (106404, Merck, Almanya), 100 mM Trizma Hydrochloride (T5941, Sigma Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri), 20 mM EDTA (E5134, Sigma Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri), %1 PVP (81440, Sigma Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri) ve 0,2 µL mercaptoethanol (M6250, Sigma Aldrich, Almanya)) eklenerek 65 °C'de 1 saat ısı bloğunda (TS-100, Biosan, Litvanya) bekletilmiştir.
- 3) Isı bloğundan alınan tüplere 900 µL kloroform (102445, Merck, Almanya)/izoamil alkol (100978, Merck, Almanya) (24:1) eklenmiştir.
- 4) Tüpler 15 dk buz üzerinde bekletildikten sonra 12.000 rpm'de 15 dk santrifüj (Universal 320R, Hettich, Almanya) edilmiştir.
- 5) Santrifüj sonucunda oluşan süpernatant temiz bir mikro santrifüj tüpüne aktarılacak üzerine 900 µL kloroform/izoamil alkol (24:1) eklenerek 15 dk buz üzerinde bekletilmiştir.
- 6) Buz üzerinde 15 dk bekleyen tüpler 12.000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir.
- 7) Santrifüj sonucu oluşan süpernatant steril bir mikro santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 600 µL 2-Propanol (24137, Sigma Aldrich, Almanya) eklenerek 15 dk buz üzerinde bekletilmiştir.
- 8) Buz üzerinde 15 dk bekleyen tüpler 12.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
- 9) Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra tüpler dikkatli bir şekilde süzölmüştür.
- 10) Süzme işleminden sonra tüplere 500 µL %70'lik ethanol (920.026, Isolab Chemicals, Almanya) eklenerek 12.000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir.

- 11) Santrifüj sonrası tüpler dikkatli bir şekilde süzülerek kurumaya bırakılmıştır.
- 12) Kuruyan tüplere 100 µL Tris-EDTA (TE) tamponu eklenerek DNA çözündürülmüş ve uzun süreli muhafaza amacıyla -20 °C’de (UDD 600 BK, Derin Dondurucu, Uğur, Türkiye) bekletilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 *Vigna radiata* örneklerinin DNA izolasyon aşamaları

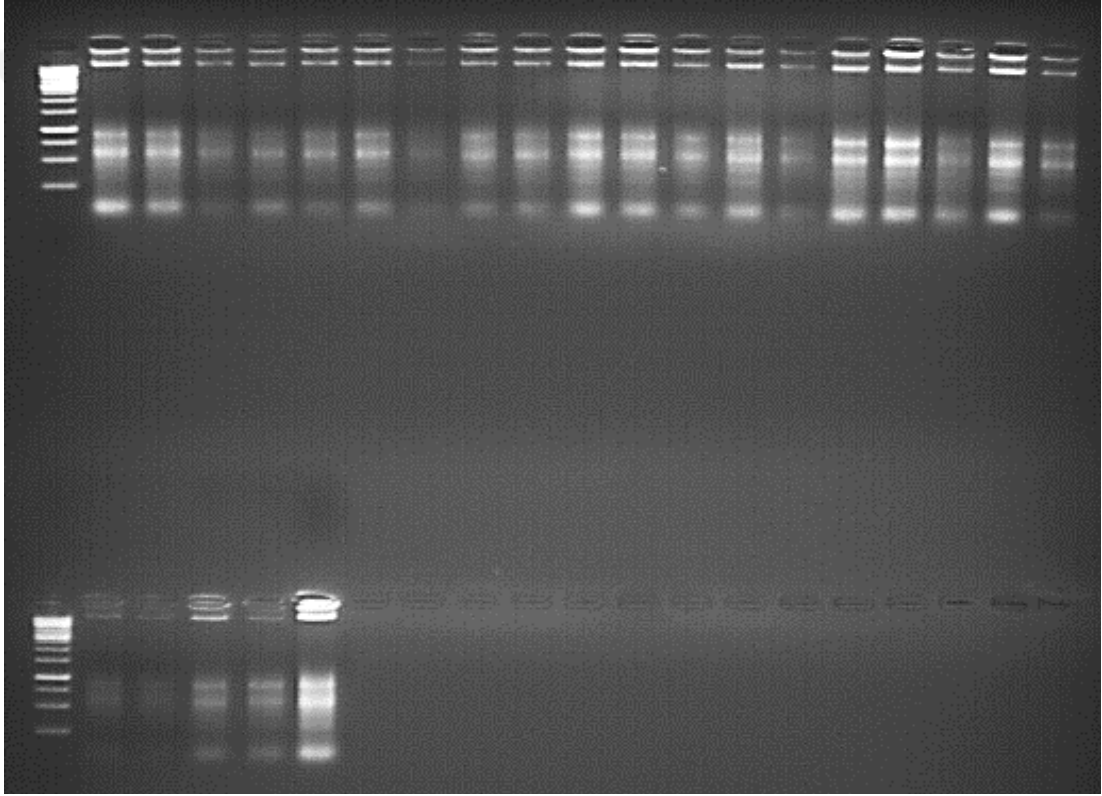
a) Folyolanan örneklerin sıvı azotta bekletilmesi, **b)** Yaprak örneklerinin porselen havanda ezilmesi, **c)** Ezilen örneklerin spatül yardımıyla mikro santrifüj tüplerine aktarılması, **d)** DNA eldesi için kimyasalların eklenmesi, **e)** Örneklerin santrifüjlenmesi, **f)** Faz ayrımının gözlemlenmesi, **g)** DNA’nın elde edilmesi

3.3.2 Agaroz Jelin Hazırlanması ve Total DNA’ların Elektroforezi

Agaroz jel hazırlamak amacıyla 1 L’lik 50X TAE (Trizma Base 242 g (T1503, Sigma Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri), Acetic Acid 57,1 mL (27225, Sigma Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri), EDTA 7,43 g (E5134, Sigma Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri)) tampon çözeltisi steril ultra saf su ile hazırlanmıştır. 1X konsantrasyonda olacak şekilde seyreltilerek agaroz jelin hazırlanmasında ve elektroforez tankının doldurulmasında kullanılmıştır. %1,5’lik agaroz jelin hazırlanması için agaroz

(A9539, Sigma Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri) miktarı 4,5 g tartılarak (AX224, Ohaus, İsviçre) mikrodalga yardımı ile 300 mL 1X TAE tamponu içerisinde çözündürülmüştür.

V. radiata ekotiplerinden elde edilen Total DNA'ların kalitelerini tespit etmek için %1,5'lik agaroz jelde 60 volt'ta 60 dakika boyunca elektroforez (CS-300V, Cleaver Scientific, Birleşik Krallık) işlemi uygulanmıştır. Total DNA ürünleri 1 kb'lık DNA markırı (SM0314, GeneRuler 1 kb DNA Ladder, ready-to-use, Thermo Fisher, Amerika Birleşik Devletleri) ile birlikte yürütülmüştür. UV ışık altında bant görüntüleri elde edilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Total DNA'ların agaroz gel elektroforezi görüntüsü

3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonlarının Amplifikasyonu (PZR)

V. radiata ekotipleri arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek için total DNA izolasyonu sonucunda elde edilen DNA'larda DNA bazlı olan RAPD ve ISSR moleküler markır sistemleri kullanılmıştır. Elde edilen *V. radiata* ekotiplerinin DNA'sının genoma bağlanan bölgeleri PZR tekniğiyle (4484073, ProFlex™ 3 x 32-well PCR System, Applied Biosystems™, Amerika Birleşik Devletleri) çoğaltılmıştır.

3.4.1 RAPD Analizi

Bu teknik için 15 primer seti (University of British Columbia (UBC), Vancouver, BC, Canada) kullanılmıştır (Tablo 3.2).

Tablo 3.2 Çalışmalarda kullanılan RAPD primerleri (Chowdhury vd., 2002)

Primer Adı	Primer Dizilimi
UBC701	5' - CCC ACA ACC C - 3'
UBC702	5' - GGG AGA AGG G - 3'
UBC703	5' - CCA ACC ACC C - 3'
UBC706	5' - GGT GGT TGG G - 3'
UBC709	5' - CCT CCT CCC T - 3'
UBC711	5' - CCC TCT CCC T - 3'
UBC717	5' - CCC ACA CCC A - 3'
UBC729	5' - CCC AAC CCA C - 3'
UBC751	5' - CCC ACC ACA C - 3'
UBC763	5' - CAC ACC ACC C - 3'
UBC764	5' - CTC TCC TCC C - 3'
UBC771	5' - CCC TCC TCC C - 3'
UBC778	5' - CCA CAC CAC A - 3'
UBC783	5' - GGT GGG TTG T - 3'
UBC790	5' - GGA AGT CGC C - 3'

PZR temelli moleküler analiz için PZR amplifikasyonu (10342020, Taq DNA Polymerase, recombinant (5 U/μL), Thermo Fisher, Amerika Birleşik Devletleri) 25 μL volüm olarak toplamda 27 örneklelik karışım hazırlanmıştır. 25 μL amplifikasyon reaksiyonu; 0,7 U Taq DNA Polimeraz 0,2 μL, 2 mM dNTP 2,5 μL, 25 mM MgCl₂ 3 μL, 10X Taq Buffer 2,5 μL, 10 mM Primer 1 μL, 14,8 μL ddH₂O içermektedir.

15 RAPD primeri için 33, 34, 35 ve 36 °C'de sıcaklık ve döngü koşulları denenmiş olup bunun sonucunda, 94 °C'de 5 dk denatürasyon aşaması, primer bağlanma aşaması 35 döngü yapılarak 94 °C'de 1 dk, 35 °C'de 1 dk, 72 °C'de 3 dk, son aşamada ise 72 °C'de 10 dk olarak ayarlanmıştır (Tablo 3.3).

Tablo 3.3 RAPD markırı için PZR koşulları

RAPD			
Aşamalar	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94	5 dk	1
Denatürasyon	94	1 dk	
Hibridizasyon	35	1 dk	35
Uzama	72	3 dk	
Son Uzama	72	10 dk	1

3.4.2 ISSR Analizi

Bu teknik için 11 primer seti (University of British Columbia (UBC), Vancouver, BC, Canada) kullanılmıştır (Tablo 3.4).

Tablo 3.4 Çalışmada kullanılan ISSR primerleri (Chowdhury vd., 2002)

Primer Adı	Primer Dizilimi
UBC809	5' - AGAGAGAGAGAGAGAGG - 3'
UBC812	5' - GAGAGAGAGAGAGAGAA - 3'
UBC813	5' - CTCTCTCTCTCTCTT - 3'
UBC817	5' - CACACACACACACACAA - 3'
UBC818	5' - CACACACACACACACAG - 3'
UBC826	5' - ACACACACACACACACC - 3'
UBC828	5' - TGTGTGTGTGTGTGTGA - 3'
UBC840	5' - GAGAGAGAGAGAGAGAYT - 3'
UBC866	5' - CTCTCTCTCTCTCTCTC - 3'
UBC886	5' - VDVCTCCTCCTCCTCTCT - 3'
UBC887	5' - DVDTCCTCTCTCTCTCTC - 3'

PZR temelli moleküler analiz için PZR amplifikasyonu 25 µL volüm olarak toplamda 27 örneklik karışım hazırlanmıştır. 25 µL amplifikasyon reaksiyonu; 0,7 U Taq DNA

Polimeraz 0,2 µL, 2 mM dNTP 2,5 µL, 25 mM MgCl₂ 2,5 µL, 10X Taq Buffer 2,5 µL, 10 mM Primer 1 µL, 14,8 µL ddH₂O içermektedir.

Sıcaklık ve döngü koşulları olarak 51, 52, 53, 54, 55 °C denenmiş ve bunun sonucunda, 94 °C’de 5 dk denatürasyon aşaması, primer bağlanma aşaması 35 döngüyü takiben 94 °C’de 1 dk, 50 °C’de 1 dk, 72 °C’de 3 dk, son aşama ise 72 °C’de 10 dk olarak ayarlanmıştır (Tablo 3.5).

Tablo 3.5 ISSR markırı için PZR koşulları

ISSR			
Aşamalar	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94	5 dk	1
Denatürasyon	94	1 dk	
Hibridizasyon	50	1 dk	35
Uzama	72	3 dk	
Son Uzama	72	10 dk	1

3.4.3 DNA Barkodlama

V. radiata ekotipleri arasındaki var olan filogenetik ilişkiyi de ortaya koymak, tür içi ve türler arası teşhisi için DNA barkodlama yapılmıştır. Bunun için, *rpco1* (RNA polymerase beta subunit 1), *psbK* - *psbI* (photosystem II reaction center protein K - photosystem II reaction center protein I), IGS (Inter Genic Spacer), ITS (Internal Transcribed Spacer) ve DNA barkod bölgeleri için tasarlanan primerler kullanılmıştır (Tablo 3.6).

Tablo 3.6 DNA barkod bölge primerleri (Fazekas vd., 2008; Saini ve Jawali, 2009)

Barkod Bölgesi	Primer Adı	İleri Primer	Geri Primer
<i>rpco1</i>	2f/4r	(5' - GGC AAA GAG GGA AGA TTT CG - 3')	(5' - CCA TAA GCA TAT CTT GAG TTG G - 3')

Tablo 3.6 (devam)

Barkod Bölgesi	Primer Adı	İleri Primer	Geri Primer
IGS	VR5SL	(5' - CCA TCA GAA CTC	(5' - GGA TCC GGT GCA
	VR5SR	CGC AGT TA - 3')	TTA GTG CT - 3')
<i>psbK</i> - <i>psbI</i>	<i>psbK</i> - <i>psbI</i>	(5' - TTA GCC TTT GTT TGG CAA G - 3')	(5' - AGA GTT TGA GAG TAA GCA T - 3')

Sıcaklık ve döngü koşulları olarak, 94 °C'de 4 dk denatürasyon aşaması, primer bağlanma aşaması 25 - 35 döngü arasını takiben 94 °C'de 30 sn, 50 - 58 °C aralığında 30 sn, 72 °C'de 2 dk, son aşama ise 72 °C'de 10 dk olarak ayarlanarak optimize edilmiştir (Fazekas vd., 2008; Saini ve Jawali, 2009) (Tablo 3.7).

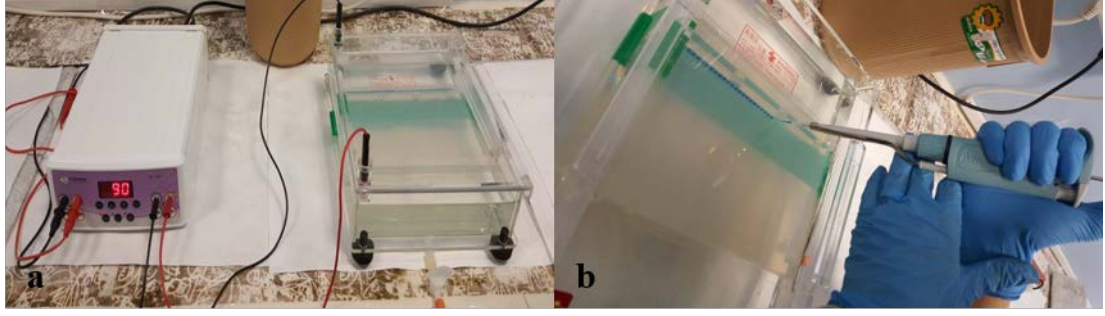
Tablo 3.7 DNA barkodlama için PZR koşulları

DNA Barkot Bölgeleri			
Aşamalar	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	94	4 dk	1
Denatürasyon	94	30 sn	
Hibridizasyon	50 - 58	30 sn	25 - 35
Uzama	72	2 dk	
Son Uzama	72	10 dk	1

3.5 PZR Ürünlerinin Elektroforez İle Ayrımı

V. radiata ekotiplerine ait PZR ürünleri %1,5'lik agoroz jelde 90 volt'ta 120 dakika boyunca elektroforez işlemi uygulanmıştır. PZR ürünleri 1 kb'lik DNA markırı ile birlikte yürütülmüştür (Fazekas vd., 2008; Saini ve Jawali, 2009).

Agaroz jellerde yürütülen PZR ürünleri, Vilber Lourmat markalı bilgisayarlı jel dökümantasyon ve görüntüleme sistemi ile florasan lamba/UV ışık altında görüntülenmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Agaroz jel elektroforezi uygulaması

a) Elektroforez sistemi, **b)** PZR ürünlerinin jele yüklenmesi

3.6 Sekans Verilerinin İncelenmesi ve Filogenetik Analiz

Örnekleme yapılan iller arasında farklı popülasyon gruplarının olup olmadığını belirlemek amacıyla farklı illerden 5 adet ekotip rastgele seçilmiştir. Veri analizi için elde edilen PCR ürünleri arasından seçilen 5 ekotip hizmet alımı yapılabilmesi için ticari firmaya gönderilmiştir (Tablo 3.8). Analizler 3500 XL Genetic Analyzer (Thermo Fisher, Amerika Birleşik Devletleri) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

psbK-psbI ve *rpoC1* bölgelerine ait ham veriler FinchTV 1.4 genetik dizileme görüntüleme programı ile kalite analizi yapılmış ve ileri - geri diziler BioEdit v7.2.5 programında birleştirilmiştir. Elde edilen sekanslar fasta formatına aktırılmış olup, MEGA7 programı ile hizalanarak dendrogram oluşturulmuştur (Mayada vd., 2022).

Tablo 3.8 Sekans hizmeti için seçilen ekotipler

İL	İLÇE	KÖY	RENK	KOD	İZOLAT ADI
Adıyaman	Gölbaşı	Karabağşili - Çayır	Siyah	02 GLŞ "KBÇ" (S)	VR-9
Adıyaman	Gölbaşı	Karabağşili - Çayır	Yeşil	02 GLŞ "KBÇ" (Y)	VR-10
Ankara	Merkez	-	Yeşil	06 MRK (Y)	VR-14
Malatya	Pötürge	-	Siyah	44 PG1 (S)	VR-21
Malatya	Pötürge	-	Yeşil	44 PG1 (Y)	VR-22

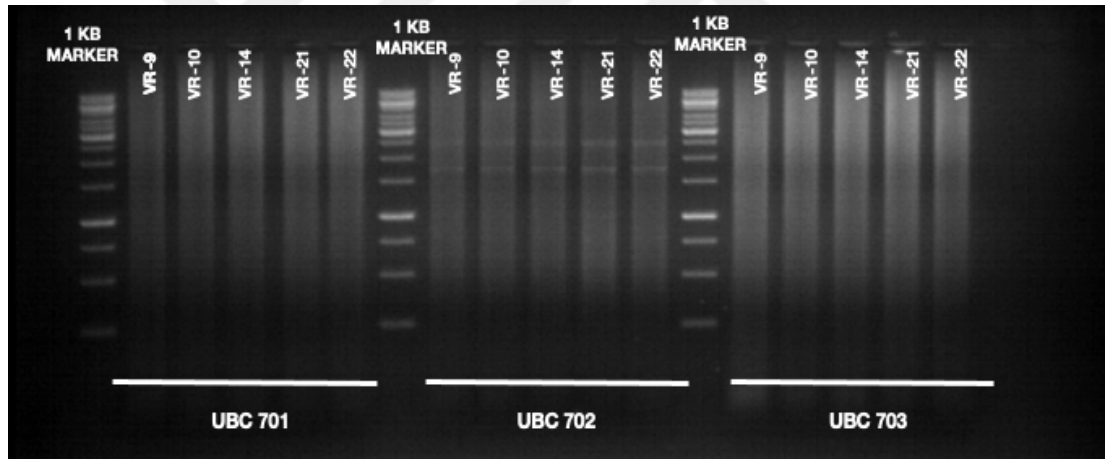
BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 Moleküler Markır Çalışmasına Ait Bulgular

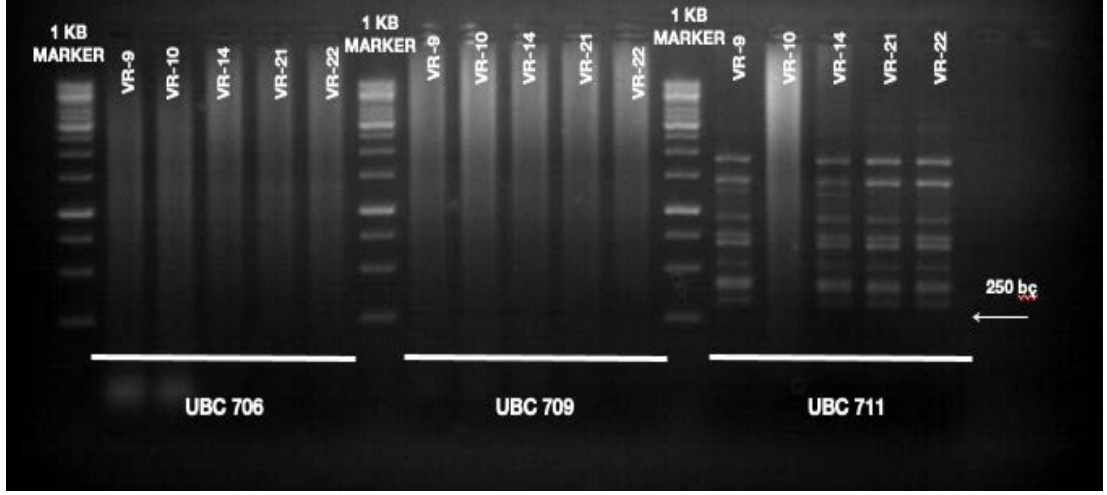
Çalışmada kullanılan farklı lokasyonlardaki ekotiplerden rastgele seçilen VR-9, VR-10, VR-14, VR-21, VR-22; RAPD ve ISSR analizleri için tüm primerler ile testlenmiştir.

UBC 701, UBC 702 ve UBC 703 primerleri için amplifikasyon gerçekleşmemiştir ve bant profili elde edilememiştir. PZR amplifikasyonu için seçilen RAPD markırının (UBC 701 ,UBC 702 ve UBC 703 primerleri) jel görüntüsü Şekil 4.1’de verilmiştir.



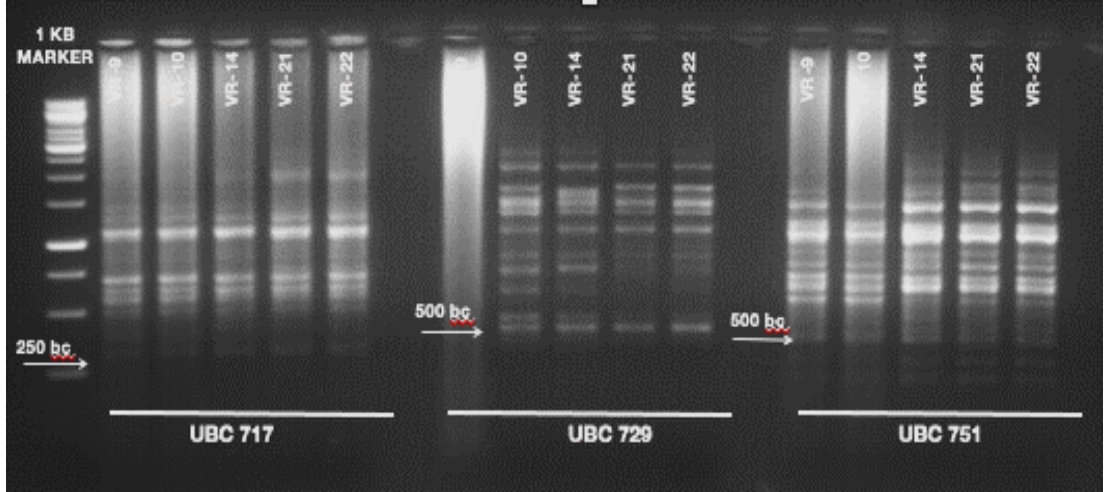
Şekil 4.1 VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 701 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki UBC 702 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki UBC 703 primeri

UBC 706 ve UBC 709 primeri için amplifikasyon gerçekleşmemiştir ve bant profili elde edilememiştir. Bu iki primerin aksine UBC 711 primerinde VR10 ekotipinde amplifikasyon elde edilememişken VR-9, VR-14, VR-21 ve VR-22 ekotiplerinde amplifikasyon gerçekleşmiş ve monomorfik bant profili oluşmuştur. UBC 706, UBC 709, UBC 711 primerlerinin jel görüntüsü Şekil 4.2’de verilmiştir.



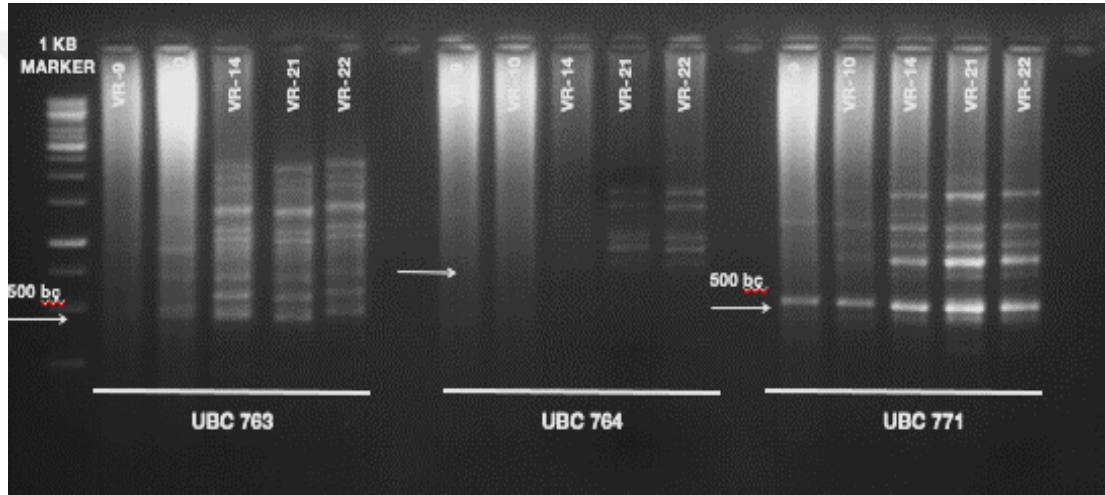
Şekil 4.2 VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 706 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 709 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 711 primeri

UBC 717 ve UBC 751 primerleri için amplifikasyon gerçekleşmiştir. UBC 717 primeri için 250 bp büyüklüğünde monomorfik bant profili oluşurken, UBC 751 primeri için 500 bp'nde monomorfik bant profili olduğu gözlemlenmiştir. UBC 729 primeri için ise VR-9 bitki örneğinde amplifiye olmamıştır. VR-9 dışındaki ekotipler için UBC 717, UBC 729, UBC 751 primerlerinin jel görüntüsü Şekil 4.3'te verilmiştir.



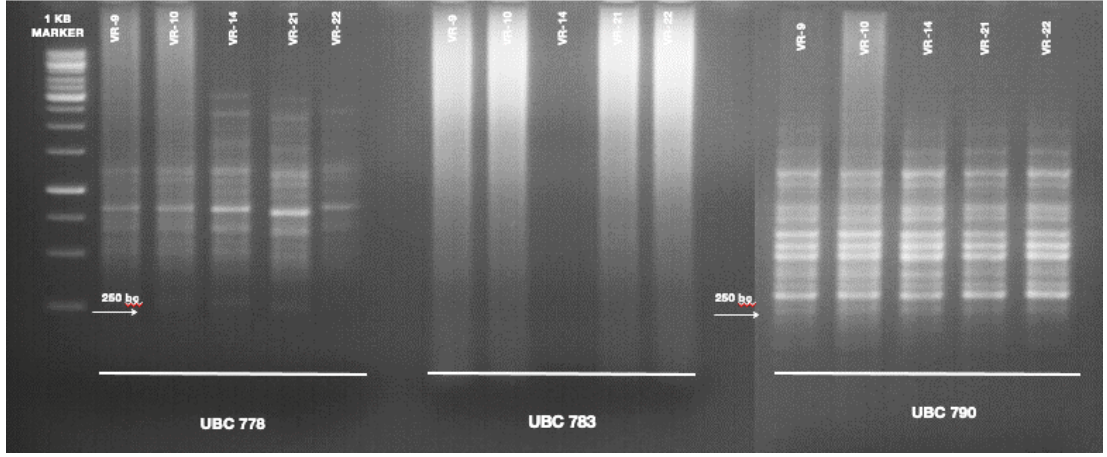
Şekil 4.3 VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 717 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 729 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 751 primeri

VR-9, VR-10, VR-14, VR-21 ve VR-22 ekotiplerinde kullanılan UBC 763, UBC 764 ve UBC 771 primerinin tamamında VR-21 ve VR-22 ekotipleri için 500 bç büyüklüğünde monomorfik bant profilleri elde edilmiştir. Bunun yanı sıra, UBC 763, UBC 764 primerlerinde VR-9 ve VR-10 ekotiplerinde istenilen amplifikasyon elde edilememişken; UBC 771 primeri için VR-9 ve VR-10 ekotiplerinde 500 bç büyüklüğünde monomorfik bant profili oluşturduğu tespit edilmiştir. UBC 763 ve UBC 771 primeri için VR-14 ekotipinde 500 bç'lik bir amplifikasyon gerçekleştiği gözlemlenirken UBC 764 primerlerinde VR-14 ekotipinde istenilen amplifikasyon elde edilememiştir. UBC 763, UBC 764, UBC 771 primerlerinin jel görüntüsü Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4 VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 763 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 764 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 771 primeri

UBC 778 primeri için 250 bç büyüklüğünde belirgin olmayan bant profili oluşmuştur. UBC 783 primeri için amplifikasyon gerçekleşmemiş ve bant profili oluşmamıştır. UBC 790 primerinde ise amplifikasyon gerçekleşmiş olup, 250 bç büyüklüğünde monomorfik bant profili oluşmuştur. RAPD markırı için UBC 778, UBC 783, UBC 790 primerlerinin jel görüntüsü Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5 VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 778 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 783 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 790 primeri

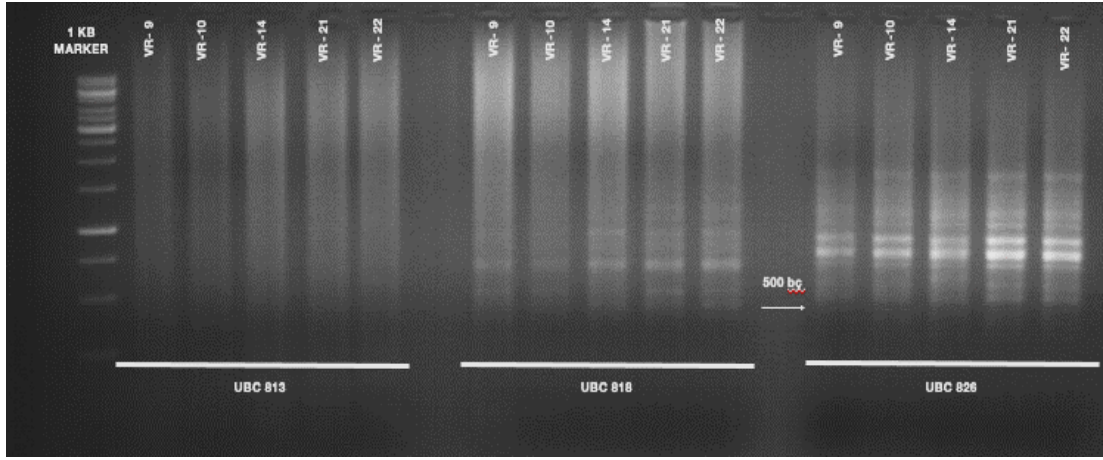
UBC 809 primeri için 750 bp büyüklüğünde belirgin olmayan bant profili gözlemlenmiştir. UBC 812 primerinin VR-9 haricindeki diğer ekotiplerde monomorfik bant profili oluşturduğu tespit edilmiştir. UBC 817 primeri için ise tüm ekotiplerde 500 bp'nde monomorfik bant profili olduğu belirlenmiştir. ISSR markırı için UBC 809, UBC 812, UBC 817 primerlerinin jel görüntüsü Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6 VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 809 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 812 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 817 primeri

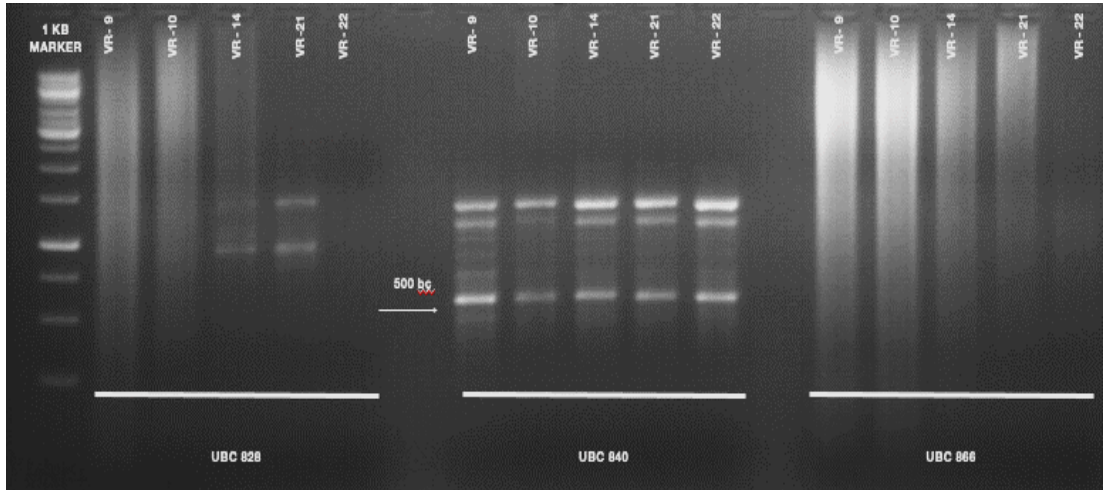
UBC 813 ve UBC 818 primerleri için amplifikasyon elde edilememiştir. UBC 826 primeri için 500 bp büyüklüğünde monomorfik bant profili gözlemlenmiştir. ISSR

markırı için UBC 813, UBC 818, UBC 826 primerlerinin jel görüntüsü Şekil 4.7’de verilmiştir.



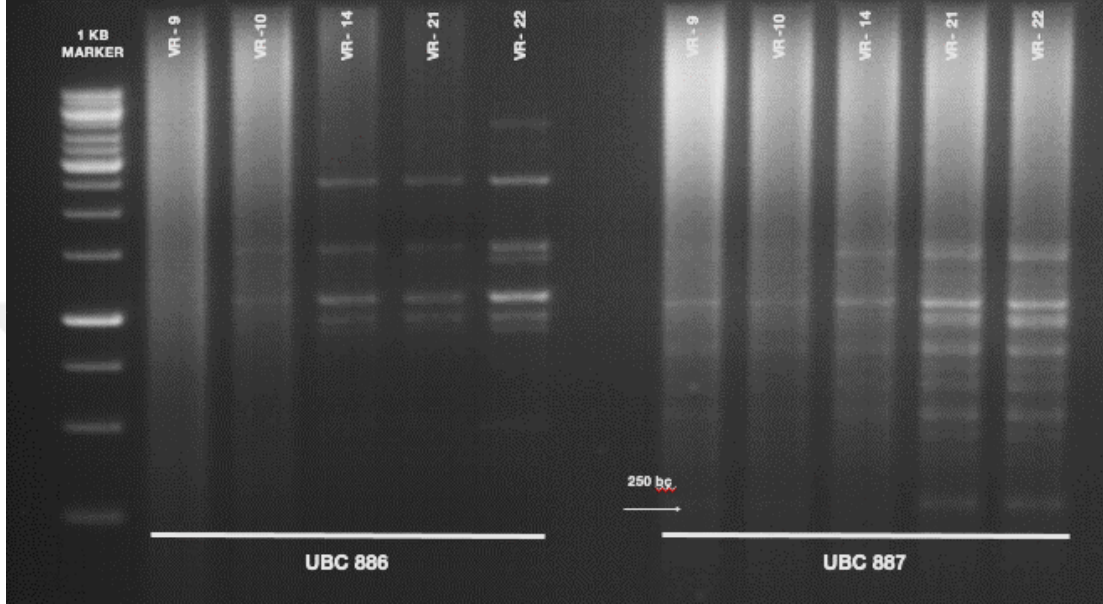
Şekil 4.7 VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 813 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 818 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 826 primeri

UBC 828 primerinde VR-14 ve VR-21 ekotiplerinin belirgin olmayan bant profili vermesine karşın amplifikasyon gerçekleşmemiştir. UBC 866 primeri amplifiye olmamış ve bant profili oluşmamıştır. UBC 840 primeri için ise 500 bp büyüklüğünde monomorfik bant profili oluşmuştur. ISSR markırı için UBC 828, UBC 840, UBC 866 primerlerinin jel görüntüsü Şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.8 VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 828 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 840 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 866 primeri

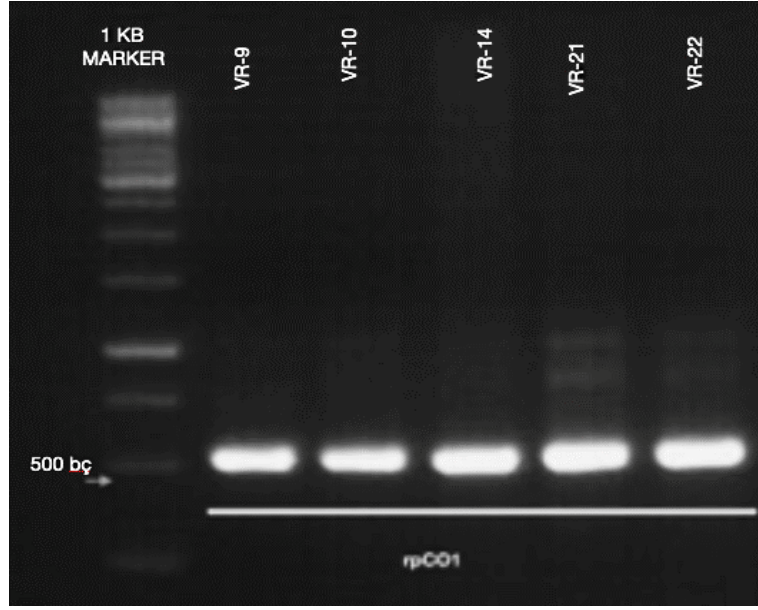
UBC 886 primeri için VR-9 ve VR-10 ekotiplerinde bant profili oluşmamışken diğer ekotipler için belirgin olmayan bant profili oluşmuştur. UBC 887 primerinde ise VR-9, VR-10 ve VR-14 için bant profili oluşmamıştır. Diğer ekotipler için 250 bp büyüklüğünde bant profili oluşmuştur. ISSR markırı için UBC 886, UBC 887, primerlerinin jel görüntüsü Şekil 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.9 VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 886 primeri, VR-9 ve VR-22 arasındaki örnekler UBC 887 primeri

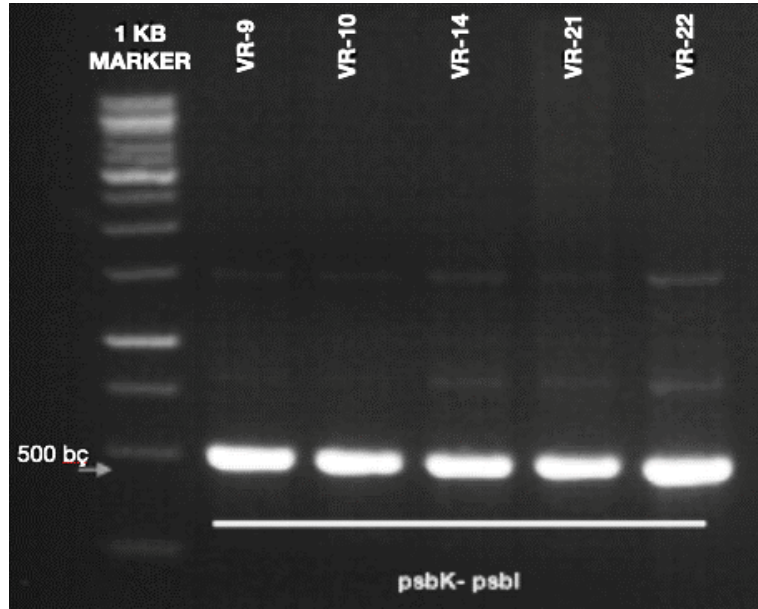
4.2 DNA Barkodlama Çalışmalarına Ait Bulgular

rpoC1 bölgesi için tasarlanan primer VR-9, VR-10, VR-14, VR-21 ve VR-22 ekotipleri ile testlenmiştir. PZR amplikasyonu sonucunda 500 bp büyüklüğünde bant elde edilmiştir. *rpoC1* DNA barkod bölgesinin jel görüntüsü Şekil 4.10’da verilmiştir.



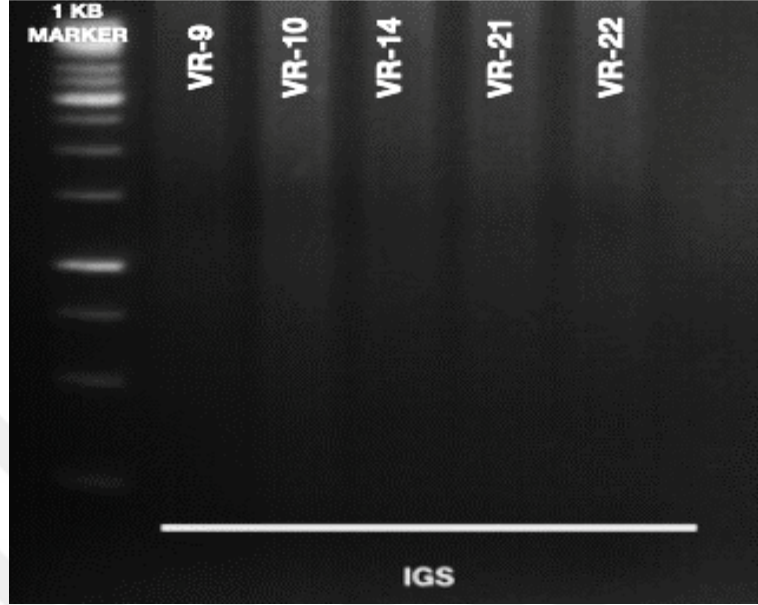
Şekil 4.10 VR-9 VR- 22 arası örnekler *rpoc1* bölgesi

psbK-psbI bölgesi için tasarlanan primerler VR-9, VR-10, VR-14, VR-21 ve VR-22 ekotipleri ile testlenmiştir. PZR amplifikasyonu sonucunda 500 bç büyüklüğünde bant elde edilmiştir. *psbK-psbI* DNA barkod bölgesinin jel görüntüsü Şekil 4.11’de verilmiştir.



Şekil 4.11 VR-9 VR-22 arası örnekler *psbK-psbI* bölgesi

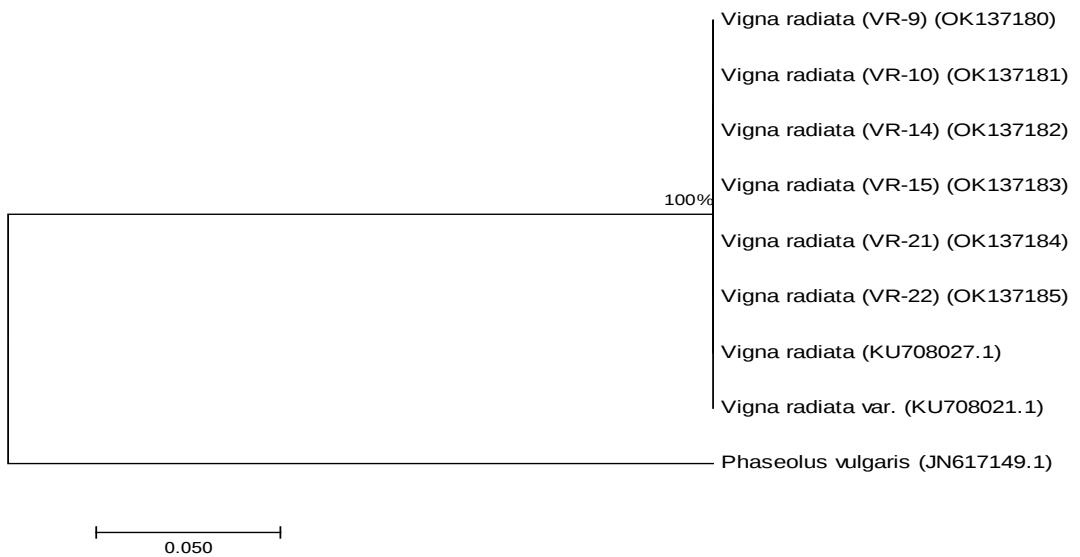
IGS bölgesi ile gerçekleştirilen PZR amplifikasyonu için ekotipler amplifiye olmamış ve bunun sonucunda bant profili oluşmamıştır. IGS DNA barkod bölgesi jel görüntüsü Şekil 4.12’de verilmiştir.



Şekil 4.12 VR-9 VR-22 arası örnekler IGS bölgesi

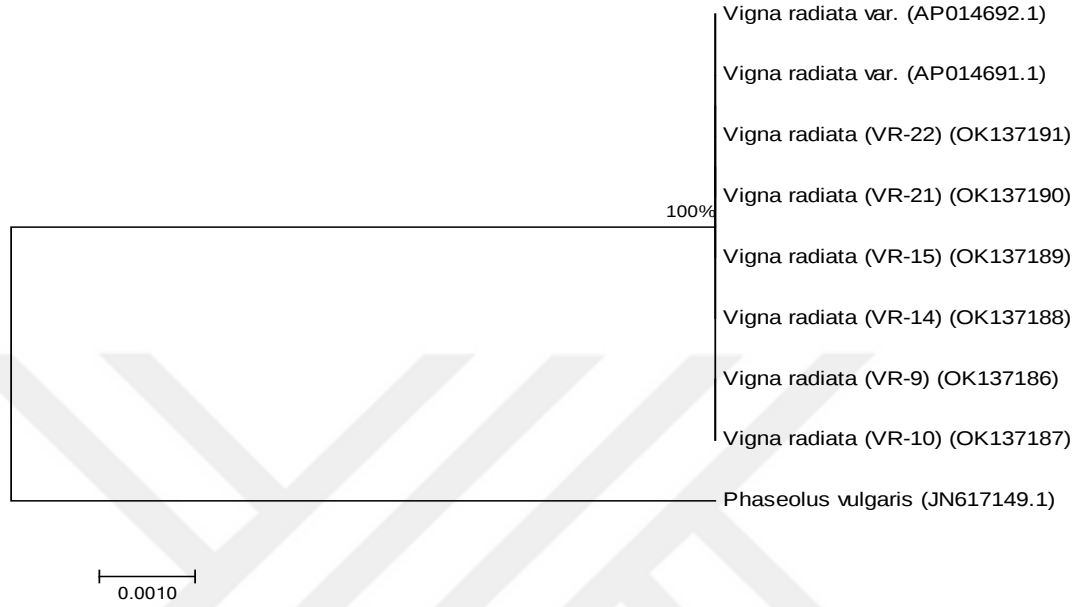
4.3 Sekans Verilerine Ait Bulgular

psbK-psbI bölgesinin sekansları FinchTV programı ile kalite analizi yapılarak ileri - geri diziler BioEdit programında birleştirilmiştir. Elde edilen sekanslar fasta formatına aktarılarak, MEGA7 ile hizalanarak dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4.13).



Şekil 4.13 *psbK-psbI* barkod bölgeleri için taksonların evrimsel ilişkileri

rpoC1 bölgesinin sekansları FinchTV genetik dizileme görüntüleme programı ile kalite analizi yapılmış ve ileri - geri diziler BioEdit programında birleştirilmiştir. Elde edilen sekanslar fasta formatına aktırılarak MEGA7 ile hizalanarak dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 4.14).



Şekil 4.14 *rpoC1* barkod bölgeleri için taksonların evrimsel ilişkileri

Fasta formatına aktarılan sekanslar NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanında BLAST yapılarak erişim numaraları elde edilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1 NCBI erişim numaraları

Kod	Tür Adı	NCBI Erişim Numarası	
		<i>psbK-psbI</i>	<i>rpoC1</i>
VR-9	<i>Vigna radiata</i>	OK137180	OK137186
VR-10	<i>Vigna radiata</i>	OK137181	OK137187
VR-14	<i>Vigna radiata</i>	OK137182	OK137188
VR-15	<i>Vigna radiata</i>	OK137183	OK137189
VR-21	<i>Vigna radiata</i>	OK137184	OK137190
VR-22	<i>Vigna radiata</i>	OK137185	OK137191

VR-15 (Gaziantep) ekotipi ön denemeler yapılırken kullanılmıştır. VR-9, VR-10, VR-14, VR-21 ve VR-22 ekotipleriyle benzer sonuçlar elde edilmesinden dolayı NCBI veri tabanına kaydı yapılarak erişim numarası tahsis edilmiştir.



BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında RAPD ve ISSR markırlarının Gaziantep, Kahramanmaraş, Adıyaman, Malatya ve Ankara illerinden temin edilen *Vigna radiata* tohumlarının monomorfiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Bunun aksine Kar (2017), gerçekleştirdiği çalışma kapsamında yabancı *Cicer spp.* ve *Cicer arietinum* için kullanılan aynı markırların polimorfizm gösterdiğini bildirmiştir.

Gerçekleştirilen bu çalışma moleküler açıdan Türkiye’de yapılan ilk çalışma olma niteliği taşımaktadır.

Güney ve Güneydoğu Asya’da Mungbean - maş fasulyesi (*Vigna radiata*), *Vigna* grubunun, ekonomik olarak en önemli tarımsal ürünlerinden birisidir (Mehandi vd., 2019). Diğer taraftan, Doğu Afrika, Batı Afrika, Orta Asya ve Güney Amerika’da üretimi hızla artmaktadır (AVRDC, 2022). Maş fasulyesi, yaklaşık %55 - 65 oranında karbonhidrat içeriği (630 g/kg kuru ağırlığa eşittir) ve protein, yağ, vitamin ve mineraller açısından zengin, yüksek besin değerlerine sahip bir baklagildir. Toplam kuru ağırlığın yaklaşık %20 - %50’si proteinden oluşur ve aralarında globulin (%60) ve albümin (%25) birincil depolama proteinleridir. Maş fasulyesi, önemli bir diyet protein kaynağı olarak da kabul edilmektedir. Bu proteinlerin proteolitik bölünmesi ilk çimlenme sırasında daha da yüksektir. Maş fasulyesi karbonhidratlarının kolay sindiriminden dolayı insanlarda diğer baklagil türlerine kıyasla daha az sindirim sorunlarına neden olmaktadır. Ayrıca, maş fasulyesinin hem tohumları hem de filizleri diğer baklagillere göre daha düşük kaloriye sahiptir, bu da onu obez ve diyabetik bireyler için daha çekici kılmakta ve onun diyet programlarına eklenmesinin önünü açmaktadır (Khajudparn ve Tantasawat, 2011).

Ülkemizde maş fasulyesi üretiminin Akdeniz, Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgesi’nde yapıldığı (Dalkılıç ve Önder, 2011; Karaman ve Kaya, 2020), özellikle Gaziantep, Diyarbakır, Adıyaman, Batman, Şırnak, Malatya illerinde yerel olarak

tarımının yapıldığı bildirilmiştir. Dolayısıyla, maş fasulyesi üretimi konusunda ülkemizde istatistiksel veriler bulunmamaktadır (Dalkılıç ve Önder, 2011).

Maş fasulyesi, sıcaklık ve kuraklık stresine toleranslı olduğundan, ayrıca insan beslenmesi için iyi bir protein ve demir kaynağı olduğundan dolayı, hızla artmakta olan nüfusun beslenmesinde büyük bir potansiyele sahiptir (AVRDC, 2022). Bu nedenle, Maş fasulyesi gen havuzunun gelecek vaat eden veya üstün çeşitlerin geliştirilmesinde en iyi şekilde kullanılması ve yararlı genetik çeşitliliğin tanımlanması için, ürünün gen havuzlarını oluşturan çeşitli germplazm varlıklarının ve koleksiyonlarının kapsamlı olarak karakterize edilmesi gerekmektedir (Lavanya vd., 2008). Bu kapsamda birçok araştırmacı tarafından, yabani veya yerel çeşitleri içeren gen kaynaklarının genetik çeşitliliğini incelemek ve etkili bir gen havuzu oluşturmak amacıyla RAPD ve ISSR gibi moleküler markırlar kullanmışlardır (Lavanya vd., 2008; Khajudparn vd., 2011; Singh vd., 2014; Tabasum vd., 2020). Diğer taraftan, *V. radiata* ekotipleri arasındaki filogenetik ilişkiyi ortaya koymak amacı ile, tür içi ve türler arası teşhis için DNA barkodlama çalışmaları yapılmıştır. psbD-trnT, petA-psbJ, , trnT-trn, trnT-trn, EatpB-rbcL, matK psbA-trnH, DNA dizilerine dayalı barkodlama çalışmaları literatürde yer almaktadır (Saini ve Jawali, 2009; Javadi vd., 2011; Takahaski vd., 2016; Mayada vd., 2022). Buradan yola çıkarak bu çalışmada, *V. radiata* ekotipleri arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek için DNA bazlı olan RAPD ve ISSR moleküler markırları kullanılmış ve *V. radiata* ekotiplerinin arasındaki var olan filogenetik ilişkiyi de ortaya koymak, tür içi ve türler arası teşhisinde DNA barkodlama amacıyla, psbK-psbI (photosystem II reaction center protein K ve photosystem II reaction center protein I), rpoC1(RNA polymerase beta subunit 1), ITS (Internal Transcribed Spacer) ve IGS (Inter Genic Spacer) DNA barkod bölgeleri için tasarlanan primerler kullanılmıştır.

Çalışma kapsamında rastgele seçimden dolayı Gaziantep, Adıyaman, Malatya ve Ankara olmak üzere 4 ilden *V. radiata* ekotiplerinin genetik çeşitliliği tespit etmek için, 15 adet RAPD, 11 adet ISSR markırı test edilmiştir. RAPD için 4, ISSR için 3 primer bant profili oluşturmuştur. Çalışma hassasiyeti için gerekli optimizasyonların yapıldığı *V. radiata* ekotiplerinde monomorfik bant profili elde edilmiş olup, ayırım sağlamada sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan çalışmamızdan farklı olarak, Lavanya vd. (2008), hem kültürel hem de yerel ırkları içeren 54 maş fasulyesi çeşidi arasındaki çeşitliliği belirlemek adına RAPD profillerinden yararlanmışlardır. RAPD

profilleri için taranan 40 primerden 7 primerin bant profili oluşturduğunu belirlemiş ve Jaccard'ın benzerlik katsayılarının 0 ila 0,48 arasında bulunması için yapılan analiz sonucunun, moleküler düzeyde geniş bir genetik çeşitliliğin varlığına işaret ettiğini bildirmişlerdir. Dolayısıyla, RAPD profillerinin, maş fasulyesi çeşitlerinin aralarındaki morfolojik özellik farklılıklarını yansıtabilecek ön genetik çeşitlilik değerlendirmesi için kolay ve basit bir teknik sağladığını da belirtmişlerdir. Benzer olarak, Sonia vd. (2012) tarafından Bangladeş'te 13 maş fasulyesi çeşidi arasında genetik çeşitliliği belirlemek için, 20 rastgele primerin kullanıldığını ve 10 primerde %100 polimorfik RAPD profillerinin elde edildiğini belirtmişlerdir. Singh vd. (2014), 35 *Vigna* genotipi arasındaki genetik çeşitlilikte ISSR (17 adet) ve RAPD (25 adet) markırlarını kullanarak analizler gerçekleştirmişlerdir. Buna göre, ISSR markırı heterozigotluk açısından kıyaslandığında, belirteç indeksinin daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışma sonucunda *Vigna* spp.'nin farklı kültürlenmiş ve yabani genotipler arasındaki türler arası ve tür içi çeşitliliğinin, tür ilişkileri düzeyini belirlemede başarılı bir değerlendirme olduğunu ortaya koymuşlardır.

Gaziantep, Adıyaman, Malatya ve Ankara illerinden temin edilen ve morfolojik olarak ayrımı sağlanamayan *Vigna* ekotiplerinin tür teşhisi ve filogenetik analizleri için DNA barkodlama bölgelerinden, amplifiye edilen *psbK-psbI* ve *rpoC1* barkod bölgeleri kullanılmış ve 2 barkod bölgesi için de ekotipler *Vigna radiata* L. olarak tanımlanmıştır. Filogenetik analiz sonucu elde edilen verilere göre, bu 2 barkod bölgesi de *V. radiata* L. türü için türler arası net bir ayrım sağlamada oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. Ancak *V. radiata* ekotipleri arasında net ayrım sağlamada sınırlı olduğu sonucuna varılmıştır. Buna rağmen, Raveenadar vd. (2018) tarafından, *Vigna* cinsi alt türler ve türler arasındaki filogenetik ilişkiyi belirlemek amacıyla *matK*, *rbcL*, *ITS2* ve *psbA-trnH* DNA barkod bölgeleri ile çalışılmış ve *ITS2* bölgesinin tür ayrımı için en ideal bölge olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, Mayada vd. (2022), *rbcL* gen bölgesinin *V. radiata*, *Phaseolus vulgaris* ve *V. unguiculata* ile ilişkili olduğunu ve benzer türler arasında ayrım gücünün zayıf olduğunu bildirmişlerdir.

Saini ve Jawali (2009), 5S rRNA gen bölgesinin evrimini *Vigna* alt cinsi *Ceratotropis*'e ait 10 tür arasında incelemiş, *V. radiata* dışında *Vigna* türleri arasında karakterize edilemediğini raporlamışlardır. 5S IGS bölgesinin, *Vigna* türlerini değerlendirmek için yeterince polimorfik bir bölge olduğu bildirilirken bu tez

alışmasında 5S IGS barkod bölgesi ile yapılan PZR alışması sonucunda amplifikasyon gerekleşmediğı rapor edilmiştir.



BÖLÜM 6

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma kapsamında Gaziantep, Adıyaman, Malatya, Ankara ve Kahramanmaraş olmak üzere 5 ilden ve bu illere bağlı ilçelerden 27 *Vigna radiata* ekotipleri temin edilmiştir. Bu 27 ekotiplerin genomik DNA izolasyonları yapıldıktan sonra VR-9, VR-10, VR-14, VR-21 ve VR-22 olmak üzere her bölgeden birer adet olacak biçimde 5 adet ekotip referans olarak seçilerek primer testlemelerinde kullanılmıştır. Morfolojik olarak ayrımı yapılamayan ekotiplerin genetik çeşitliliğini tespit etmek amacı ile DNA bazlı moleküler markır sistemlerinin kullanıldığı çalışma kapsamında, 15 adet RAPD, 11 adet ISSR markırı testlenerek, RAPD için UBC 717, UBC 751, UBC 771 ve UBC 790 olmak üzere toplamda 4 primerin bant profili oluşturduğu, ISSR için UBC 817, UBC 826, UBC 840 olmak üzere toplamda 3 primerin bant profili oluşturduğu tespit edilmiştir. Çalışma hassasiyeti için PZR optimizasyonu yapılan *V. radiata* ekotipleri monomorfik bant profili vermiş olup, *Vigna* türleri arasında ayrım sağlamada başarılı olduğu tespit edilmiştir. Bunu yanında ekotipler arasında ise ayrım sağlamada sınırlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Gaziantep, Kahramanmaraş, Adıyaman, Malatya ve Ankara illerinden temin edilen ve morfolojik olarak ayrımı sağlanamayan *Vigna* ekotiplerinde DNA barkodlama yapılması amacıyla *rpoC1*, *psbK-psbI* ve IGS bölgesi primerleri kullanılmıştır. Böylelikle elde edilecek bilgiler ışığında tür teşhisi yapılmış ve teşhis sonuçlarına bağlı olarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur. Bu kapsamda çalışmada kullanılan *rpoC1*, *psbK-psbI* barkod bölgelerinin amplifiye olurken; IGS bölgesinde herhangi bir amplifikasyonun olmadığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; amplifiye olan 2 barkod bölgesi için de ekotipler kendi içerisinde tek bir tür olarak ayrılmış ve *Vigna radiata* L. olarak tanımlanmıştır. Filogenetik ağaç verilerine göre, bu iki barkod bölgesi *V. radiata* L. için başarılı bir ayrım sağlarken *Vigna* ekotipleri arasında net bir ayrım sağlamadığı sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Adak, M. S., Kayan, N., Benlioğlu, B. (2015). Yemeklik Tane Baklagiller Üretiminde Değişimler ve Yeni Arayışlar, *Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi*. 387-400.
- Afzal, M. A., Haque, M. M., Shanmugasundaram, S. (2004). Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis of Selected Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] Cultivars. *Asian Journal of Plant Sciences*. **3**(1), 20-24.
- Ahmed, N., Abbasi, M. W., Shaukat, S. S., Zaki, M. J. (2009). Physiological Changes in Leaves of Mungbean Plants Infected with *Meloidogyne javanica*. *Phytopathologia Mediterranea*, **48**(2), 262-268.
- Akgündüz, M., (2016). *Maş fasulyesi (Vigna radiata (L.) Wilczek) genotiplerinin kuraklık hassasiyetlerinin belirlenmesi* (Tez No. 425789) [Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Álvarez, I. J. F. W., Wendel, J. F. (2003). Ribosomal ITS Sequences and Plant Phylogenetic Inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. **29**(3), 417-434.
- AVRDC (Asya Sebze Araştırma ve Geliştirme Merkezi), [https://avrdc.org/intl-mungbean-network/\(2022\)](https://avrdc.org/intl-mungbean-network/(2022))
- Baydemir, F. (2013). *Farklı Sıra Aralığı ve Fosfor Dozlarının Maş Fasulyesi'nde [Vigna Radiata (L.) Wilczek] Verim ve Bazı Verim Unsurları Üzerine Etkisi*. (Tez No. 346430) [Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Betal, S., Chowdhury, P. R., Kundu, S., Raychaudhuri, S. S. (2004). Estimation of Genetic Variability of *Vigna radiata* Cultivars by RAPD Analysis. *Biologia Plantarum*, **48**(2), 205-209.
- Bhardwaj, H. L., Hamama, A. A. (2015). Cultivar, Planting Date, and Row Spacing Effects on Mungbean Performance in Virginia. *HortScience*, **50**(9), 1309-1311.
- Bhuyan, S. I., Hossain, M. S., Islam, M. M., Begum, S. N., Zannat, U. (2014). Molecular Assessment of Genetic Diversity and Relationship in Selected Mungbean Germplasms. *Biotechnology*, **13**(3), 126-134.
- Bisht, I. S., Singh, M. (2013). *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement: 10*. Asian Vigna.
- Boukid, F., Vittadini, E., Lusuadi, F., Ganino, T., Carini, E., Morreale, F., Pellegrini, N. (2019). Does Cell Wall Integrity in Legumes Flours Modulate Physiochemical Quality and in Vitro Starch Hydrolysis of Gluten-Free Bread?. *Journal of Functional Foods*, **59**, 110-118.
- Bozoğlu, H., & Topal, N. (2005). Ülkemiz İçin Yeni Yemeklik Tane Baklagil Türleri. *6. Tarla Bitkileri Kongresi*, 5-9.

- Breria, C. M., Hsieh, C. H., Yen, T. B., Yen, J. Y., Noble, T. J., Schafleitner, R. (2020). A SNP-Based Genome-Wide Association Study to Mine Genetic Loci Associated to Salinity Tolerance in Mungbean (*Vigna radiata* L.). *Genes*, **11(7)**, 759.
- Canci, H., Toker, C. (2014). Yield Components in Mung Bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. *Turkish Journal of Field Crops*, **19(2)**, 258-261.
- CBOL Plant Working Group. (2009). A DNA Barcode for Land Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 12794-12797.
- Chase, M. W., Salamin, N., Wilkinson, M., Dunwell, J. M., Kesanakurthi, R. P., Haidar, N., Savolainen, V. (2005). Land Plants and DNA Barcodes: Short-Term and Long-Term Goals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **360(1462)**, 1889-1895.
- Chattopadhyay, K., Bhattacharya, S., Mandal, N., Sarkar, H. K. (2008). PCR-Based Characterization of Mung Bean (*Vigna radiata*) Genotypes from Indian Subcontinent at Intra-and Inter-Specific Level. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, **17(2)**, 141-148.
- Chowdhury, M. A., Vandenberg, B., Warkentin, T. (2002). Cultivar Identification and Genetic Relationship Among Selected Breeding Lines and Cultivars in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica*, **127(3)**, 317-325.
- Dahiya, P. K., Linnemann, A. R., Van Boekel, M. A. J. S., Khetarpaul, N., Grewal, R. B., Nout, M. J. R. (2015). Mung Bean: Technological and Nutritional Potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **55(5)**, 670-688.
- Dalkılıç, M. (2010). *Konya ekolojik şartlarında farklı zamanlarda ekilen maş fasulyesi [(Vigna radiata L.) Wilczek] genotiplerinin verim ve bazı tarımsal özelliklerinin belirlenmesi*. (Tez No. 259304) [Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Demirel, Ö., Akveç, O., Can, C. (2022). A Current Overview of Plant Biotechnology. *Euroasia Journal of Mathematics, Engineering, Natural Medical Sciences*, **9(20)**, 110-149.
- Doyle, J. J. (1990). Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus*, **12**, 13-15.
- Doyle, J. J. (1994). Phylogeny of the Legume Family: An Approach to Understanding the Origins of Nodulation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 325-349.
- Du, S. K., Jiang, H., Yu, X., Jane, J. L. (2014). Physicochemical and Functional Properties of Whole Legume Flour. *LWT-Food Science and Technology*, **55(1)**, 308-313.
- Dülgerbaki, T. (2011). *Maş fasulyesi (Phaseolus aureus L.)'nde farklı çinko uygulamalarının verim ve verim unsurlarına etkileri*. (Tez No. 283805) [Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Fazekas, A. J., Burgess, K. S., Kesanakurti, P. R., Graham, S. W., Newmaster, S. G., Husband, B. C., Percy, D. M., Hajibabaei, M., Barrett, S. C. (2008). Multiple Multilocus DNA Barcodes from the Plastid Genome Discriminate Plant Species Equally Well. *PloS One*, **3(7)**, e2802.

- Gebeloğlu, N., Yazgan, A. (1992a). Mungo Fasülyesi (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)'in Tokat Ekolojik Koşullarına Adaptasyonu Üzerinde Araştırmalar-I (Bitkisel Özellikler). *CÜ Tokat Ziraat Fakültesi Dergisi*, **9**, 65-75.
- Gebeloğlu, N., Yazgan, A. (1992b). Mungo Fasülyesi (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)'in Tokat Ekolojik Koşullarına Adaptasyonu Üzerinde Araştırmalar-II (Verim Özellikleri). *CÜ Tokat Ziraat Fakültesi Dergisi*, **9**, 76-85.
- Goel, S., Raina, S. N., Ogihara, Y. (2002). Molecular Evolution and Phylogenetic Implications of Internal Transcribed Spacer Sequences of Nuclear Ribosomal DNA in the *Phaseolus–Vigna* Complex. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **22(1)**, 1-19.
- Gölgül, İ. (2019). Farklı sulama suyu seviyelerinin maş fasulyesi verimi üzerine etkisi ve bitki su stres indeksinin sulama programlamasında kullanılma olanakları. (Tez No. 571253) [Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Güneş, H., Demirel, Ö., Calayır, O., Demir, S., Can, C. (2022). Innovative Technologies in Sustainable Agriculture. 8th International Agriculture Congress; 2022 October 26; Ankara, Turkey. ISBN: 978-605-136-590-9.
- Herranz, B., Canet, W., Jiménez, M. J., Fuentes, R., Alvarez, M. D. (2016). Characterisation of Chickpea Flour-Based Gluten-Free Batters and Muffins with Added Biopolymers: Rheological, Physical and Sensory Properties. *International Journal of Food Science & Technology*, **51(5)**, 1087-1098.
- Javadi, F., Tun, Y. T., Kawase, M., Guan, K., Yamaguchi, H. (2011). Molecular Phylogeny of the Subgenus *Ceratotropis* (Genus *Vigna*, Leguminosae) Reveals Three Eco-Geographical Groups and Late Pliocene-Pleistocene Diversification: Evidence from Four Plastid DNA Region Sequences. *Annals of Botany*, **108(2)**, 367-380.
- Karaman, R., Kaya, M. (2020). Characterization in Terms of Phenological Properties of Mung Bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] Genotypes/Local Populations in Isparta Conditions. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, **8(11)**, 2307-2312.
- Khajudparn, P., Tantasawat, P. (2011). Relationships and Variability of Agronomic and Physiological Characters in Mungbean. *African journal of Biotechnology*, **10(49)**, 9992-10000.
- Kittipongpatana, O. S., Sirithunyalug, J., Laenger, R. (2006). Preparation and Physicochemical Properties of Sodium Carboxymethyl Mungbean Starches. *Carbohydrate Polymers*, **63(1)**, 105-112.
- Kress, W. J., Erickson, D. L. (2007). A Two-Locus Global DNA Barcode for Land Plants: The Coding RbcL Gene Complements The Non-Coding trnH-psbA Spacer Region. *PLoS One*, **2(6)**, e508.
- Kress, W. J., Wurdack, K. J., Zimmer, E. A., Weigt, L. A., Janzen, D. H. (2005). Use of DNA Barcodes to Identify Flowering Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **102(23)**, 8369-8374.
- Kumbhar, D. D.; Pharande, K. H., Sonar, K. R. (1995): Relationship of Soil N Fractions and Yield of Green Gram in Vertisols. *Journal of Maharashtra Agricultural Universities*, **20(2)**, 278-280.

- Lahaye, R., Van der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., Maurin, O., Sylvie Duthoit, S., Barraclough, T. G., Savolainen, V. (2008). DNA Barcoding the Floras of Biodiversity Hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **105**(8), 2923-2928.
- Lakhanpaul, S., Chadha, S., Bhat, K. V. (2000). Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis in Indian Mung Bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) Cultivars. *Genetica*, **109**(3), 227-234.
- Lavanya, G. R., Srivastava, J., Ranade, S. A. (2008). Molecular Assessment of Genetic Diversity in Mung Bean Germplasm. *Journal of Genetics*, **87**(1), 65-74.
- Lee, J. H., Jeon, J. K., Kim, S. G., Kim, S. H., Chun, T., Imm, J. Y. (2011). Comparative Analyses of Total Phenols, Flavonoids, Saponins and Antioxidant Activity in Yellow Soy Beans and Mung Beans. *International Journal of Food Science & Technology*, **46**(12), 2513-2519.
- Liu, B. H. (2017). Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL Analysis. *CRC press*.
- Mangave, S. S., Gokhale, N. B., Kuchekar, C. B., Sawardekar, S. V., Devmore, J. P. (2020). Assessment of Genetic Diversity and to Study the Relationship in Selected Green Gram Germplasm by ISSR Marker. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, **9**(2), 2752-2760.
- Mayada, Y. E., El-Akkad, T. A., Agez, A., Refaat, M. H., Abd-El-Sabour, M. S. (2022). DNA-Barcoding and Identification for Some Common Bean and Tepary Bean Genotypes Using rbcL Gene. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, **60**(1), 119-126.
- Mehandi, S., Quatadah, S., Mishra, S. P., Singh, I., Praveen, N., Dwivedi, N. (2019). Mungbean (*Vigna radiata* L. wilczek): retrospect and prospects. In *Legume Crops-Characterization and Breeding for Improved Food Security* (pp. 49-66). London: IntechOpen.
- Nair, R., Schreinemachers, P. (2020). Global Status and Economic Importance of Mungbean. *The mungbean genome*, 1-8.
- Nair, R. M., Thavarajah, D., Thavarajah, P., Giri, R. R., Ledesma, D., Yang, R. Y., Hanson, P., Easdown, W., Hughes, J. D. A., Keatinge, J. D. H. (2015). Mineral and Phenolic Concentrations of Mungbean [*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek var. *radiata*] Grown in Semi-Arid Tropical India. *Journal of Food Composition and Analysis*, **39**, 23-32.
- Nair, R. M., Yang, R. Y., Easdown, W. J., Thavarajah, D., Thavarajah, P., Hughes, J. D. A., Keatinge, J. D. H. (2013). Biofortification of Mungbean (*Vigna radiata*) as a Whole Food to Enhance Human Health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **93**(8), 1805-1813.
- Nath, A., Maloo, S. R., Bharti, B., Dubey, R. B., Verma, R. (2018). Combining Ability Analysis in Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. *Legume Research*, **41**(4), 519-525.
- Oad, F. C., Shah, A. N., Jamro, G. H., Ghaloo, S. H. (2003). Phosphorus and Potassium Requirements of Mungbean (*Vigna radiata*). *Pak. J. of Appl. Sci*, **3**(6), 428-431.

- Paran, I., Michelmore, R. W. (1993). Development of Reliable PCR-Based Markers Linked to Downy Mildew Resistance Genes in Lettuce. *Theoretical and Applied Genetics*, **85**(8), 985-993.
- Pekşen, E., Toker, C., Ceylan, F., Tariq, A., Farooq, M. (2015). Determination of Promising High Yielded Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) Genotypes Under Middle Black Sea Region of Turkey. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, **30**(2), 169-175.
- Raveenadar, S., Lee, G. A., Lee, J. R., Lee, K. J., Lee, S. Y., Cho, G. T., Ma, K. H., Chung, J. W. (2018). DNA Barcodes for the Assessment of Phylogenetic Relationships Based on CpDNA and NrDNA Regions in *Vigna* species. *Plant Breeding and Biotechnology*, **6**(3), 285-292.
- Saini, A., Jawali, N. (2009). Molecular Evolution of 5S rDNA Region in *Vigna* Subgenus *Ceratotropis* and Its Phylogenetic Implications. *Plant Systematics and Evolution*, **280**(3), 187-206.
- Sandhu, K. S., Lim, S. T. (2008). Digestibility of Legume Starches as Influenced by Their Physical and Structural Properties. *Carbohydrate Polymers*, **71**(2), 245-252.
- Santalla, M., Power, J. B., Davey, M. R. (1998). Genetic Diversity in Mung Bean Germplasm Revealed by RAPD Markers. *Plant Breeding*, **117**(5), 473-478.
- Sao, M. K., Nair, S. K., Verulkar, S. B., Saxena, R. R., Nanda, H. C. (2015). Molecular Profiling and Genetic Diversity of Mungbean (*Vigna radiata* L.) Genotypes Using ISSR and SSR Markers. *Indian J. Agric. Res.*, **48**(1), 373-376.
- Sęczyk, Ł., Świeca, M., Gawlik-Dziki, U. (2016). Effect of Carob (*Ceratonia siliqua* L.) Flour on the Antioxidant Potential, Nutritional Quality, and Sensory Characteristics of Fortified Durum Wheat Pasta. *Food Chemistry*, **194**, 637-642.
- Singh, A., Dikshit, H. K., Jain, N., Singh, D., Yadav, R. N. (2014). Efficiency of SSR, ISSR and RAPD Markers in Molecular Characterization of Mungbean and Other *Vigna* Species. *Indian Journal of Biotechnology*, **13**(1), 81-88.
- Sony, S. K., Habib, M. A., Islam, M. N. (2012). Genetic Diversity Analysis of Thirteen Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) Cultivars Using RAPD Markers. *Bangladesh Journal of Botany*, **41**(2), 169-175.
- Tabasum, A., Hameed, A., Asghar, M. J. (2020). Exploring the Genetic Divergence in Mungbean (*Vigna radiata* L.) Germplasm Using Multiple Molecular Marker Systems. *Molecular Biotechnology*, **62**(11), 547-556.
- Takahashi, Y., Somta, P., Muto, C., Iseki, K., Naito, K., Pandiyan, M., Natesan, S., Tomooka, N. (2016). Novel Genetic Resources in the Genus *Vigna* Unveiled from Gene Bank Accessions. *PLoS One*, **11**(1), e0147568.
- Tang, D., Dong, Y., Ren, H., Li, L., He, C. (2014). A Review of Phytochemistry, Metabolite Changes, and Medicinal Uses of the Common Food Mung Bean and Its Sprouts (*Vigna radiata*). *Chemistry Central Journal*, **8**(1), 1-9.
- Tangphatsornruang, S., Somta, P., Uthaisaisanwong, P., Chanprasert, J., Sangsrakru, D., Seehalak, W., Sommanas, W., Tragoonrung, S., Srinives, P. (2009). Characterization of Microsatellites and Gene Contents from Genome Shotgun

- Sequences of Mungbean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *BMC Plant Biology*, **9(1)**, 1-12.
- Tangphatsornruang, S., Sangsrakru, D., Chanprasert, J., Uthaisaisanwong, P., Yoocha, T., Jomchai, N., Tragoonrung, S. (2010). The Chloroplast Genome Sequence of Mungbean (*Vigna radiata*) Determined by High-Throughput Pyrosequencing: Structural Organization and Phylogenetic Relationships. *DNA Research*, **17(1)**, 11-22.
- Thormann, C. E., Ferreira, M. E., Camargo, L. E. A., Tivang, J. G., Osborn, T. C. (1994). Comparison of RFLP and RAPD Markers to Estimating Genetic Relationships Within and Among Cruciferous Species. *Theoretical and Applied Genetics*, **88(8)**, 973-980.
- Tian, Q., Zhang, W., Li, Q., Yan, T., Li, N., Dai, S., Pu, Y., Ding, H. (2017). Research Progress of Quality Characteristics and Comprehensive Utilization of Mung Beans. *Agricultural Science & Technology*, **18(1)**, 127.
- Toker, C., Çancı, H., Çağırman, M. İ. (2002). Evaluation for Agronomic, Morphologic and Phenologic Characters of Mung Bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] Genotypes in the Lowland of the West Mediter. *Turkish Journal of Field Crops*, **7(2)**, 78-85.
- Turgut, A. F., (1997). *Tokat (Kazova) 'da farklı ekim sıklıklarının mungo fasulyesinin (Vigna radiata (L.) wilczek) verim ve bazı argonomik özellikleri üzerine etkisi.* (Tez No. 65974) [Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Türkay, C., Karaman, R. (2021). Maş Fasulyesi Genotiplerinde Farklı Ekim Derinliklerinin Çimlenme ve Bazı Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, **36(1)**, 104-112.
- Vuylsteke, M., Peleman, J. D., Van Eijk, M. J. (2007). AFLP-Based Transcript Profiling (cDNA-AFLP) for Genome-Wide Expression Analysis. *Nature Protocols*, **2(6)**, 1399-1413.
- Weber, J. L., May, P. E. (1989). Abundant Class of Human DNA Polymorphisms Which Can Be Typed Using the Polymerase Chain Reaction. *American Journal of Human Genetics*, **44(3)**, 388.
- Williams, J. G., Kubelik, A. R., Livak, K. J., Rafalski, J. A., Tingey, S. V. (1990). DNA Polymorphisms Amplified by Arbitrary Primers Are Useful As Genetic Markers. *Nucleic Acids Research*, **18(22)**, 6531-6535.
- Yi-Shen, Z., Shuai, S., FitzGerald, R. (2018). Mung Bean Proteins and Peptides: Nutritional, Functional and Bioactive Properties. *Food & Nutrition Research*, **62**.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Labuda, D. (1994). Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)-Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, **20(2)**, 176-183.

ÖZGEÇMİŞ

Ad - Soyad : Meral DEMRAL

İş Deneyimi

Haziran 2017 - Temmuz 2017 : Medisec Tıbbi Cihaz Kalite Kontrol Mühendisi

Şubat 2018 - Mart 2018 : Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Stajyer

Eğitim Bilgileri

2014 - 2019 : Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Lisans

2019 - 2023 : Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans

Seminerler ve Kurslar

2014 : ISO 18001 OHSAS İş Sağlığı ve Güvenliği Sistemi Eğitimi, Takım Çalışması ve Motivasyon Eğitimi, ISO 9001: 2008 Kalite Yönetim Sistemi, ISO 14001 Çevre Yönetim Sistemi, ISO 22000 HACCP Gıda Güvenliği ve Yönetim Sistemi Eğitimi, ISO 9001: 2008 İç Tetkitchi Eğitimi, Liderlik ve Girişimcilik Eğitimi, GMP (Good Manufacturing Practices), GLP (Good Laboratory Practices), GHP (Good Hygiene Practices)

2017 : Genel İş Sağlığı ve Güvenliği Eğitimi

2019 : Yabancı Dil Eğitimi

Yabancı Dil

İngilizce : Yazma - Okuma İyi, Konuşma İyi.

Yayınlar - Yapılan Atıflar

Fusarium wilting facrot in lentils *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* biological control of lentis (01.04.2019) - GAZİANTEP 1. Uluslararası Sürdürüleilir Tarım ve Teknoloji Kongresi

Referanslar

Canan CAN : Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü, Profesör Doktor

Feyza Nur KAFADAR : Gaziantep Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü, Doktor Öğretim Üyesi

