

**FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) ISLAH  
PROGRAMINDA GENİTÖR OLARAK  
KULLANILABİLECEK GENOTİPLERİN VE BAZI  
TİCARİ ÇEŞİTLERİN SSR VE SNP ANALİZLERİ  
KULLANILARAK GENETİK  
KARAKTERİZASYONU**

**ÖMER AVİCAN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. B. Banu BİLGİN**

**2019**

**T.C.**  
**TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) ISLAH PROGRAMINDA GENİTÖR OLARAK  
KULLANILABİLECEK GENOTİPLERİN VE BAZI TİCARİ ÇEŞİTLERİN SSR VE  
SNP ANALİZLERİ KULLANILARAK GENETİK KARAKTERİZASYONU**

**ÖMER AVİCAN**

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN**

**TEKİRDAĞ-2019**

**Her hakkı saklıdır.**

Bu tez çalışması Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **NKUBAP.03.YL.18.171** numaralı proje ile desteklenmiştir.

Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN danışmanlığında, Ömer AVİCAN tarafından hazırlanan “Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Islah Programında Genitör Olarak Kullanılabilecek Genotiplerin ve Bazı Ticari Çeşitlerin SSR ve SNP Analizleri Kullanılarak Genetik Karakterizasyonu” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN (Danışman)

*İmza:*

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Süray PEHLİVANOĞLU

*İmza:*

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Sheida DANESHVAR ROYANDAZAGH

*İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Bahar UYMAZ

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) ISLAH PROGRAMINDA GENİTÖR OLARAK  
KULLANILABİLECEK GENOTİPLERİN VE BAZI TİCARİ ÇEŞİTLERİN SSR VE SNP  
ANALİZLERİ KULLANILARAK GENETİK KARAKTERİZASYONU

ÖMER AVİCAN

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN

Fasulye Leguminosae familyasından *Phaseolus* cinsine ait bir türdür. Fasulye içerdiği protein, A ile C vitamini ve mineral yönünden zengin olması nedeniyle ekonomik öneme sahiptir. Fasulye Dünya genelinde yetiştirilen baklagiller içerisinde en fazla ekim alanına sahip olan baklagildir. Ülkemizdeki fasulye genotip veya populasyonlarının genetik çeşitliliğinin tam olarak ortaya konması gen kaynaklarımız açısından önemli bir yere sahiptir. Bu tez çalışması kapsamında Dünya’da ve Türkiye’nin farklı bölgelerinde ekimi gerçekleştirilen ticari fasulye çeşitlerine ve ıslah materyallerine ait toplamda 94 genotip kullanılmıştır. 10 SSR lokusu (BM141, BM143, BM152, BM160, BM172, GATS91, PV-at002, PV-ctt001, PV-ag001 ve PV-at007) ve 73 polimorfik SNP primeri kullanılarak çeşit ve ıslah hatlarının genetik yapısı incelenmiştir. Çalışmada kullanılan SSR lokuslarının tamamı polimorfik olarak saptanmıştır. Analiz edilen 94 örnekte 10 SSR lokusu için toplam 89 allel saptanmıştır. SSR analizi sonucunda lokus başına düşen ortalama allel sayısı ( $N_a=8,9$ ), etkili allel sayısı ( $N_e=3,731$ ), Shannon Sabiti ( $I=1,468$ ), gözlenen heterozigotluk ( $H_o=0,023$ ) ve beklenen heterozigotluk ( $H_e=0,654$ ) hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda SSR verileri kullanılarak yapılan Bayesian temelli STRUCTURE analizi sonucuna göre 94 fasulye genotipi genetik olarak kendi arasında 3 ana gruba ayrılmıştır. Fasulye genotiplerinin SNP analizi sonucunda genetik benzerlik değerlerine göre elde edilen UPGMA dendrogramına göre 2 ana gruba ayrılmıştır. Elde edilen sonuçlar, çalışılan fasulye çeşitlerinin ve ıslah hatlarının genetik yapıları hakkında önemli bilgiler vermiştir. Bu çalışmanın ışığında elde edilen sonuçlar ile kendi gen kaynaklarımız kullanılarak yeni çeşitler geliştirmeye yönelik ıslah programlarının planlanması mümkün olacaktır.

**Anahtar kelimeler:** fasulye ıslahı, genetik çeşitlilik, *Phaseolus vulgaris*, SSR, SNP

2019, 82 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

GENETIC CHARACTERIZATION OF SOME COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)  
COMMERCIAL VARIETIES AND GENOTYPES USED AS A GENITOR IN BEAN  
BREEDING PROGRAMS WITH SSR AND SNP MARKERS

ÖMER AVİCAN

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Behiye Banu BİLGİN

Common bean is a species belonging to the *Phaseolus* genus of Leguminosae family. It has economic importance due to being rich in protein, vitamin A and C, and minerals. Among the legumes grown in the world, the bean is one of the most cultivated species of legumes. The determination of genetic diversity in bean genotypes or populations has an important role in terms of our genetic resources. In this study, 94 genotypes which were cultivated in different parts of the world and our country were investigated with SSR and SNP markers. 10 SSR locus (BM141, BM143, BM152, BM160, BM172, GATS91, PV-at002, PV-ctt001, PV-ag001, and PV-at007) and 73 polymorphic SNP primer were used for the determination of genetic structure in commercial cultivars and breeding lines. All of the SSR loci used in the study were found to be polymorphic. A total of 89 alleles were identified for 10 SSR loci in 94 samples analyzed. Mean number of alleles per locus ( $N_a=8.9$ ), effective allele number ( $N_e=3.731$ ), Shannon information index ( $I=1.468$ ), observed heterozygosity ( $H_o=0.023$ ) and expected heterozygosity ( $H_e=0.654$ ) were calculated based on SSR analysis. According to the results of Bayesian based STRUCTURE analysis using SSR data, 94 bean genotypes were genetically divided into three main groups. According to genetic similarity based UPGMA dendrogram obtained from SNP analysis, 94 bean genotypes were divided into 2 main groups. The obtained results provide important information about the genetic structures of the studied bean cultivars and breeding lines. With the significant results obtained from this thesis, it will be possible to develop breeding programs to develop new cultivars by using our own gene resources.

**Keywords:** bean breeding, genetic diversity, *Phaseolus vulgaris*, SSR, SNP

2019, 82 pages

<b>ÖZET .....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER.....</b>	<b>iii</b>
<b>ÇİZELGE DİZİNİ.....</b>	<b>v</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ.....</b>	<b>vi</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>	<b>vii</b>
<b>ÖNSÖZ .....</b>	<b>ix</b>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....</b>	<b>3</b>
2.1 Baklagiller Familyası ve Fasulye Hakkında Genel Bilgiler .....	3
2.2 Fasulyenin Taksonomisi ve Gen Kaynakları.....	5
2.3 Dünya’da Fasulye Gen Kaynaklarının Toplanması, Karakterizasyonu, Islahı ve Değerlendirilmesi Konusunda Yapılmış Çalışmalar .....	7
2.4 Türkiye’de Fasulye Gen Kaynaklarının Toplanması, Karakterizasyonu, Islahı ve Değerlendirilmesi Konusunda Yapılmış Çalışmalar .....	10
2.5 Fasulye Genetik Çeşitliliğini Belirlemede Dominant ve Kodominant Genetik Belirteç Kullanılarak Yapılan Çalışmalar .....	12
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>20</b>
3.1 Bitki Materyali.....	20
3.2 Çalışmada Kullanılan Fasulye Ticari Çeşit ve Islah Hatlarının Sera Koşullarında Yetiştirilmesi .....	23
3.3 Qiagen-DNA Ekstraksiyonu cihazı (QIAcube-HT) ile DNA İzolasyonu .....	23
3.3.1 DNA İzolasyon Kiti İçerisindeki Kimyasallar .....	23
3.3.2 DNA İzolasyonunda Kullanılan Diğer Kimyasallar.....	24
3.3.3 DNA İzolasyonunda Kullanılan Sarf Malzemeler.....	24
3.3.4 Qiagen-DNA Ekstraksiyonu Cihazı İçeriğine Dâhil Olan Malzemeler .....	24
3.3.5 Ön Hazırlık Aşaması .....	24
3.3.6 Cihaza Yerleştirme ve Çalıştırma Aşaması .....	25
3.3.7 Cihazı Kapatma Aşaması.....	26
3.4 Mikrosatellit (Basit Dizi Tekrarları-SSR) Lokuslarının Analizi .....	27
3.5 SSR Verilerinin İstatistiksel Analizi .....	42
3.6 SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) Markır Analizi.....	43

3.7 SNP Verilerinin İstatistiksel Analizi .....	44
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>45</b>
4.1 Mikrosatellit (SSR) Analizlerine Ait Bulgular .....	45
4.2 SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) Analizlerine Ait Bulgular .....	53
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>60</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>66</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>77</b>
EK-1 .....	77
EK-2 .....	81
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>82</b>



## ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 2.1. <i>P. vulgaris</i> 'in sistematikteki yeri.....	6
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan fasulye genotiplerinin kodlama sistemi .....	20
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan 94 fasulye genotipine ait bilgiler .....	21
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan SSR primerlerine ve M13 primerine ait dizi bilgileri.....	28
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan SSR primerleri için optimize edilmiş PCR koşulları.....	29
Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan M13 işaretli SSR primerleri için PCR döngüleri.....	29
Çizelge 3.6. SNP PCR işleminde bir örnek için kullanılan karışım içeriği ve miktarları ....	43
Çizelge 3.7. SNP işleminde uygulanan Real Time PCR analizi için reaksiyon basamakları, süresi, sıcaklıkları ve döngü sayıları .....	44
Çizelge 4.1. Fasulye genotiplerine ait genomik DNA'ların miktar ve kalite değerleri.....	46
Çizelge 4.2. Çalışmada analiz edilen 10 SSR lokusuna ait allellerin fasulye genotiplerindeki frekansları.....	48
Çizelge 4.3. Çalışmada kullanılan 10 SSR lokusuna ait genetik parametreler .....	49
Çizelge 4.4. Polimorfik SNP lokuslarında gözlenen allel grupları ve polimorfik bilgi içeriği (PIC) değerleri .....	56

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 3.1. Seradaki fasulye bitkilerinin genel görünümü .....	23
Şekil 3.2. DNA izolasyonu ve kullanılan bazı ekipmanlar .....	25
Şekil 3.3. Qiagen-DNA Ekstraksiyonu cihazı (QIacube-HT) .....	26
Şekil 3.4. Fasulye genotiplerine ait bazı örneklerin PCR ürünlerinin UV ışık altındaki jel görüntüsü (BM141, BM143, BM152, BM160 ve BM172).....	30
Şekil 3.5. Fasulye genotiplerine ait bazı örneklerin PCR ürünlerinin UV ışık altındaki jel görüntüsü (GATS91, PV-at002, PV-ctt001, PV-ag001 ve PV-at007) .....	31
Şekil 3.6. BM141 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	32
Şekil 3.7. BM143 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	33
Şekil 3.8. BM152 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	34
Şekil 3.9. BM160 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	35
Şekil 3.10. BM172 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	36
Şekil 3.11. GATS91 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	37
Şekil 3.12. PV-at002 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	38
Şekil 3.13. PV-ctt001 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	39
Şekil 3.14. PV-ag001 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	40
Şekil 3.15. PV- at007 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü .....	41
Şekil 4.1. STRUCTURE analizi için uygun K değerinin belirlendiği DeltaK grafiği .....	51
Şekil 4.2. SSR lokus verilerinin STRUCTURE analizi (K=3) sonucunda çalışılan fasulye genotiplerinin benzerliklere göre dağılımı .....	51
Şekil 4.3. Fasulye genotiplerinin SSR analizi sonucunda genetik benzerlik değerlerine göre elde edilen dendrogram .....	52
Şekil 4.4. Çalışmada kullanılan polimorfik SNP01 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü .....	54
Şekil 4.5. Çalışmada kullanılan polimorfik SNP03 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü .....	54
Şekil 4.6. Çalışmada kullanılan polimorfik SNP61 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü .....	54
Şekil 4.7. Çalışmada kullanılan polimorfik SNP51 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü .....	55
Şekil 4.8. Çalışmada kullanılan monomorfik SNP121 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü .....	55
Şekil 4.9. Fasulye genotiplerinin SNP analizi sonucunda genetik benzerlik değerlerine göre elde edilen dendrogram .....	57
Şekil 4.10. SNP analizi sonucunda fasulye genotiplerinin dahil olduğu grupların dendrogram üzerinde gösterimi .....	58
Şekil 4.11. Fasulye genotiplerinin SNP ve SSR analizi sonucunda genetik benzerlik değerlerine göre elde edilen dendrogram .....	59

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

cm	: Santimetre
da	: Dekar
dk	: Dakika
f	: Frekans
g	: Gram
G	: Guanin nükleotidi
kg	: Kilogram
m	: Metre
M	: Molarite
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
$\mu$ l	: Mikrolitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
n	: Tekrar sayısı
ng	: Nanogram
nM	: Nanomolar
pM	: Picomol
T	: Timin nükleotidi
U	: Ünite (Enzim birimi)
Volt	: Voltaj
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
$\pm$	: Standart hata

## **Kısaltmalar**

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism (Artırılmış Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi)
ark.	: arkadaşları
bç	: Base pair (Baz çifti)
dH <sub>2</sub> O	: Distile su
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	: Deoksi Nükleotid Tri Fosfat
FAM	: 6-carboxyfluorescein
He	: Beklenen heterozigotluk
Ho	: Gözlenen heterozigotluk
I	: Shannon sabiti
IBPGR	: Uluslararası Bitki Genetik Kaynakları Enstitüsü
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat (Basit Dizi Tekrarları Arası)
MgCl <sub>2</sub>	: Magnezyum klorür
N	: Örnek sayısı
Na	: Gözlenen allel sayısı
Ne	: Etkili allel sayısı
PCR	: Polimeraz Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PIC	: Polymorphic Information Content (Polimorfik Bilgi İçeriği)
<i>P. acutifolius</i>	: <i>Phaseolus acutifolius</i>
<i>P. coccineus</i>	: <i>Phaseolus coccineus</i>
<i>P. vulgaris</i>	: <i>Phaseolus vulgaris</i>
RAPD	: Random Amplification of Polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA)
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Gel Elektroforezi)
SNP	: Single Nükleotid Polimorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
SSR	: Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviyole ışığı
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean
vb.	: Ve benzeri

## ÖNSÖZ

Türkiye, sahip olduğu bitki gen kaynakları ve biyoçeşitlilik bakımından Dünya'daki zengin ülkeler arasında yer almaktadır. Anadolu birçok bitki türünün gen merkezidir. Bitki türlerinin doğal yayılış alanı olarak Anadolu önemli yere sahiptir. Dünya genelinde yetiştirilen baklagiller içerisinde en fazla ekim alanına sahip baklagil türlerinden bir tanesi fasulyedir. *Phaseolis vulgaris* L.'in sebze bahçelerinin vazgeçilmez türleri arasında yer almasının temel nedeni yetiştiriciliğinin kolay, pazar ve gıda değerlerinin yüksek olmasıdır.

Ülkemizde son yıllardaki fasulye tüketimi incelendiğinde kuru fasulye tüketimine ek olarak taze fasulye tüketiminde de artış olduğu görülmektedir. Bunun en önemli nedenlerine toplumumuzun tüketim alışkanlıklarının zamanla değişmesini ve taze fasulyenin konserve sanayinde yaygın olarak kullanılmasını sayabiliriz. Farklı şekillerde değerlendirilebilen fasulye genel olarak ülkemizin her yöresinde yetiştirilmektedir. *Phaseolus* türleri Orta ve Güney Amerika orijinlidir. Fasulye'nin Anadolu'ya girmesinden sonra bu türe ait genetik kaynaklar ülkenin hemen her yerine dağılmıştır. Doğal ve yapay seleksiyon baskısı sonucunda zamanla fasulye tarımı yapılan bölgelere özgü olan ve çeşitli yöresel isimlerle anılan fasulye popülasyonları oluşmuştur.

Fasulye baklagiller arasında büyük bir genetik çeşitliliğe sahiptir. Ülkemizde sebze yetiştiriciliği konusunda hem klasik ıslah yöntemi hem de biyoteknolojik ve moleküler ıslah programlarıyla yerel genotipler geliştirilmekte ve modern sebze tarımına kazandırılmaktadır. Fakat fasulyenin tohum ederi düşük olmasından kaynaklı yeterli ıslah programlarının olmaması, dış kaynaklı birçok çeşidin ülkemize girmesine neden olmuştur. Fasulye ıslahında gen havuzunun iyi bir şekilde çeşitli morfolojik ve moleküler belirteçler kullanılarak tanımlanması önemlidir. Yaptığımız bu tez kapsamında genetik karakterizasyonu belirlemede etkili ve kullanışlı metotlardan olan mikrosatellit (SSR) ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP) belirteçleri kullanılarak 94 farklı fasulye genotipinin (oturak taze, sırik taze, oturak kuru, sırik kuru, oturak barbunya ve sırik barbunya fasulye genotiplerinin) genetik yapısı incelenmiştir. Elde edilen veriler, hem çalışılan fasulye genotiplerinin genetik yapısı hakkında bize bilgi sunmuş hem de bundan sonra fasulye ıslah materyalleri ve ticari çeşitler üzerinde yapılacak olan ıslah çalışmaları ve araştırmalarına kaynak materyal olarak rol oynayacaktır.

Bu tez çalışmasının ortaya çıkmasında yoğun iş tempoma rağmen hiçbir emeğini esirgmeden çalışmamın her aşamasında beni sürekli destekleyen ve yardımcı olan tez danışmanım Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN'e, tezin son şeklini almasında değerli katkılarını esirgemeyen Tez Savunma Sınavı Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Süray PEHLİVANOĞLU, Dr.

Öğr. Üyesi Yunus ARIKAN ve Dr. Öğr. Üyesi Sheida DANESHVAR ROYANDAZAGH'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez konusunun belirlenmesi ve çalışmanın her aşamasında değerli bilgilerini esirgmeden destek veren Dr. Hasan Özgür ŞİĞVA'ya, bilim dünyasında bana her zaman rol model olmuş Dr. Kemal AVİCAN'a, araştırmamın başından sonuna kadar destek veren May-Agro Tohumculuk A.Ş. Yönetim Kuruluna ve Direktörüm Dr. Geoffrey L. THOMAS'a, ilk işe başladığım günden bugüne kadar hiçbir emeğini ve desteğini esirgemeyen ve beni teşvik eden takım liderimiz Zir. Müh. Berk YILMAZ'a, araştırmamın laboratuvar ve sera aşamasında yardımcı olan değerli mesai arkadaşlarım Halil TAŞ, Zir. Müh. Özüm ÇETİNEL, Zir. Müh. Seyda AKBAŞ ve Yasemin TOK'a, SSR analizlerinde yardımlarını esirgemeyen doktora öğrencisi Selen YATKIN'a ve bugüne kadar her daim yanımda olan maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili anne ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Mayıs 2019

Ömer AVİCAN

## 1. GİRİŞ

Fasulye bitkisi Leguminosae (Baklagiller) familyasından *Phaseolus* cinsine ait bir türdür. Baklagiller familyası toplamda 400 cins ve yaklaşık 10.000 tür içermektedir. Fasulye, nohut, mercimek, soya, bakla, bezelye gibi ekonomik öneme sahip türler bu familyadandır. Dünya’da *Phaseolus* cinsine ait 5 adet türün ıslahı gerçekleştirilebilmiştir. Bu türler; *P. vulgaris* L. (common bean), *P. coccineus* L. (runner bean), *P. acutifolius* A. Gray (teparı bean), *P. lunatus* L. (lima bean) ve *P. polyanthus* Greeman (year bean)’dur (Debouck ve ark. 1993, Singh 1999, Gaitan-Solis ve ark. 2002). Ekonomik ve bilimsel amaçlı en çok tercih edilen fasulye türü ise *P. vulgaris* L.’dir. Anavatanı Güney Amerika olan fasulye 16’ncı yüzyılın başlarında Avrupa’ya getirilmiş, zamanla tarımı artmış ve Dünya’nın hemen hemen her tarafında yetiştirilmeye başlanmıştır. Ülkemizde fasulye yetiştiriciliği yaklaşık 250 yıl öncesine dayanmaktadır (Nemli 2013).

Fasulye tohumlarındaki protein içeriğinin, kuru ağırlıklarının %22’si kadar olması nedeniyle insan gıda maddesi olarak diyetin önemli bir parçası haline gelmiştir (Alzate-Marin ve ark. 2003). Fasulye taze meyve ve danelerinin yaklaşık olarak %90’ı sudur ve A (karoten) ve C vitamini bakımından zengindir. Fasulyenin besin değerinin yüksek olması, farklı şekillerde tüketime uygun olması (taze, kuru, konserve, turşu vs.), protein kaynağının yanısıra fosfor, demir gibi mineraller bakımından zengin olması nedeniyle ülkemizde de tüketimi en fazla olan sebzelerdendir (Akçin 1973). Bir besin olarak tüketilmesinin yanında toprağın yapısını düzeltmesi, toprağın organik madde miktarını artırması, azot biriktirmesi, çapa bitkisi olması ve bitki artıklarının yem sanayinde kullanılması nedeniyle de fasulye önemli bir bitki türüdür (Smith ve Huyser 1987, Direk ve ark. 2002).

*Phaseolus vulgaris* Dünya’da taze bakla üretimi olarak 1.341.992 ha alanda 19.042.406 ton; kuru dane üretimi olarak ise 25.563.866 ha alanda 20.698.984 ton olarak en fazla ekim ile üretimi yapılan yemeklik tane baklagil bitkisidir (Blair ve ark. 2006, Galvan ve ark. 2006, Miklas ve ark. 2006, Benchimol ve ark. 2007). Dünya taze fasulye üretiminde birinci sırada Çin, ikinci Endonezya, Türkiye ise 603.653 ton ile Dünya üretiminin %3,1’ini karşılayarak üçüncü sırada yer almaktadır. Dünya kuru fasulye üretiminde rol olan ülkeler sırasıyla Myanmar, Hindistan ve Brezilya’dır (Anonim 2016). Dünya’da ve ülkemizde bu denli yaygın yetiştiriciliği yapılmakta olan ve büyük bir genetik çeşitlilik gösteren fasulyenin baklagiller arasındaki bu önemli konumu gün geçtikçe artış göstermektedir. Tarımsal üretim bakımından önemli konuma sahip olan fasulye, sağlıklı bir yaşam için gerekli olan protein, vitamin, kompleks karbonhidratlar ve mineralleri (Ca, Mg, K, Cu, Fe, Mg ve Zn) içermesinden dolayı

ön plana çıkmaktadır (Kaçar ve ark. 2004, Miklas ve ark. 2006, Marotti ve ark. 2007, Blair 2013).

Türkiye, Akdeniz ve Yakın Doğu gen merkezlerinin kesiştiği bölgede yer almasından dolayı bitki genetik kaynakları yönünden çok özel bir konumdadır. Türkiye jeomorfolojik yapısı, iklim ve topografya özellikleri, habitat tipleri yönünden geniş biyoçeşitliliğe sahiptir. Türkiye florasında, yaklaşık 3700 kadarının endemik olduğu 12054 civarında çiçekli bitki türü bulunmaktadır (Özhatay ve Byfield 2005, Özhatay ve ark. 2011). İçinde bulunduğumuz coğrafyanın sahip olduğu doğal kaynaklarımıza ve bitki gen kaynaklarımıza sahip çıkmak için genetik çeşitliliğin korunması, türlerin genetik ve morfolojik karakterizasyonunun yapılması, değerlendirilmesi ve kullanılır hale getirilmesi gerekmektedir (Şehirli ve ark. 2005). Özellikle son 50 yılda moleküler biyoloji ve genetik alanında gerçekleştirilmiş olan ilerlemelerle geleneksel biyoteknoloji yeni bir seviyeye ulaşmış ve modern biyoteknolojinin ortaya çıkması ve gelişimi önem kazanmıştır. Son yıllarda DNA belirteç teknolojisindeki ilerleme yüksek seviyelere ulaşmış ve filogenetik analizlerden genlerin klonlanmasına kadar çeşitli genetik analizlerde çok değerli araçlar sağlamıştır. PCR tabanlı belirteçler tarafından kolaylıkla genetik yapının belirlenmesi, moleküler haritaların oluşturulması, ilgilenilen karakterlerin etiketlenmesi mümkün olmuştur. Fasulyede de moleküler belirteçlerin kullanılmasıyla yapılan moleküler genetik çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır (Metais ve ark. 2001, 2002, Duran ve ark. 2005, Sicard ve ark. 2005, Coelho ve ark. 2009, Angioi ve ark. 2010, Buah ve ark. 2017, Carucci ve ark. 2017). Ülkemizde fasulye gen kaynaklarının morfolojik veya moleküler yöntemlerle tanımlandığı çalışmaların sayısı son yıllarda artmaya başlamıştır. Ülkemizdeki fasulye populasyonlarının genetik varyasyonun tam olarak ortaya konması gen kaynaklarımız açısından önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle bu tez çalışmasında yer alan ıslah hatları ve ticari çeşitlerin birbirleri ile olan genetik ilişkilerin moleküler yöntemlerle tanımlanması, ıslah amacına yönelik hatların seçiminde kullanılabilecek materyallerin elde edilmesini mümkün kılacaktır. Bu tez kapsamında, Türkiye’de ekimi gerçekleştirilen bazı ticari çeşitlerin ve ıslah kademesinde olan bazı hatların DNA temelli moleküler belirteçler ile genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi temel olarak amaçlanmıştır. Ayrıca, çalışılan çeşitlerin genetik parametrelerinin tahmin edilmesi ile genetik çeşitlilik düzeylerinin belirlenmesi ve fasulye ticari çeşitlerinin ve ıslah programında kullanılan hatların moleküler filogenetik analizinin yapılması, belirlenen genetik çeşitlilik düzeylerinin literatürde mevcut olan diğer çalışmalarla karşılaştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile gen kaynaklarımızın yeni çeşitler geliştirmeye yönelik ıslah programlarında daha etkin şekilde yer alması mümkün olacaktır.



## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Baklagiller Familyası ve Fasulye Hakkında Genel Bilgiler

Leguminosae (Fabaceae, Baklagiller) familyası, Dünya üzerinde üçüncü sırada yer alan en geniş familyalardan birisidir. Baklagil kelimesi latince “Legumen” kelimesinden türemiştir ve kabuklu baklanın hasat edilen tohumları anlamı taşır (Salunke ve Kadam 1989). Baklagiller familyası yaklaşık 800 cins 20.000 türden oluşur (Lewis ve ark. 2005). Eski çağlardan beri insan beslenmesinde önemli bir besin kaynağı olan baklagillerin mısır piramitlerinde ve mezar kazılarında örneklerine rastlandığı bildirilmektedir. Günümüzde de baklagillerden fasulye, nohut, mercimek, bezelye, börülce, soya fasulyesi gibi yemeklik tane baklagiller önemli besin ve gıda kaynaklarımızı oluşturmaktadır (Tan ve Serin 2009).

Yemeklik dane baklagillerin ham protein içeriği çeşide göre değişmekle birlikte genellikle %20'den fazladır. Yaygın olarak tüketilen baklagillerden soya fasulyesinde %43,7, nohutta %22,8, fasulyede %25,5, baklada %27,7, kılıç fasulye'de %21 oranında protein olduğu bildirilmiştir (El-Tabey Shehata 1992, Kapoor ve ark. 1992).

Baklagiller sahip oldukları azot (N) bağlayabilme yeteneklerinden dolayı doğada diğer bitki türleri arasında önemli bir yere sahiptir. Baklagiller *Rhizobium* cinsi bakteriler ile ortak yaşam (simbiyosis) içinde bulunmaları sayesinde havadaki elementer azotu yüksek yapılı bitkilerin kullanabileceği azot formuna dönüştürürler. Baklagillerin toprağa bağladıkları azot azımsanmayacak düzeydedir. Normal gelişmiş bir yonca tarlasında dekara bağlanan N miktarı, tarla da ekili kaldığı süre gibi bazı faktörlere göre değişmekle birlikte 14,8-29,0 kg/da'dır. Bu miktar ak üçgülde 26,8, çayır üçgülünde 15,4, tüylü fiğde 18,4 kg/da'a kadar çıkmaktadır (Larue ve Patterson 1981). Çeşitli faktörlere bağlı olarak belirlenen azotun %33'ü buğdaygillere transfer edilmektedir (Halitgil ve ark. 2007). Bu gibi avantajlarından dolayı baklagiller, kendilerinden sonra tarlaya ekilecek olan buğdaygiller için çok iyi bir ön bitki konumundadır.

Baklagillerin atmosferdeki azotu toprağa bağlaması, toprağa yüksek kaliteli organik madde sağlaması ve topraktaki besin maddelerinin dolaşımını ve su tutmasını kolaylaştırması önemli özelliklerinden bazılarıdır. Sahip oldukları özelliklere dayanarak baklagiller, sebze yetiştiriciliği için yüksek potansiyele sahiptir, hem ürün olarak hem de ürün kalıntısı olarak işlevsel özelliktedir. Baklagillerin tarlada diğer bitkilerle rotasyona tabi tutulmasının, ekilebilir alanlarda gübre ve enerji kullanımını azaltmada ve dolayısıyla sera gazı salınımını azaltmada önemli rolü bulunmaktadır (Stagnari ve ark. 2017).

*Phaseolus vulgaris*, kromozom sayısı  $2n=2x=22$  olan diploid bir tür olmakla birlikte küçük bir genoma sahiptir [633 Mbp (0.66 pg)/IC] (Vallejos ve ark. 1992, Ramalho ve Abreu

2006). Fasulye çoğunlukla kendine tozlanmasına rağmen %1'den daha az oranda karşılıklı döllenme görülebilmektedir (Guerra-Sanz 2004, Ramalho ve Abreu 2006). Fasulye çeşitleri Mesoamerikan ve Andean olmak üzere coğrafik olarak iki ana gruba ayrılmıştır (Piergiovanni ve Lioi 2010). Yapılan çalışmalar sonucunda kültür bitkisi olarak yetiştirilen fasulye çeşit veya genotiplerinin atalarına göre genetik çeşitlilik düzeylerinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Aynı gen havuzundan ebeveyn olarak seçilen genotiplerin genetik farklılıklarının düşük seviyede olmasından dolayı fasulye yetiştiriciliğindeki ve ıslahındaki gelişmeler yavaş olmuştur. *P. vulgaris* türüne ait fasulyelerin morfolojik olarak incelenmesinde, aynı tür isimlerine sahip olmalarına rağmen çiçek, bitki şekli, meyve ve tohum gibi özellikler bakımından farklılıklar bulunduğu saptanmıştır.

Dünya'da en fazla kullanılan ve yetiştirilen fasulye formları iki büyük grup altında toplanmaktadır. Yer (bodur) fasulyesi (*Phaseolus vulgaris* var. *nanus*) ve sırik fasulyesi (*Phaseolus vulgaris* var. *comminus*) olarak adlandırılan bu grupların taze, kuru ve hem taze hem de kuru olarak tüketilen çeşitleri mevcuttur. Bunun yanı sıra kültüre alınan fasulyelerin yenilebilir bölümleri; kuru yenilebilir fasulyeler (rehidrasyon sonrası olgun kuru tohum olarak tüketilen) ve taze fasulyeler (kabuğu olgunlaşmadan taze olarak tüketilen; çitçit fasulye, yeşil, Fransız ve Haricot fasulye gibi) olarak iki gruba ayrılmaktadır (Myers ve Baggett 1999). Türkiye 2018 yılı taze fasulye üretimi 580949 tondur. Türkiye kuru fasulye ile ilgili 2018 yılı istatistiklerini incelediğimizde; ekim alanı 848045 dekar, üretim 220000 ton ve verim 259 kg/dekar olarak bildirilmiştir (Anonim 2018).

Fasulyenin Dünya'da üretimi, Orta, Kuzey ve Güney Amerika, Güney ve Doğu Afrika, Güney, Batı ve Doğu Avrupa ile Doğu Asya olmak üzere temelde beş kıtada yapılmaktadır (Lioi ve Piergiovanni 2013). Güney Amerika ve Orta Amerika fasulyenin iki ana gen merkezi olduğundan ötürü aynı zamanda genetik çeşitliliğinde yüksek olduğu bölgeler olarak karşımıza çıkmaktadır (Beebe ve ark. 2000, Rodino ve ark. 2003, Benchimol ve ark. 2007, Chiorato ve ark. 2007, Marotti ve ark. 2007, Kwak ve Gepts 2009). Blair ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada, Orta Amerika (Mesoamerikan) gen havuzuna ait olan fasulyelerin biyokimyasal ve morfolojik yönden farklılıklar göstererek Durango, Jalisco ve Mesoamerika ırklarını içine aldıkları; Güney Amerika (Andean) gen havuzuna ait olan fasulyelerin ise Peru, Nueva Granada ve Şili ırklarından oluştuğu bildirilmiştir.

Fasulye, insan beslenmesinde çok önemli yeri olan bir sebzedir. Günlük protein ihtiyacını karşılamak için birçok gelişmekte olan ülkede yetiştirilen başlıca gıdalar arasında yer almaktadır. Biyotik ve abiyotik stres koşullarına olan hassasiyet, geliştirilen çeşitlerin adaptasyonunun sınırlı oranda olması ve çeşitli yetiştiricilik sistemlerinin uygulanması gibi

nedenler ile birçok ülkede yetiştirilen fasulye genotiplerinin ortalama veriminin oldukça düşük olduğu bildirilmektedir. Ayrıca fasulye simbiyotik azot fiksasyonu ile toprak ve çevrenin iyileştirilmesine yardımcı olmaktadır (Assefa ve ark. 2019).

Etkin ıslah programlarının oluşturulması ve sürdürülebilmesi için temel genetik çeşitlilik kaynağı olarak mevcut gen bankalarında depolanmış germplazmların kullanımı sonucunda yüksek verimli çeşitlerin geliştirilmesi mümkün hale gelmektedir. Bir genotipin genetik kaynak olarak kullanımı için öncelikle gerekli olan, kültüre alınmış türlerin, yabani akrabalarının, elde var olan atasal genotiplerin genetik çeşitliliğinin dağılımının bilinmesi önemlidir. Fasulye çoğunlukla kendine döllen bir tür olduğu için ilk zamanlarda izoenzim ve RFLP gibi genetik belirteçler kullanılarak çalışmalar yapılmış ve genetik yapı hakkında nispeten az bilgiler elde edilmiştir. Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde PCR tabanlı DNA belirteç teknolojilerinin kullanılması genetik yapı hakkında daha fazla bilgi edinmek için önemli katkılar sağlamaktadır. Maliyet, verimlik ve kolaylık gibi nedenler SNP, SSR ve AFLP belirteçlerini fasulye genetik çeşitliliğini belirlemede kullanılan en yaygın belirteçler haline getirmiştir (Assefa ve ark. 2019).

Ülkemizdeki fasulye gen kaynaklarına ait koleksiyon Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Ulusal Gen Kaynakları Bankası'nda ve Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde muhafaza edilmektedir. Fasulye üretimi özellikle Çarşamba Ovası'nda yoğunlaşmış olup ovada bölge şartlarına uyum sağlamış çok sayıda yerel tip bulunmaktadır ve büyük bir populasyon zenginliği söz konusudur. Taze fasulye yetiştiriciliğinde işçilik ve sırk maliyetinden dolayı bodur çeşitlerin kullanımı daha fazladır (Madakbaş ve ark. 2007).

## **2.2. Fasulyenin Taksonomisi ve Gen Kaynakları**

*Phaseolus* cinsi, yaklaşık 80 türü içeren Amerikan orijinli baklagiller familyasının bir üyesidir (Porch ve ark. 2013). *P. vulgaris* türüne ait taksonomik sınıflandırma Çizelge 2.1'de verilmektedir. *Phaseolus* cinsine ait kültürü yapılan fasulyelerin %90'ını *P. vulgaris* oluşturmaktadır. *Phaseolus* cinsine ait dört gen havuzu (birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül) bulunmaktadır.

Birincil gen havuzu Orta Amerika (Meksika), And Dağları (Peru) ve daha sonra keşfedilen Kuzey And Dağları (Ekvator) gen havuzudur. Bu gen havuzlarından en zengin olanı 40'dan fazla türe sahip olan Orta Amerika'dır (Debouck ve ark. 1993). Thome ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmaya göre Kolombiya'nın merkezinin bir diğer birincil gen havuzu olduğu belirtilmiş fakat bu görüşü destekleyecek yeterli kanıt bulunmadığı bildirilmiştir. İkincil

gen havuzunu *P. vulgaris* ile çok yakından ilişkili olan türler oluşturmaktadır. Örneğin, Linnaeus ve Mendel *P. coccineus* ile *P. vulgaris* arasındaki farklılıklar üzerine çalışarak *P. coccineus*'un kökenini bulabilmişlerdir. *P. vulgaris* ile yakın olan bir diğer tür *P. polyanthus*'dur. Schmit ve ark. (1993)'nin çalışmasında, *P. coccineus*'un nükleer DNA'sının *P. vulgaris* ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Kesin olmamakla birlikte İspanya, Balkanlar, Türkiye, Hindistan, İran, Afganistan, Burma, Çin, Filipinler, Nijerya'dan Etiyopya'ya kadar olan bazı bölgeler, Doğu Afrika ülkeleri (Etiyopya'dan Zambiya'ya) ve Madagaskar'ın ikincil gen merkezleri olabileceği sanılmaktadır (Debouck 1988).

**Çizelge 2.1.** *P. vulgaris*'in sistematikteki yeri (Anonim 2019)

<b>Alem</b>	Plantae
<b>Alt Alem</b>	Tracheobionta
<b>Bölüm</b>	Magnoliophyta
<b>Sınıf</b>	Magnoliopsida
<b>Alt Sınıf</b>	Rosidae
<b>Takım</b>	Fabales
<b>Familya</b>	Fabaceae
<b>Cins</b>	<i>Phaseolus</i> L.
<b>Tür</b>	<i>Phaseolus vulgaris</i> L.

Üçüncül gen havuzu ise *P. acutifolius*, *P. filiformis* ve *P. augustissimus* türlerinden oluşmaktadır. Üçüncül gen havuzundaki türlerin *P. vulgaris*'ten oldukça büyük genetik uzaklığa sahip olduğu bildirilmektedir. *P. acutifolius*; yüksek sıcaklığa ve kuraklığa toleranslı, ayrıca yaygın bakteri yanıklığına da dayanıklıdır. Birincil ve üçüncül gen havuzları arasında yapılan bir melezleme ile yaşayabilen bir döl elde etmek için embriyo kurtarma gibi biyoteknolojik yöntemlerin kullanımı gerekmektedir. Dördüncül gen havuzu, üçüncül gen havuzundan daha uzak ilişkili *P. lunatus* gibi türlerden oluşmaktadır. *P. lunatus*, başarıyla kültüre alınmış, verimliliği ve tropikal koşullara adaptasyonu çok iyi bir türdür (Ulukapı 2009). Bununla birlikte, Singh (1999)'in çalışmasında *P. vulgaris* ile bu gen havuzuna ait bireylerin arasında yaşama kabiliyetinde olan döller elde edilemediği bildirilmiş, *P. lunatus* ve *P. vulgaris* arasında farklılıklar bulunduğu saptanmıştır.

### 2.3. Dünya’da Fasulye Gen Kaynaklarının Toplanması, Karakterizasyonu, Islahı ve Değerlendirilmesi Konusunda Yapılmış Çalışmalar

Dünya’da fasulye gen kaynaklarının toplanması ve morfolojik yapı yönünden genetik olarak farklılıklarının belirlenmesi üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır. Macaristan Tapioszele’de bulunan koleksiyonda, *P. vulgaris*’e ait taze ve kuru 2259 materyalin bulunduğu ve bu materyalin 710 tanesinin yerel Macar çeşitlerine, 29’unun ıslah edilmiş Macar çeşitlerine ve 1410 tanesinin de yabancı çeşitlere ait olduğu (%65’i komşu ülkelerden), 110 tanesinin ise Asya ve Amerikan orijinli olduğu belirtilmektedir (Unk 1984).

Küba’da bitki genetik kaynaklarının koleksiyonu için 1982 yılında INIFAT gen bankası tarafından başlatılan ve 6 yıl süreyle devam ettirilen bir çalışma ile fasulye gen kaynaklarının orijinleri, çeşitlilik durumları ve kullanım alanları belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada 328 yerel fasulye çeşidi kullanılmış ve bunların tohumlarının %53’ünün renklerinin siyah, %25’inin kırmızı ve %0,3’ünün ise beyaz olduğu bildirilmiştir (Castineiras ve ark. 1991).

Ron ve ark. (1990) tarafından yapılan çalışmada, 1989 yılında Kuzey İspanya’nın iki farklı bölgesinde 38 yerel fasulye materyalini taze bakla, kuru tohum özellikleri ile verim yönünden değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda toplanan materyal özellikleri yönünden Cluster (Kümeleme) analizi yöntemi ile 4 farklı gruba ayrılmıştır. Bu gruplardan ikisinin, iyi kalitede taze bakla ve kuru tohumlara sahip olan yerel çeşitleri kapsamadığı belirlenmiştir.

Escribano ve ark. (1991) tarafından Kuzeydoğu İspanya’daki fasulye popülasyonları arasındaki taksonomik ilişkilerin incelendiği çalışmada 38 popülasyon ve 5 ticari çeşit, 2 farklı lokasyonda (Pontevedra ve Pravia şehirlerinde) yetiştirilmiştir. Çalışmada yer alan 43 çeşit kümeleme analiz yöntemine göre 4 gruba ayrılmıştır. Buna göre 1. grup, Asturias’tan toplanılan “Granja” olarak adlandırılan ve kuru fasulye olarak tüketilen 9 çeşidi kapsamaktadır. Bu çeşitlerin tohum boyunun 20 mm’den büyük, genişliğinin ise 8 mm’den büyük ve şeklinin dörtgen yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çeşitlerin gelişme periyodunun geç ve büyüme tiplerinin sırtık formlu olduğu bildirilmiştir. 2. grup 2 taze fasulye çeşidini kapsamaktadır. Bunlardan 1 tanesi ticari çeşit “Selección F-15 mata baja” ve diğeri ise “Frijol amarillo” olarak adlandırılan PHA-0405’dir. 3. grup Kuzeydoğu İspanya’da farklı yörelerden toplanılan ve kuru olarak tüketilen 14 yöresel çeşidi kapsamaktadır. Bu çeşitlerin oldukça küçük baklalara sahip olduğu ve taze tüketim için uygun olmadığı bildirilmiştir. 4. grup, 18 çeşidi kapsamaktadır. Bu grup, 2 alt grup içerisinde incelenmiştir. 1.alt grup, 4 ticari ve yerel 6 taze fasulye çeşidini ve diğeri 2.alt grup ise 8 kuru fasulye çeşidini kapsamaktadır. 1.alt grupta yer alan taze fasulye çeşitleri, en uzun baklalara (121-180 mm) sahiptirler. Ancak bu çeşitlerin baklalarında kıvrılma

olduğu belirlenmiştir. 2. alt grup ise kuru fasulye çeşitlerini kapsamaktadır. Bu çeşitlerin bakla uzunluklarının orta büyüklükte (120-140 mm), tohumlarının 10,62-17,21 mm uzunluğunda ve 100 tane ağırlığının ise 46-62 g arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. Sonuç olarak toplanılan fasulye populasyonları arasında tohum verimi dışında bakla ve tohumun fiziksel özellikleri ve agronomik özellikler yönünden yüksek derecede belirgin farklılıklar olduğu bulunmuştur.

Gil ve Ron (1992) tarafından yapılan çalışmada İber Yarımadası'nın kuzeybatısından toplanan 51 yerel çeşitten oluşan koleksiyondaki bitkilerin, değişim durumunu belirlemek amacıyla Uluslararası Bitki Genetik Kaynakları Enstitüsü (IBPGR) tarafından belirlenen 26 morfolojik özellik yönünden 2 yıl süreyle değerlendirme yapılmıştır. Bu amaçla ilk çiçeklenme, %50 çiçeklenme, çiçeklenme sonu, bakla uzunluğu, baklada kıvrılma durumu, kılçıklılık durumu, tohum uzunluğu, genişliği, kalınlık, yaprak rengi, büyüklüğü, bitki başına bakla sayısı vb. zellikler incelenmiştir. Toplanan materyal, kümeleme analizi yöntemine göre 6 grup olarak tanımlanmıştır. 51 yerel çeşit arasında 15 özellik için farklılık bulunduğu bildirilmiş, fakat yılların etkisinin önemli olmadığı saptanmıştır.

Escribano ve ark. (1994) tarafından Kuzeybatı İşpanya'da 56 fasulye populasyonu 4 farklı evre koşulu altında yetiştirilerek IBPGR kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Çiçeklenme zamanı, bakla ve tohum özellikleri, hasat zamanı, verimlilik gibi 18 farklı agronomik özellik incelenmiştir. Populasyonlar arasında tüm özellikler yönünden belirgin farklılıklar olduğu ve bunların çoğunda genotip x evre interaksiyonunun önemli olduğu bulunmuştur. Araştırcılar, 16 populasyonu erkencilik, verim, bakla ve tohum büyüklüğü yönünden ışlah değerlerinin yüksek olması nedeniyle mit verici olarak tanımlamıştır. Populasyondaki baklaların hem taze hem de sanayi için oldukça uygun oldukları belirtilmiştir.

Escribano ve ark. (1997) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, Kuzeybatı İşpanya'dan örneklenen fasulye populasyonlarında bakla ve tohum kalitesi özelliklerindeki genetik farklılıklar incelenmiştir. Bu amaçla 59 fasulye populasyonu ve 5 ticari çeşit, 3 farklı evre koşulunda yetiştirilmiş ve 16 özellik yönünden değerlendirilmiştir. Populasyonlarda baklada kıvrılma durumu, uzunluk, genişlik ve bakla ile tohum genişlik/kalınlık oranları, tohum tekstürü, tohum sertliği, tohumun su emme gücü, ham protein, ham yağ, ham selüloz, toplam şeker ve nişasta içerikleri bakımından belirgin farklılıklar gösterdikleri bulunmuştur. Araştırcılar, 17 populasyonu bakla, tohum pişme kalitesi ve protein içeriği bakımından ışlah programlarında kullanılabilir ebeveyn materyal olarak bildirmiştir.

Escribano ve ark. (1998) tarafından İşpanya Galicia'daki yerel fasulye eşitleri arasındaki genetik farklılığın durumunu belirlemek amacıyla yapılan diğer bir araştırmada ise

Galicia'da yetiştirilen 66 yerel çeşitte morfolojik özelliklerin incelenmesi yanında, bu materyalin çeşit tanımlamalarında kullanılmak üzere protein bant desenlerinin dağılımları da belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda yerel çeşitler, 14 kantitatif ve 5 kalitatif özellik yönünden kümeleme analizine tabi tutulmuş ve 11 farklı grup olarak tanımlanmıştır.

Zeven ve ark. (1999) tarafından Hollanda gen bankasında bulunan çoğunlukla bodur formu fasulye gen kaynakları (toplam 157 populasyon) toplam 14 kantitatif ve kalitatif özellik yönünden incelenmiştir. Bodur formu tiplerin çoğunlukla I ve T tipi phaseolinlere sahip oldukları belirlenmiştir.

Piergiovanni ve ark. (2000)'nın çalışmasında İtalya'da Basilicata bölgesindeki fasulye populasyonlarının tohum kalite özellikleri arasındaki farklılıkları incelenmiştir. Bölgeden toplanan 21 populasyon, kümeleme analizi sonucunda 2 ana grup içerisinde kümelenebilir. Kümeleme analizi sonucunda oluşan dendrogramda sırtık formu ve bodur formu populasyonların belirgin kümeler oluşturdukları saptanmıştır. Bu populasyonların morfolojik özellikler, phaseolin tipi ve besin içerikleri yönünden yapılan sınıflandırma sonucunda Andean gen havuzuna ait olan Peru ırkından oldukları saptanmıştır.

Rodino ve ark. (2003) tarafından İspanya ve Portekiz bölgesindeki gen kaynaklarının toplanması, karakterizasyonu ve ıslah çalışmalarında değerlendirilmesi üzerinde bir araştırma yürütülmüştür. Fasulye, İspanya'nın İberian Peninsula bölgesinde geleneksel ürünlerden birisidir. Bölgeden 388 genetik materyal toplanmış olup 34 kantitatif ve 13 kalitatif özellik yönünden tanımlamaları yapılmıştır. İspanya'nın kuzeyindeki yüksek bölgelerde ateş fasulyesi populasyonları beyaz tohum özellikleri yönünden geniş oranda değerlendirilmektedir.

İberian Peninsula bölgesinden toplanılan 31 populasyon arasındaki çeşitliliğin ortaya konularak değerlendirilmesi üzerinde yapılan bir çalışmada morfolojik, agronomik ve tohum kalite özellikleri yönünden incelemeler yapılmıştır. İncelenen genotipler; agronomik ve tohum özelliklerinin birçoğu bakımından belirgin olarak farklılıklar göstermiştir. Ateş fasulyesi tiplerinde gelecekte yapılacak ıslah çalışmaları için kendilenmiş hatların selekte edilebilmesi için yeterli morfolojik çeşitliliğe sahip oldukları belirlenmiştir (Santalla ve ark. 2004).

Piergiovanni ve ark. (2006) tarafından İtalya'nın Abruzzo ve Lazio bölgesindeki yerel fasulye populasyonları üzerinde araştırmalar yapılmıştır. Gen kaynakları toplama çalışmaları sonucunda 19 yerel çeşide ait olan 44 populasyon toplanmıştır. Yerel çeşitlerin birçoğu, Lazio bölgesindeki Aniense nehri kıyısındaki vadiden toplanmıştır. Yerel çeşitler arasındaki genetik varyasyonun değerlendirilebilmesi amacıyla populasyonlar; bitki ve tohumların bazı morfolojik özellikleri ve phaseolin içerikleri yönünden analiz edilmiştir. Populasyonların, Andean gen havuzuna ait oldukları belirlenmiştir. Kümeleme analizi uygulanmış ve elde edilen

dendrogramın 2 ana alt gruptan oluştuğu bulunmuştur. İlk küme, daha çok Abruzzo bölgesinden toplanılan populasyonlardan oluşuyorken, ikinci alt küme diğerlerini kapsamıştır. Abrusso ve Lazio bölgesi populasyonları arasında düşük derecede olmakla birlikte farklılıklar olduğu saptanmıştır.

#### **2.4. Türkiye’de Fasulye Gen Kaynaklarının Toplanması, Karakterizasyonu, Islahı ve Değerlendirilmesi Konusunda Yapılmış Çalışmalar**

Ülkemizdeki tarımsal yapıyı ortaya koymak amacıyla Zhukovsky (1950), 1925- 1927 yılları arasında yapmış olduğu çalışmada, ülkemizde yetiştirilmekte olan fasulyeleri toplamış ve tohum şekillerine göre yaptığı değerlendirmede yuvarlak tohumlu tiplerin Doğu Karadeniz Bölgesinde, böbrek ve eliptik tohumların Kastamonu, yassı böbrek şekilli tohumların ise İç Anadolu’da yaygınlık gösterdiğini, alacalı renkli tohumlara ise Ege Bölgesinde rastlandığı bildirmiştir (Kıpçak ve ark. 1951).

Ekinci (1939), Türkiye’de yetiştirilen fasulye genotip ve çeşitlerinin sistematik ve morfolojik yönden incelenmesi amacıyla yaptığı araştırmada 36 ilden topladığı 232 örnekte inceleme yapmıştır. Örneklerde yapılan çalışma sonucunda fasulyeler, çimlenme durumları, ilk yaprağın renk, şekil ve büyüklüğü, gerçek yaprakların renk ve büyüklüğü, çiçek rengi, meyve rengi, kılçık durumu, şekil, enine kesit, büyüklük (uzunluk, genişlik, kalınlık), tohum olgunlaşma süresi, bitki büyüklüğü, tohum rengi, şekli ve büyüklüğü ve 1000 tohum ağırlığı yönünden değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda yukarıda belirtilen özellikler yönünden fasulyeler 25 ayrı grup halinde toplanmış ve bu grupların özellikleri verilmiştir.

Şehirli (1971) tarafından ülkemiz bodur fasulye çeşitleri üzerinde yapılan çalışmada fasulyeleri yaprak büyüklüğü, rengi, yaprak ucu şekli, çiçek rengi, çiçeklenme zamanı, bakla uzunluğu, kalınlığı ve rengi ile tohum iriliği ve rengi yönünden gruplandırmıştır. Çiftçi ve Şehirli (1984) tarafından, Türkiye kuru fasulye populasyonunda farklı karakterlerin fenotipik ve genotipik çeşitliliği ile kalıtım derecelerini hesaplamak amacıyla Ankara koşullarında bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada ilk yaprak alanı, bitki boyu, bitki ağırlığı, bakla ağırlığı, bakla boyu, bakladaki tane sayısı, bitki verimi, 100 tane ağırlığı ve hasat indeksi gibi özellikler incelenmiştir. Kalıtım derecesi (%) verileri; ilk yaprak alanında %81,76-23,34, bitki boyunda %92,00-84,6, bitki ağırlığında %92,98-46,57, bitkideki bakla sayısında %97,29-56,99, bakla ağırlığında %80,87-47,87, bakla boyunda %77,87-18,96, %bitki veriminde 75,44-44,29, 100 tane ağırlığında ise %82,15-14,74 olarak saptanmıştır.



Zeytun (1987) tarafından Çarşamba Ovası'nda yetiştirilen fasulye çeşitleri üzerinde yapılan bir çalışmada fenolojik ve morfolojik karakterler tespit edilmiş, özellikle ilk çiçeklenmedeki bitki boyu, hasat sırasındaki bitki boyu, bakla ve tohum özellikleri gibi morfolojik özellikler incelenmiştir. Analiz edilen 33 fasulye çeşidinde, bodur çeşitlerde bitki boyunun 32-58 cm, sırık çeşitlerde ise 273-474 cm arasında bulunduğu, bitkideki bakla sayısının 16,32-86,28 adet ve bakladaki tohum sayısının ise 3,14-5,87 arasında olduğu bildirilmiştir.

Gülümser ve Zeytun (1988), Çarşamba ovasında fasulye tarımı ve sorunlarını belirlemek amacıyla yaptıkları anket çalışmasında, üreticilerin %66'sının taze tüketim amaçlı yetiştiricilik yaptıkları saptanmıştır. Taze tüketim amaçlı yetiştirilen fasulyelerden Gürsel, Kızılıcak oturak, Kırkgünlük ve diğer bodur fasulye çeşitlerinin erkenci; Ayşe Kadın, Sarı Ayşe ve Beyaz Alman sırık fasulye çeşitlerinin erkenci ve Sarı Şeker ile Barbunya çeşitlerinin ve tamamının geçici özellik gösterdiği saptanmıştır.

Türkeş (1989)'in çalışmasında, Edirne'den toplanılan Kara Ayşe, Manyas yöresinden toplanılan Sırık Şeker ve Uludağ yöresinden toplanılan Ferasettsiz ile ülkemizin farklı illerinden toplanılan Boncuk Ayşe fasulye populasyonlarında tek sel seleksiyon yöntemi ile erkencilik, şekil, görünüş ve verim yönünden yapılan çalışmalar sonucunda 4 çeşit adayı belirlenmiştir. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsünde Orta Anadolu Bölgesi koşullarında taze ve kuru olarak iç ve dış pazar isteklerine uygun, verimli, hastalık ve zararlılara dayanıklı fasulye tiplerinin seleksiyon yolu ile ıslahı üzerinde yapılan çalışmalarda, 1964 yılında 4F-89 Fransız sırık fasulye çeşidi, 1983 yılında yuvarlak meyveli Sazova-149 yer taze fasulye çeşidi ve 1984 yılında yassı meyveli olan yer çeşitlerinden; Sarısu ve 40 günlük Sarısu yer fasulye çeşitleri tescil ettirilmiştir. Ayrıca Ferasettsiz sırık fasulye populasyonunda yapılan seleksiyon çalışması sonucunda 1995 yılında Ferasettsiz fasulye tescili yapılmıştır.

Baş ve ark. (1991) tarafından Ege Bölgesindeki mevcut taze fasulye gen kaynaklarını ıslah ederek yeni çeşitler kazandırmak amacıyla bir araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada, 1984-1985 yıllarında Ege Bölgesinden toplanılan 360 hat, çeşit ve populasyon gözlemlere alınmış, bunlar arasından uygun performans gösterenler belirlenmiştir. 1986 yılında, ilkbahar döneminde 85 yer, 38 sırık, sonbahar döneminde ise 3 sırık ve 9 yer çeşidi gözlemlere alınmıştır. İlkbahar dönemi için ümitvar çeşit saptanamazken, sonbahar dönemi için denenilen çeşitlerin bir kısmı ümitvar bulunmuştur. Zondra 86 isimli bir çeşit tescil ettirilmiştir.

Özçelik (1999) tarafından örtüaltı yetiştiriciliğine elverişli sırık taze fasulye çeşit ıslahı amacıyla Akdeniz sahil şeridinden toplanılan çeşitli fasulye populasyonları kullanılarak çalışma yapılmıştır. Demre-1 adı verilen populasyondan seleksiyona uygun olanlardan tek sel

seleksiyonla 6 hat seçilmiştir. Seçilen hatlardan 16 no'lu hattın verim ve kalite yönünden üstün bulunduğu, özellikle sonbahar ve ilkbahar sera yetiştiriciliğine tavsiye edilebileceği rapor edilmiştir. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü tarafından 1990-1996 yılları arasında populasyon halindeki sırk ve bodur Ayşe fasulye çeşitlerinin teksel seleksiyon yolu ile ıslahı üzerinde yapılan çalışmada İçel'de yetiştirilen sırk ve bodur Ayşe fasulyelerden iyi gelişme gösteren, kılçiksız, selülozsuz, baklaları düzgün, uzun, uniform etli ve arzu edilen renkte olan yüksek verimli tiplerin selekte edilmesi amaçlanmıştır. Denemeye alınan hatların verim ve kalite özellikleri dikkate alınarak yapılan seleksiyon sonucunda 14 numaralı sırk Ayşe ve 21 numaralı bodur Ayşe hatlarının verim ve kalite yönünden ilk sırayı almaları nedeniyle İçel yöresi için ilkbahar fasulye yetiştiriciliğine uygun oldukları belirlenmiştir (Tunar ve Kesici, 1998).

Balkaya ve Yanmaz (2003) tarafından bazı taze fasulye çeşit adayları ile ticari çeşitlerin morfolojik özelliklerinin belirlenmesi ve protein belirteçleri ile tanımlanmaları amacıyla yürütölen çalışmada teksel seleksiyon yöntemi ile taze tüketime uygun olarak geliştirilen 15 fasulye çeşit adayının ve ticari olarak yetiştirilen 5 taze fasulye çeşidinin morfolojik özellikleri ve protein belirteçler yardımı ile tanımlamaları yapılmıştır. Çalışmada erkencilik, morfolojik özelliklerden bitki boyu, yaprak (renk, uç ve yan yaprak boyu ve eni, uç yaprak şekli), çiçek (brakte büyüklüğü, renk), bakla (boy, en, enine kesit şekli, renk, kılçıklılık, pürüzlölük, kıvrılma düzeyi ve tohum belirginliğı) ve tohum (irilik, şekil, renk) özellikleri incelenmiştir. Ayrıca SDS-PAGE tekniğı kullanılarak çeşit ve çeşit adaylarının protein bantlaşma yapıları ortaya çıkarılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda çalışmada kullanılan çeşit adaylarının birbirlerinden ve mevcut çeşitlerden hem morfolojik özellikler hem de protein bantlaşma yapısı bakımından farklılıklar gösterdikleri ortaya konulmuştur.

## **2.5. Fasulye Genetik Çeşitliliğini Belirlemede Dominant ve Kodominant Genetik Belirteç Kullanılarak Yapılan Çalışmalar**

Fasulye yetiştiricileri ve ıslahçıları tarafından üstün nitelikli hatların seleksiyonu ve adaptasyonu ile ıslah yaparak yeni çeşitler geliştirilmiştir. Moleküler belirteçler, fasulyeler arasındaki genetik çeşitliliğı tanımlamak ve ıslah sürecine katkı sağlamak için önemli araçlardır (Benchimol ve ark. 2007). Briand ve ark. (1998) tarafından 51 saf fasulye hattı ve 13 yerel fasulye çeşidinde 12 RAPD belirteci kullanılarak genetik çeşitlilik belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda kullanılan çeşitler 2 ana gruba ayrılmış ve %60'ın üzerinde benzerlik tespit edilmiştir. Alvarez ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada İspanya'nın kuzeydoğıu Meseta

bölgesinden toplanılan *P. vulgaris* (60 populasyon) ve *P. coccineous* (6) populasyonları arasındaki genetik varyasyonunun belirlenebilmesi amacıyla izoenzim ve RAPD analizleri yapılmıştır. İzoenzim analizlerinde her iki türde de populasyonlar arasında genetik çeşitlilik olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca izoenzim analizinde, İspanyol populasyonlarındaki genetik çeşitliliğin yabani Amerikan genetik materyallerinden daha az olduğu belirlenmiştir.

Beebe ve ark. (2000)'nin çalışmasında Dünya'da fasulye üretiminin %60'dan fazlasının Orta Amerika orijinli olduğunu ve fasulyelerin orijinlerini belirlemek için genetik bilgilerinin elde edilmesi gerektiği bildirilmiştir. Bu çalışmada, 269 fasulye genotipinin genetik yapısı 39 RAPD belirteci kullanılarak incelenmiştir. Çalışmanın sonunda 261 bant elde edilmiş, primer başına ortalama 6,7 bant gözlenmiştir. Metais ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada RFLP, DAMD-PCR, ISSR ve RAPD belirteçleri kullanılarak 24 ticari fasulye hatları arasındaki polimorfizm ve akrabalık dereceleri belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan beş ISSR primerinden bir tanesinden elde edilen altısı polimorfik 15 bantın farklı fasulye hatlarının çok yönlü bant profillerini belirlemede yeterli olduğu bulunmuştur. Yedi RAPD primeriyle test edilen genotiplerde ayırt edici bantlar elde edilmiş ve %66'sı polimorfik bulunmuştur. Çalışmanın sonunda ticari hatlar arasındaki genetik farklılığı ortaya çıkarmak için sadece RFLP ve RAPD belirteçlerinden elde edilen sonuçlar kullanılmıştır.

Galvan ve ark. (2001)'nin çalışmasında Kuzey Arjantin'de 10 ticari fasulye çeşidinin genetik çeşitliliği RAPD belirteçleriyle analiz edilmiştir. Çalışmada 16 tane primer kullanılmış ve primerlerin sadece 4 tanesi polimorfizm göstermiştir. Polimorfik bantların çoğu (%59) OPA-09 ve OPA-20 primerlerinden elde edilmiştir. Benzerlik matrisinde 3 farklı katsayı değeri (Basit eşleştirme, Jaccard ve Dice) kullanılmış, UPGMA ve temel koordinat analizleri oluşturulmuştur. Çalışmada benzerlik değerleri %40'dan yüksek bulunmuştur. Hem grup analizleri hem de temel koordinat analizleri her iki gen havuzunda da (Güney Amerika, Orta Amerika) ortak çıkmıştır. Rodino ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada Portekiz'deki 88 adet yerel fasulye çeşidi 17 kantitatif, kalitatif ve biyokimyasal belirteç vasıtasıyla araştırılmıştır. Agronomik özelliklere göre birçok grubun belirlendiği; yerel çeşitlerin 3 grupta kümelendiği ve Portekiz fasulyelerinin çoğunun Güney Amerika kaynaklı olduğu bildirilmiştir.

Negri ve Tosti (2002) tarafından İtalya'nın orta bölgesindeki bulunan *Phaseolus* gen kaynaklarındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada bölgeden toplanan 31 *P. vulgaris* ve 5 *P. coccineous* populasyonu üzerinde incelemeler yapılmıştır. Toplanan materyal arasındaki genetik varyasyonun değerlendirilebilmesi için 3 AFLP primer kombinasyonu denenmiştir. Genotipler arasında yüksek bir polimorfizm olduğu (%90,2)

belirlenmiştir. *P. vulgaris* türüne ait genotiplerin dendrogramda, 2 alt kümeden oluştuğu görülmüştür.

Rodino ve ark. (2003) tarafından İber yarımadasından örneklenen 188 yerel fasulye çeşidinin kantitatif ve kalitatif özellikleri incelenmiş ve %74,7'sinin Güney Amerika, %16,8'inin Orta Amerika, %8,4'ünün ise bu iki gen merkezi arasındaki rekombinantlar olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada Orta Amerika ve Güney Amerika gen havuzuna ait sıra dışı büyük tohumlu genotipler belirlenmiştir. Ocampo ve ark. (2003)'ün çalışmasında İspanya'dan örneklenen 54 fasulye genotipi ile Amerika orijinli 30 yabancı fasulye genotipi, Güney Amerika ve Orta Amerika'dan alınan 2 kontrol grubuyla, ayrıca dış grup olarak olarak *P. coccineus* ve *Vigna unguiculata* ile 4 RAPD primeri yardımıyla incelenmiştir. Çalışmada 136 bant elde edilmiş ve 132 bant bütün örneklerde %97 oranında polimorfik olduğu bulunmuştur. Sadece *P. vulgaris*'in 86'sı %93,5 oran ile polimorfik bulunmuştur. Ayrıca fasulye genotiplerinin morfolojik özellikleri de incelenerek İspanya'dan alınan fasulye genotiplerinin çoğunun (43/54) Güney Amerika orijinli olduğu tespit edilmiştir.

Tiwari ve ark. (2005)'ün çalışmasında, Himalaya'dan toplanan 99 fasulye genotipi 60 RAPD primerinden seçilen 10 primer ile incelenmiştir. Çalışmada 123 tane bant elde edilmiş ve bu bantların 121 tanesi polimorfik çıkmıştır. Galvan ve ark. (2006) tarafından, Arjantin'in farklı bölgelerinden toplanan 10 yabancı fasulye popülasyonu arasında genetik çeşitlilik 33 RAPD belirteci ve 10 morfolojik özellik ile belirlenmiştir. RAPD analizinde 33 primerden alınan bantların sadece 6 tanesi polimorfizm göstermiş ve toplam 40 banttan 8 tanesi (%20) polimorfik bant olarak bulunmuştur. Ayrıca çalışmanın sonunda, genetik çeşitliliği belirlemede morfolojik özellikler moleküler belirteçlerden daha başarılı bulunmuştur.

Martins ve ark. (2006) tarafından, 17 tane yerel fasulye çeşidi üzerinde 40 primer kullanarak 689 RAPD lokusu incelenmiştir. RAPD analizi sonucunda popülasyon içi çeşitlilik (%10) az, popülasyon arası çeşitlilik ise (%90) yüksek bulunmuştur. Marotti ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada 16 İtalyan fasulyesinin genetik farklılığı ve 4 ticari çeşitle akrabalık dereceleri 6 RAPD ve 8 ISSR belirteçleri ile araştırılmıştır. Çalışmada ISSR'da %85 ve RAPD'de %69 oranında polimorfik bant elde edilmiştir.

Sustar ve Maras (2006)'ın çalışmasında Slovenya fasulye gen kaynağından temin edilen 100 fasulye genotipi 10 AFLP belirteci ile incelenmiş ve 303 tane polimorfik bant elde edilmiştir. Bunun yanında oransal olarak fasulye genotiplerinde yüksek bir genetik çeşitlilik oluştuğunu bildirilmiştir. Svetleva ve ark. (2006) tarafından, Bulgaristan'da yürütülen çalışmada 33 Bulgaristan, 45 yabancı fasulye genotipi 13 ISSR primeri ve 3 AFLP primer kombinasyonu kullanılarak incelenmiştir. ISSR analizinde 150 banttan 55 tanesi (%36,7),

AFLP analizinde ise 54 tane (%32,9) polimorfik bant elde edilmiştir. Ayrıca çalışmada incelenen fasulye genotiplerinde heterojenliğin olduğu görülerek, genotipler Orta Amerika ve Güney Amerika olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır.

Chiorato ve ark. (2007)'nin çalışmasında, Brezilya'da gen bankasından temin edilen 220 fasulye hattı 19 RAPD primeri ve 23 morfolojik belirteç ile analiz edilmiştir. Çalışmanın sonucunda 210 bant elde edilerek, bu bantların 139 tanesi polimorfik bulunmuştur. 23 tane morfolojik parametrenin 139 tane RAPD bandından daha fazla genetik farklılığı ortaya koyduğunu bildirilmiştir.

Tertivanidis ve ark. (2008) tarafından Makedonya orijinli 19 yerel kuru fasulye popülasyonuna ait 10'ar genotipte RAPD analizi yapılmıştır. Toplam 11 primerin kullanılmasıyla 56 polimorfik bant ve primer başına da ortalama 5,1 polimorfik bant elde edilmiştir. Kumar ve ark. (2008)'nin çalışmasında 26 fasulye hattı 44 RAPD belirteciyle incelenmiş, 15 primerin polimorfizm gösterdiği belirlenmiştir. 15 primerde toplam 124 bant skorlanmış, bantların 95 tanesinin polimorfik olduğu ve genotiplerin küme analizleri sonucunda 4 gruba ayrıldıkları bildirilmiştir. Jose ve ark. (2009) tarafından Hindistan'ın farklı bölgelerinden örneklenen 20 yerli fasulye genotipi 15 RAPD primeri ile analiz edilmiştir. Çalışmanın sonunda elde edilen 102 banttan 63 tanesi polimorfik bant oluşturmuştur.

Maciel ve ark. (2003) tarafından yapılan çalışmada 31 *P. vulgaris* genotipi ve 2 *Vigna unguiculata* arasındaki akrabalıklar ve genetik varyasyon AFLP analizi ile değerlendirilmiştir. Araştırmada 9 primer kombinasyonunda toplam 263 bant elde edilmiştir. Sonuçlara göre amplifikasyon ürünlerinin %95'den daha fazlası, bu genotipler arasında DNA seviyesinde yüksek polimorfizm göstermiştir. Galvan ve ark. (2010) tarafından 19 adet Arjantin fasulye yerel çeşidi ve yabancı popülasyonun tanımlaması yapılarak; farklılıklar ISSR markörleri ve tohum proteinleriyle incelenmiştir. ISSR belirteçlerinin popülasyon içi ve arası farklılığı belirlediği, 10 adet primerden 4 adedinin polimorfik olduğu bildirilmiştir.

Boczkowska ve ark. (2012)'nin çalışmasında ıslah çalışmalarında kullanılmak üzere fasulye genetik potansiyelini belirlemek amacıyla, ulusal koleksiyondan *P. coccineus*'un 2 ticari çeşidi ve 3 yerel çeşidinin genetik çeşitlilik seviyesi AFLP ile analiz edilmiştir.

Masi ve ark. (2003) tarafından 3 fasulye yerel çeşidi arasından seçilen 266 adet genotipte 30 SSR belirteci kullanılarak analizler yapılmıştır. Sonuçta SSR başına ortalama 4,3 allel ve toplam 135 allel belirlenmiştir. Guerra-Sanz (2004) tarafından yapılan çalışmada fasulye genotipleri 20 adet SSR belirteci ile değerlendirilmiş ve 18 adet polimorfik SSR bölgesi belirlenmiştir. Mikrosatellitleri ihtiva eden 20 dizi tespit edilmiş ve bu mikrosatellitleri çoğaltmak için primer çiftleri tasarlanmıştır. *P. vulgaris* genotiplerinin bir setinde, yerel

çeşitlerde, hibritlerde ve ek olarak *P. coccineus*'e yakın akraba olan 2 genotipte polimorfizmlerin tespiti için primerler değerlendirilmiştir. 18 polimorfik SSR bölgesi tespit edilmiştir. Genotipler ve *Phaseolus* türleri aynı seviyede polimorfik bulunmuştur.

Lioi ve ark. (2005) tarafından 7 yerel İtalya fasulye çeşidi ile 33 yerel populasyon arasındaki çeşitlilik derecesi SSR ve AFLP belirteçleri kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca besin ve tohum özellikleri de incelenmiştir. SSR ve AFLP belirteçleriyle analiz edilen bütün populasyonlar Güney Amerika ve Orta Amerika olmak üzere 2 gen grubuna ayrılarak, populasyonlar arasında önemli bir heterojenlik oluşmuştur. Sicard ve ark. (2005)'nin çalışmasında, 14 *P. vulgaris*'in yerel genotipi ve 9 *P. coccineus* (ateş fasulyesi) genotipi ISSR, SSR ve kloroplast SSR ile incelenmiştir. SSR yönteminde ateş fasulyesinin daha fazla genetik çeşitlilik içerdiği tespit edilmiştir. Elde edilen veriler ışığında çiftçiler tarafından yapılan seleksiyon çalışmaları ve farklı çevre şartlarına adaptasyon mekanizmasının fasulyede yerel çeşitler içindeki genetik çeşitliliği koruduğu sonucuna varılmıştır.

Buso ve ark. (2006)'nin çalışmasında fasulye genotipleri için SSR belirteçlerinin diğer belirteçlere göre sınırlı sayıda olduğu belirtilerek, polimorfik bant elde edilebilecek 20 adet yeni SSR primerleri dizayn edilmiştir. Benchimol ve ark. (2007) tarafından 20 fasulye materyali 123 SSR belirteci kullanılarak karakterize edilmiştir. Elde edilen bantlardan 87'si polimorfik ve 33 tanesi monomorfik bulunmuştur.

Blair ve ark. (2006) tarafından 44 fasulye genotipi 129 SSR belirteciyle incelenmiş ve Güney Amerika orijinli olan genotipler %53 oranında, Orta Amerika orijinli olan genotipler ise %33,4 oranında polimorfizm göstermiştir. Blair ve ark. (2007), 123 fasulye genotipi üzerinde morfolojik ve 33 SSR belirteciyle karakterizasyon çalışması yapmışlardır. Güney Amerika gen havuzunda morfolojik olarak yüksek çeşitlilik, moleküler belirteçlerde ise düşük çeşitlilik 12 belirlemiştir. Ayrıca, Güney Amerika gen kaynağını Şili, Nueva ve Granada olmak üzere 3 farklı gruba ayırmışlardır.

Hanai ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada 714 genomik sekanstan 471 SSR, 219 EST'den ise 240 SSR lokusu tespit edilmiştir. Brezilya çeşidi ve akraba türü kapsayan Orta Amerika ve And Dağları gen havuzlarından kültüre alınmış 23 adet fasulye genotipinin, bulunan SSR'leri de içerecek şekilde 120 adet SSR, 40 adet EST-SSR kullanılarak moleküler polimorfizmi değerlendirilmiştir. 31 EST-SSR bölgesinin, 2-7 allel veren 26 polimorfik genomik SSR ile karşılaştırıldığında 2-12 allel verdiği ve fasulye genotiplerinin polimorfik olduğu belirlenmiştir.

Desiderio ve ark. (2008)'nin çalışmasında, farklı gen havuzları ve formlarının (yabani ve kültür) tamamını temsil eden 190 adet *P. vulgaris* genotipi analiz edilmiştir. Tüm materyal

17 kloroplast mikrosatelliti (cpSSR) ile analiz edilmiştir. 131 genotipin bir alt grubu, aynı zamanda tüm genom boyunca dağılmış 300 polimorfik AFLP ve 2 STS belirteciyle de analiz edilmiştir. Bu sonuçların *P. vulgaris*'in kökenleri ve kültüre alınmasıyla ilgili olarak kullanılacağı bildirilmiştir.

Zhang ve ark. (2008)'nin çalışmasında fasulyenin Amerika'dan Çin'e 400 yıldan daha önce getirildiği ve şu anda ülkenin pek çok bölgesinde önemli bir ihraç ürünü olduğu bildirilmiş ve 229 adet Çin yerel fasulye çeşidi 30 SSR belirteci ile analiz edilmiştir. Tüm mikrosatellitlerde her lokus için ortalama 5,5 allel olmak üzere toplam 166 allel belirlenmiştir. Farklı gen havuzlarının alt grupları arasında gen akışı (Nm) 0,86 veya daha düşük, gen havuzları içindeki alt gruplar arasında 2,6 veya daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Asfaw ve ark. (2009) tarafından Doğu Afrika'dan (Etiyopya ve Kenya) toplanan 192 yerel fasulye genotipi SSR belirteçleri ve morfolojik yönden incelenmiştir. Genotiplerin Orta Amerika ve Güney Amerika gruplarına ayrıldığını ve ayrıca iki grup arasında da bir karışım olduğunu bildirilmiştir. Etiyopya'dan toplanan genotipler çoğunlukla Orta Amerika gen havuzuna ait çıkarken, Kenya'dan toplanan genotiplerin ise Güney Amerika gen havuzuna ait olduğunu belirlenmiştir.

Coelho ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada Kuzey Portekiz'den topladıkları fasulye gen kaynaklarındaki genetik çeşitlilik, 20 yerel genotip üzerinde agronomik özelliklere bakarak ve SSR (6 lokus) belirteçleriyle saptanmıştır. Blair ve ark. (2010)'nin çalışmasında Güney Afrika'daki 365 fasulye genotipi SSR belirteçleri ile analiz edilmiş ve genotiplerin 132 tanesinin Güney Amerika, 195 tanesinin Orta Amerika, 32 yerel ve 6 çeşidin ise bu iki grup arasında orta formda olduğu tespit edilmiştir.

Del Piano ve ark. (2009)'nin çalışmasında "Fagiolo di Controne" populasyonları, bazı ticari ve yerel italyan varyeteleri, ayrıca italyan fasulye populasyonlarının genetik farklılığı SSR ve ISSR moleküler belirteçleri kullanılarak belirlenmiştir. Araştırmada 22 SSR primerinin sonuçlarına göre 1-9 arasında allel oluşturduğu ve toplam 63 SSR bandı kaydedilmiştir. ISSR analizi 14 farklı primerle yapılmıştır. Bu primerler 14-26 bant oluşturmuş ve polimorfik bantlar gözlemlenmiş, toplam 219 bant bildirilmiştir. Genetik benzerlikleri, Jaccard Benzerlik İndeksi'ne göre ve UPGMA'ya dayalı bir dendrogram oluşturularak hesaplanmıştır. Hem SSR, hem de ISSR'nin polimorfik bantlarına dayanan dendrogramda, "Coco" fasulyeleriyle birlikte "Fagiolo di Controne" populasyonlar birlikte gruplandırılmıştır.

Foschiani ve ark. (2009)'nin çalışmasında İtalya'daki pek çok *P. vulgaris* L. yerel çeşidi arasında ve içindeki genetik farklılıklar 15 fenotipik özellik ve 23 mikrosatellit primeri ile belirlenmiştir. Yeterli ayırım gücü olan bu belirteçlerden 10 tanesi çalışmadaki bütün örnekleri

genotiplemede kullanılmıştır. Kwak ve Gepts (2009) tarafından yapılan çalışmada And Dağları ve Orta Amerikan gen havuzundan 349 adet yabancı ve yerel fasulye genotipinde 26 adet mikrosatellit belirteci ile genetik yapı analiz edilmiştir. Dördü And Dağları ve dördü Orta Amerikan gen havuzundan olmak üzere 9 adet yerel ve yabancı fasulye popülasyonu tanımlanmıştır.

Becerra ve ark. (2010) tarafından Şili fasulye koleksiyonunda polimorfizm düzeyini değerlendirmek, genetik farklılığı ve diğer koleksiyonlarla ilişkisini belirlemek amacıyla SSR belirteçleri kullanılmıştır. Mikrosatellit allel sayısı 2-14, polimorfizm bilgi içeriği 0,08-0,84 arasında, her belirtecin heterozigotluk oranı ise 0-0,052 olarak tespit edilmiştir. Negri ve Tiranti (2010) tarafından tehdit altındaki *P. vulgaris* yerel çeşidinde 26 SSR belirteci kullanılarak doğal koruma alanı içinde ve dışındaki başlangıç popülasyonundan 80 birey değerlendirilmiştir. Doğal koruma alanı dışındaki çoğaltımlarda kullanılan bitki sayısının (120), normal olarak gen bankası yöntemlerinde kullanılan ve de çiftçi tarlasında ayrı olarak korunandan daha fazla olduğu bildirilmiştir. Cabral ve ark. (2011)'nin çalışmasında 31 adet Brezilya yerel genotipi, 20 adet tescilli çeşit ve 6 ticari genotipten oluşmak üzere toplam 57 kuru fasulye genotipinin 16 mikrosatellit primeri kullanarak genetik farklılığı belirlenmiştir. 13 SSR primerinin 29 polimorfik allel verdiği bildirilmiştir.

Garcia ve ark. (2011)'nin çalışmasında 9583 EST içerisinden tespit ettikleri 377 adet EST-SSR ve 167 adet genomik SSR belirteci kullanılmıştır. Fasulye türleri arasında aynı belirteçlerin kullanılabilirliği tespit edilmiştir. Fasulyede en yüksek amplifikasyon oranı %63,7, ortalama polimorfizm bilgi içeriği genomik SSR için 0,53, EST-SSR için 0,47 olarak belirlenmiştir. Fasulye popülasyonları 315 yeni SSR primeriyle test edilmiş, popülasyonlara göre polimorfizm oranının %24 ile %76 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Gill-Langarica ve ark. (2011)'nin yaptıkları çalışmada, 200 genotip ve 10 adet fasulye çeşidinde genetik çeşitliliği belirlemek için; 3 adet AFLP primeri ve 7 adet SSR bölgesi kullanılmıştır. Araştırma sonucunda genetik çeşitlilik, varyasyon ve karşılıklı ilişkiler değerlendirilmiştir. Avila ve ark. (2012)'nin çalışmasında 174 *P. vulgaris* genotipi, 8 *P. augusti*, 2 *P. lunatus* ve 1 *P. coccineus* genotipinden oluşan koleksiyonun genetik çeşitliliği 29 SSR belirteci ile belirlenmiştir. Sonuçlara göre, toplam 311 ve ortalama 10,7 allel ile yüksek polimorfizm bulunmuştur.

Jimenez ve ark. (2012) tarafından Inta Rojo fasulye çeşidinin sertifikasyon sürecinde genetik saflık nedeni ile sorun çıktığı, bugüne kadar çeşidin genetik saflığı için sadece fenotipik yöntemler kullanıldığı bildirilmiştir. Bu nedenle çalışmada farklı tohum kademelerinin genetik saflığı karşılaştırılarak tip dışı bitkilere yönelik 12 adet SSR belirteci kullanılmıştır. Mercati ve



ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada Avrupa'da fasulyenin evrimsel gelişimini belirlemek ve genetik kaynakları doğru bir şekilde yönetmek için bölgede yetiştirilmekte olan 87 fasulye yerel çeşidi, 4 Amerikan genotipi ve 5 İtalyan fasulye çeşidinde SSR belirteçleri kullanılarak analizler yapılmıştır. Yerel çeşitler arasındaki genetik uzaklık Nei katsayısı kullanılarak hesaplanmış ve UPGMA dendrogram analizi yapılmıştır.

Ulukapı ve Onus (2012) tarafından yapılan çalışmada 33 fasulye hattı ve 3 fasulye standart çeşidi 6 SCAR ve 22 SSR belirteci kullanılarak analiz edilmiştir. SSR belirteçlerinin %73'ü polimorfik olarak bulunmuş ve PIC değerleri 0,071 ile 0,379 arasında hesaplanmıştır. Montero-Rojas ve ark. (2013)'nin çalışmasında Haiti, Karayipler, Dominik Cumhuriyeti ve Porto Riko'dan sağlanan lima fasulyesinin genetik yapısı ve farklılığını belirlemek için 24 adet SSR belirteci kullanılmıştır. Karayipler koleksiyonundaki yerel fasulye çeşitlerinin Orta Amerika kökenli olduğu tespit edilmiştir. Genetik çeşitlilik en yüksek Porto Riko, en düşük Haiti yerel çeşitlerinde bulunurken; gözlenen heterozigotluk oranı en yüksek Haiti, en düşük Porto Riko yerel çeşitlerinde tespit edilmiştir. UPGMA analizi, yerel çeşitlerin tüm Haiti çeşitleriyle birlikte 3 grupta gruplandığını göstermiştir.

Bilir ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada 93 yerli ve 9 tescilli fasulye genotiplerinin populasyon yapısının belirlenmesi amacıyla 13 SSR belirteci kullanılmıştır. Çalışma sonucunda 192 SSR alleli belirlenmiş ve ortalama allel sayısı 14,8 olarak hesaplanmıştır. En yüksek allel (29) BM160 lokusunda, en düşük allel (6) BM172 lokusunda gözlenmiştir.

Fasulye'de SNP frekansı nispeten yüksektir, ~588 Mbp genomda 88 bç'de bir SNP gözlenmektedir. Bundan dolayı genomda altı milyondan fazla SNP olması beklenmektedir (Gaitan-Solis ve ark. 2008, Schmutz ve ark. 2014, Blair ve ark. 2018). Nemli ve ark. (2017)'nin çalışmasında Andean ve Mesoamerikan genotiplerinden oluşan 173 fasulye genotipinde 43.018 SNP belirlenmiştir. 16.366 SNP bölgesi populasyon yapısının belirlenmesi ve kümeleme analizinde kullanılmıştır. Ateş ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada 173 fasulye genotipinin çiçeklenme zamanı ilişkilendirme haritası DArT belirteçleri kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada 22.848 SNP bölgesi taranmış ve 20.766 SNP bağlantı dengesizliğinin tahmininde kullanılmıştır. Hem lokasyon hemde yıllara ait veriler birleştirildiğinde 6 SSR belirtecinin istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır.

Raatz ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada Afrika'da ıslahçılar ve ıslah proramlarından elde edilen 708 fasulye genotipinin 800'den fazla SNP kullanılarak tanımlanması yapılmıştır. Çalışma sonunda Andean ve Mesoamerikan gen havuzlarının populasyon yapı analizinde net bir şekilde ayrıldığı gözlenmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada Dünya’da ve Türkiye’nin farklı bölgelerinde ekimi gerçekleştirilen ticari fasulye çeşitleri ve May-Agro Tohumculuk A.Ş. ıslah programından geliştirilmiş ıslah materyallerinden elde edilmiş fasulye (*Phaseolus vulgaris* L., *Phaseolus acutifolius* ve *Phaseolus coccineus*) türlerine ait toplamda 94 genotip (79 ticari çeşit ve ıslah kademesine ait 15 ıslah hattı) kullanılmıştır. Çalışmada yer alan fasulye genotipleri *P. vulgaris* var. *nanus*: Determinate-Oturak (bodur, yer) ve *P. vulgaris* var. *comminus*: Indeterminate-Sırık fasulye formlarından oluşmaktadır.

94 genotip içerisinde; *P. vulgaris* türünden 91 adet (41 adet oturak taze, 11 adet sırık taze, 11 adet oturak barbunya, 8 adet sırık barbunya, 4 adet oturak kuru, 16 adet sırık kuru fasulye), *P. acutifolius* A. Gray türünden 2 adet, *P. coccineus* L. türünden ise 1 adet ıslah kademesindeki oturmuş hat ve ticari çeşitler yer almaktadır. Kullanılan materyallere ait bilgiler Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2’de belirtilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Çalışmada kullanılan fasulye genotiplerinin kodlama sistemi

Oturak Barbunya	OB
Oturak Kuru	OK
Oturak Taze	OT
Sırık Barbunya	SB
Sırık Kuru	SK
Sırık Taze	ST

**Çizelge 3.2.** Çalışmada kullanılan 94 fasulye genotipine ait bilgiler

<b>GENOTİP KODLARI</b>	<b>FORM</b>	<b>ÇEŞİT</b>
OB-1	Oturak	Barbunya
OB-2	Oturak	Barbunya
OB-3A	Oturak	Barbunya
OB-3B	Oturak	Barbunya
OB-4	Oturak	Barbunya
OB-5	Oturak	Barbunya
OB-6	Oturak	Barbunya
OB-7	Oturak	Barbunya
OB-8	Oturak	Barbunya
OB-9	Oturak	Barbunya
OB-10	Oturak	Barbunya
OK-1	Oturak	Kuru Fasulye
OK-2	Oturak	Kuru Fasulye
OK-3	Oturak	Kuru Fasulye
OK-4	Oturak	Kuru Fasulye
OT-1	Oturak	Taze Fasulye
OT-2	Oturak	Taze Fasulye
OT-3	Oturak	Taze Fasulye
OT-4	Oturak	Taze Fasulye
OT-5	Oturak	Taze Fasulye
OT-6	Oturak	Taze Fasulye
OT-7	Oturak	Taze Fasulye
OT-8	Oturak	Taze Fasulye
OT-9	Oturak	Taze Fasulye
OT-10	Oturak	Taze Fasulye
OT-11	Oturak	Taze Fasulye
OT-12	Oturak	Taze Fasulye
OT-13	Oturak	Taze Fasulye
OT-14A	Oturak	Taze Fasulye
OT-14B	Oturak	Taze Fasulye
OT-15	Oturak	Taze Fasulye
OT-16	Oturak	Taze Fasulye
OT-17A	Oturak	Taze Fasulye
OT-17B	Oturak	Taze Fasulye
OT-18	Oturak	Taze Fasulye
OT-19A	Oturak	Taze Fasulye
OT-19B	Oturak	Taze Fasulye
OT-20	Oturak	Taze Fasulye
OT-21	Oturak	Taze Fasulye
OT-22	Oturak	Taze Fasulye
OT-23	Oturak	Taze Fasulye
OT-24	Oturak	Taze Fasulye
OT-25	Oturak	Taze Fasulye
OT-26	Oturak	Taze Fasulye
OT-27	Oturak	Taze Fasulye
OT-28	Oturak	Taze Fasulye

<b>GENOTİP KODLARI</b>	<b>FORM</b>	<b>ÇEŞİT</b>
OT-29	Oturak	Taze Fasulye
OT-30	Oturak	Taze Fasulye
OT-31	Oturak	Taze Fasulye
OT-32	Oturak	Taze Fasulye
OT-33	Oturak	Taze Fasulye
OT-34	Oturak	Taze Fasulye
OT-35	Oturak	Taze Fasulye
OT-36	Oturak	Taze Fasulye
OT-37	Oturak	Taze Fasulye
OT-38	Oturak	Taze Fasulye
SB-1	Sırık	Barbunya
SB-2	Sırık	Barbunya
SB-3	Sırık	Barbunya
SB-4	Sırık	Barbunya
SB-5	Sırık	Barbunya
SB-6	Sırık	Barbunya
SB-7	Sırık	Barbunya
SB-8	Sırık	Barbunya
SK-1	Sırık	Kuru Fasulye
SK-2	Sırık	Kuru Fasulye
SK-3	Sırık	Kuru Fasulye
SK-4	Sırık	Kuru Fasulye
SK-5	Sırık	Kuru Fasulye
SK-6	Sırık	Kuru Fasulye
SK-7	Sırık	Kuru Fasulye
SK-8	Sırık	Kuru Fasulye
SK-9	Sırık	Kuru Fasulye
SK-10	Sırık	Kuru Fasulye
SK-11	Sırık	Kuru Fasulye
SK-12	Sırık	Kuru Fasulye
SK-13	Sırık	Kuru Fasulye
SK-14	Sırık	Kuru Fasulye
SK-15	Sırık	Kuru Fasulye
SK-16	Sırık	Kuru Fasulye
ST-1	Sırık	Taze Fasulye
ST-2	Sırık	Taze Fasulye
ST-3	Sırık	Taze Fasulye
ST-4	Sırık	Taze Fasulye
ST-5	Sırık	Taze Fasulye
ST-6	Sırık	Taze Fasulye
ST-7	Sırık	Taze Fasulye
ST-8	Sırık	Taze Fasulye
ST-9	Sırık	Taze Fasulye
ST-10	Sırık	Taze Fasulye
ST-11	Sırık	Taze Fasulye
<i>P. acutifolius-1</i>		
<i>P. acutifolius-2</i>		
<i>P. coccineus</i>		

### 3.2. Çalışmada Kullanılan Fasulye Ticari Çeşit ve Islah Hatlarının Sera Koşullarında Yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan fasulye ticari çeşit ve ıslah hatları May-Agro Tohumculuk A.Ş.'ye ait Bursa merkez tesislerinde bulunan yetiştirme seralarında, kontrollü ortamda yetiştirilmiştir (Şekil 3.1). Her bir fasulye genotipinden 10 tohum Eylül 2018 ayı içerisinde 2 birim (QTS Substrate Professional) torf, 2 birim kokopit, 1 birim perlit içeren viyollere ekilmiş, sera koşullarında gündüz sıcaklık değerinin 29°C; gece sıcaklık değerinin 25°C; gün uzunluğunun 14 saat; ışıklandırmanın 14000 Watt olması sağlanmış, sulama ise günün erken saatlerinde ılık su ile yapılmıştır. Fasulye materyalleri 3-4 gerçek yapraklı forma geldikten sonra 10 bitkinin en genç yapraklarından alınan yaprak numuneleri bulk edilerek Qiagen Collection (96'lık) tüplere aktararak DNA ekstraksiyonu için -80°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.1. Seradaki fasulye bitkilerinin genel görünümü

### 3.3. Qiagen-DNA Ekstraksiyonu cihazı (QIAcube-HT) ile DNA İzolasyonu

#### 3.3.1. DNA İzolasyon Kiti İçerisindeki Kimyasallar

- Food Lysis Buffer
- Proteinase K
- Buffer AW2 (Wash Buffer 2) (160 ml etanol eklenerek hazırlanır)
- Buffer PB (Binding Buffer)
- Buffer EB (Elution Buffer)
- Turbo Filtre

### 3.3.2. DNA İzolasyonunda Kullanılan Diğer Kimyasallar

- Etanol
- Kloroform

### 3.3.3. DNA İzolasyonunda Kullanılan Sarf Malzemeler

- Collection Microtube Plate
- Collection Microtube Caps
- 1,5 ml mikrosantrifüj kapaklı tüp

### 3.3.4. Qiagen-DNA Ekstraksiyonu Cihazı İçeriğine Dâhil Olan Malzemeler

- S plate
- Elusion Plate
- Pipet uçları
- Tape Pad
- Reaktif Kaplar

### 3.3.5. Ön Hazırlık Aşaması

Fasulye yaprak örnekleri yaklaşık 300 mg ağırlığında olacak şekilde alınarak Collection Microtube Plate'e yerleştirilmiştir. -80°C'de olan derin dondurucuda minimum 15 dakika bekletilerek donma işlemi gerçekleştirilmiştir. Tissue Lyser II cihazında homojenizasyonun sağlanması için 2 dakika boyunca parçalanmıştır (Şekil 3.2). Homojenizasyon işleminin ardından yaprak örneklerine sırası ile

1. Her bir örnek için 1,5 ml Food Lysis Buffer ve 4 µl Proteinase K karışımı hazırlanmıştır.
2. Hazırlanan karışımdan Collection Microtube Plate'deki her bir numuneye 750 µl eklenmiş ve vortekslenmiştir.
3. Numuneler 1,5 ml kapaklı mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır.
4. Food Lysis Buffer-Proteinase K karışımından tekrar 750 µl eklenerek karıştırılmıştır.
5. Toplamda 1500 µl karışım içeren numuneler 60°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sırasında kimyasalın dokulara daha iyi temas etmesi için 2-3 defa çalkalanmıştır.
6. Buz makinesinde 5 dakika bekletilmiştir.
7. 2500 x g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.

8. Üstte kalan temiz fazdan 800 µl alınarak temiz olan 1,5 ml mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır.
9. Üzerine 500 µl kloroform eklenmiş ve vortekslenmiştir.
10. 14000 x g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir.
11. Üstte kalan temiz fazdan 400 µl alınarak cihazın S plate'ine yerleştirilmiştir.



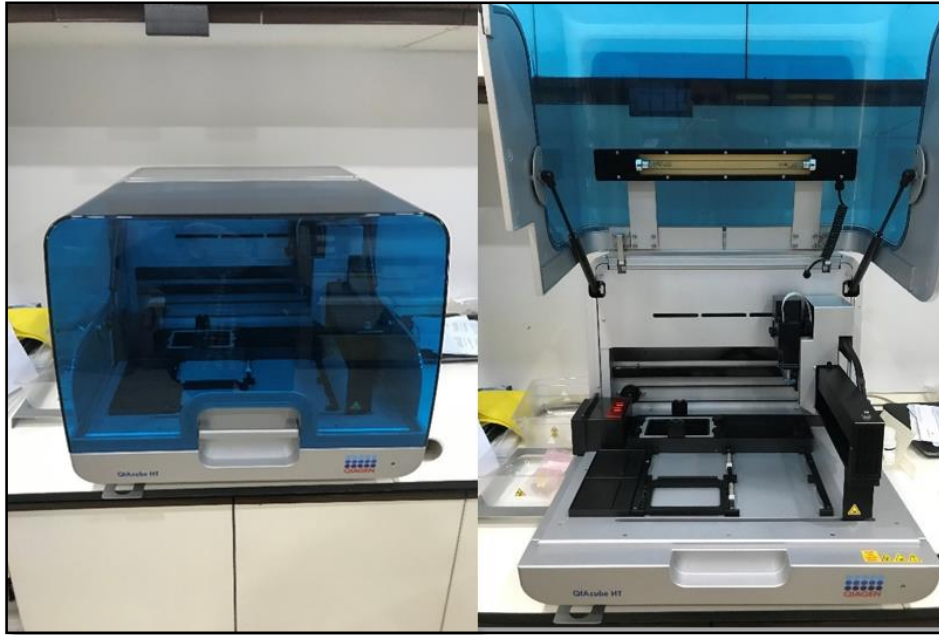
Şekil 3.2. DNA izolasyonu ve kullanılan bazı ekipmanlar

### 3.3.6. Cihaza Yerleştirme ve Çalıştırma Aşaması

12. Cihaz ve bilgisayar açma/kapama tuşuna basılarak açılmıştır (Şekil 3.3).
13. Bilgisayardan QIAcube-protokol uygulaması açılmıştır.
14. 96'lık plate şemasında analizi yapılmak istenen numune sayısı seçilmiştir (Min:8 Max:96 adet) ve <next> tuşu tıklanmıştır.
15. Görev çubuğunda bulunan <open wizard> (sihirbaz şapka) tuşu tıklanmıştır. Açılan pencerede cihaz parçalarını ve kimyasalları yerleştirme düzeni görülebilir.



16. Cihazın kısımlarını yerleştirmeden önce Turbo Filtre ve S Plate ‘Tape Pad’ yardımı ile numune konulmayan kuyucuklara yapıştırılmıştır. Bu işlemin amacı, numune olan kuyucuklardaki vakumlamanın gücünü artırmaktır.
17. Cihazın kısımlarını yerleştirmek için cihaz kapağı açılarak yukarı sabitlenmiştir.
18. <Riser Block (Filter Plate)> kısmına (sol arka) turbo filtre yerleştirilmiştir.
19. Elusion Plate’in alt mavi kısmı ve kapağı çıkarılarak, sağ arka taraftaki kısma yerleştirilmiştir.
20. Numunelerin bulunduğu S Plate, <Lysis (S) Block> kısmına yerleştirilmiştir.
21. Pipet uçları iki kutu olmak üzere yerleştirilmiştir.
22. Buffer AW2, Buffer PB ve Buffer EB kimyasalları hesaplanan miktarda alınıp her biri ayrı ayrı olmak üzere plastik reaktif kaplara aktarılmıştır ve cihaz kapağı kapatılmıştır.
23. Açılan uyarı penceresindeki uyarılar kontrol edildikten sonra <start> denildikten sonra çalıştırma aşaması başlatılmıştır.



Şekil 3.3. Qiagen-DNA Ekstraksiyonu cihazı (QIAcube-HT)

### 3.3.7. Cihazı Kapatma Aşaması

24. Hesaplanan süre bittikten sonra uygulama ekranında <Finish Report> penceresi açılmıştır.
25. Cihaz içerisine yerleştirilen kısımlar tek tek geri alınıp yerlerine yerleştirilmiştir.
26. %70’lik etanol ile cihazın iç temizliği gerçekleştirilmiştir.
27. Daha sonra 15 dakika UV ışın yardımı ile sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.



28. Sterilizasyon işlemi bitince uygulama otomatik olarak kapatılmıştır.
29. Elde edilen DNA'ların miktar ve kalite tayini Thermo Scientific™ NanoDrop™ One Microvolume UV-Vis Spectrophotometer ile ölçülmüştür.
30. İzole edilen DNA'lar -20°C olan buzdolabında saklanmaktadır.

#### **3.4. Mikrosatellit (Basit Dizi Tekrarları-SSR) Lokuslarının Analizi**

Fasulye genotiplerinden izole edilen genomik DNA'ya özgü SSR primerleri kullanılarak SSR lokuslarının çoğaltılması sağlanmıştır. Çeşitli literatür taramaları sonucunda (Yu ve ark. 2000, Gaitan-Solis ve ark. 2002, Blair ve ark. 2003, da Silva 2003, Guerra-Sanz 2004, Loridon ve ark. 2005, Sicard ve ark. 2005, Teixeira ve ark. 2005, Blair ve ark. 2006, Benchimol ve ark. 2007, Mahuku ve ark. 2009) fasulye genotiplerinin genetik çeşitliliğini belirlemek için kullanabileceğimiz SSR lokusları taranmış ve bu araştırmacıların kullandığı SSR lokuslarından polimorfizm oranları yüksek, yeterli polimorfizm sağlanması için allel sayıları yeterli, aynı floresan boya ile işaretli olan primerlerin multipleks PCR analizi yapabilmek için PCR ürünleri farklı uzunluklarda ve PIC (polimorfizm bilgi içeriği) değeri yüksek olan SSR lokusları çalışmada kullanılmak için seçilmiştir. Çalışmada, toplam 10 SSR lokusu (BM141, BM143, BM152, BM160, BM172, GATS91, PV-at002, PV-ctt001, PV-ag001 ve PV-at007) kullanılmıştır (Yu ve ark. 2000, Gaitan-Solis ve ark. 2002). Bu çalışmada, ekonomik olması sebebiyle Schuelke (2000) tarafından geliştirilen M13 işaretleme yöntemi kullanılmış, kullanılan primerler Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında, SSR primerleri için PCR analizleri Yu ve ark. (2000) ve Gaitan-Solis ve ark. (2002)'nin çalışmasındaki reaksiyon koşullarında ve PCR döngülerinde denenmiş, ayrıca laboratuvar şartlarımıza uygun gerekli optimizasyonları yapılmıştır. Optimize edilen reaksiyon şartları Çizelge 3.4'te verilmiştir. Ayrıca optimize edilen PCR döngüleri Çizelge 3.5'de verilmiştir. PCR işlemine başlarken, önce her bir DNA örneğinden yaklaşık 100 ng 0,2 ml PCR tüplerine konulmuş ve daha sonra ise PCR karışımı (mastermix) hazırlanmıştır. Hazırlanan PCR karışımı vorteks karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra her bir tüpe uygun hacimde dağıtılıp son hacim 25 µl olacak şekilde hazırlanmıştır. DNA amplifikasyonları Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5'de gösterilen koşullarda Applied Biosystems® Veriti® Thermal Cycler kullanılarak yapılmıştır.

**Çizelge 3.3.** Çalışmada kullanılan SSR primerlerine ve M13 primerine ait dizi bilgileri

<b>Primer Adı</b>	<b>Primer Dizisi (Sekansı) 5' → 3'</b>
<b>M13-FAM BM141-F BM141-R</b>	<b>5'-FAM-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTTGAGGAGGAACAATGGTGGC 3' 5' CTCACAAACCACAACGCACC 3'
<b>M13-PET BM143-F BM143-R</b>	<b>5'-PET-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTGGGAAATGAACAGAGGAAA 3' 5' ATGTTGGGAAC TTTTAGTGTG 3'
<b>M13-NED BM152-F BM152-R</b>	<b>5'-NED-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTAAGAGGAGGTGCGAAACCTTAAATCG 3' 5' CCGGGACTTGCCAGAAGAAC 3'
<b>M13-VIC BM160-F BM160-R</b>	<b>5'-VIC-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTCGTGCTTGGCGAATAGCTTTG 3' 5' CGCGGTTCTGATCGTGACTTC 3'
<b>M13-FAM BM172-F BM172-R</b>	<b>5'-FAM-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTCTGTAGCTCAAACAGGGCACT 3' 5' GCAATACCGCCATGAGAGAT 3'
<b>M13-FAM GATS91-F GATS91-R</b>	<b>5'-FAM-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTGAGTGCGGAAGCGAGTAGAG 3' 5' TCCGTGTTCTCTGTCTGTG 3'
<b>M13-VIC PV-at002-F PV-at002-R</b>	<b>5'-VIC-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTGTTTTCTTCTTATGGTTAGGTTGTTTG 3' 5' TCACGTTATCACCAGCATCGTAGTA 3'
<b>M13-PET PV-ctt001-F PV-ctt001-R</b>	<b>5'-PET-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTGAGGGTGTTTCACTATTGTCACTGC 3' 5' TTCATGGATGGTGGAGGAACAG 3'
<b>M13-NED PV-ag001-F PV-ag001-R</b>	<b>5' -NED-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTCAATCCTCTCTCTCATTCCAATC 3' 5' GACCTTGAAGTCGGTGTCGTTT 3'
<b>M13-NED PV-at007-F PV-at007-R</b>	<b>5'-NED-TGTA AAAACGACGGCCAGT 3'</b> 5' TGTA AAAACGACGGCCAGTAGTTAAATTATACGAGGTTAGCCTAAATC 3' 5' CATTCCCTTCACACATTCACCG 3'

**Çizelge 3.4.** Çalışmada kullanılan SSR primerleri için optimize edilmiş PCR koşulları

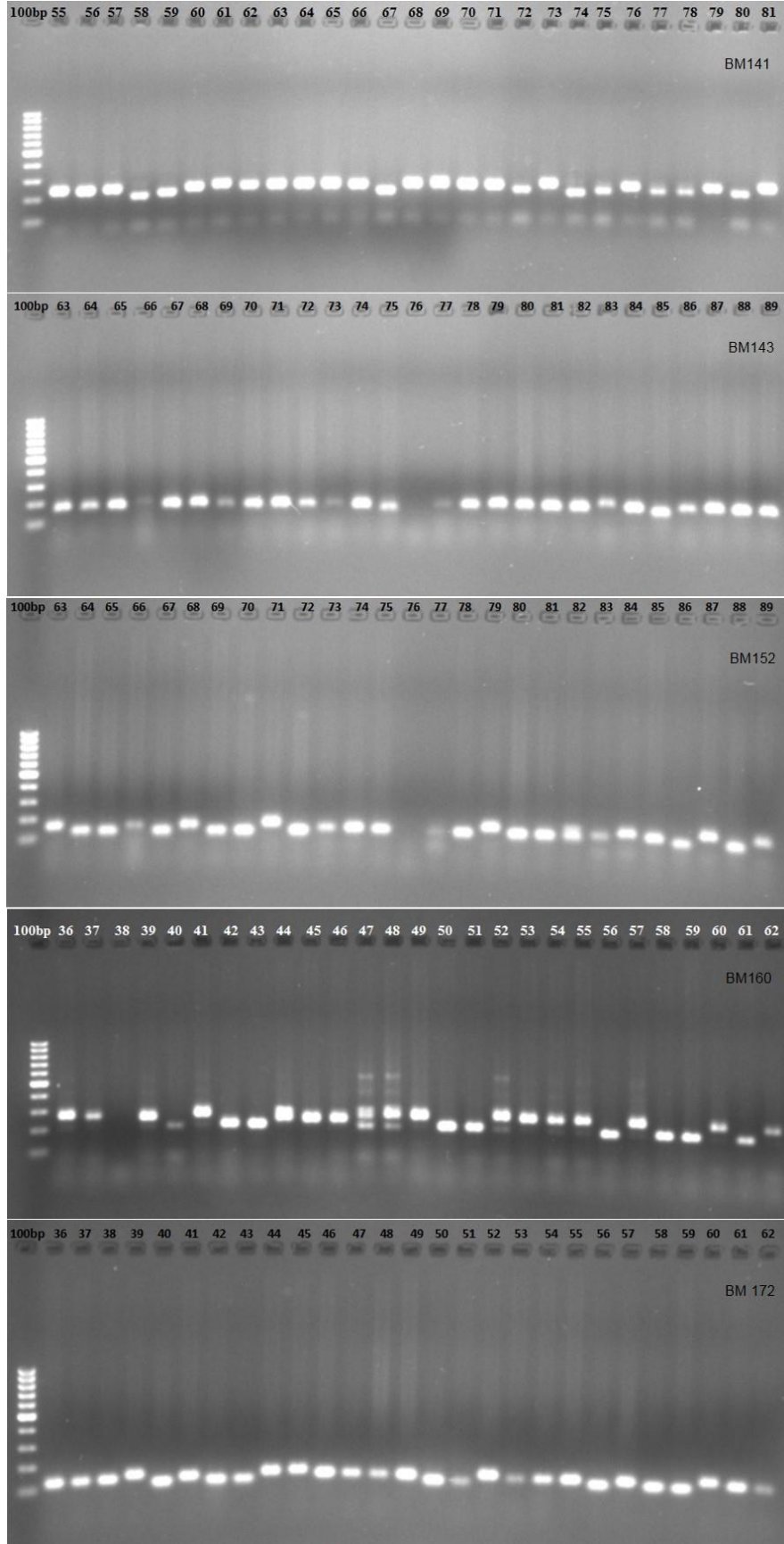
PCR Karışımı	Son Konsantrasyon
<b>10X PCR Tamponu</b>	1X
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	1,5 mM
<b>dNTPs</b>	0,2 mM
<b>M13 Primer</b>	3 pmol
<b>İleri (F) Primer</b>	1 pmol
<b>Geri (R) Primer</b>	3 pmol
<b>Taq DNA Polimeraz</b>	1,5 U
<b>DNA</b>	100 ng

**Çizelge 3.5.** Çalışmada kullanılan M13 işaretli SSR primerleri için PCR döngüleri

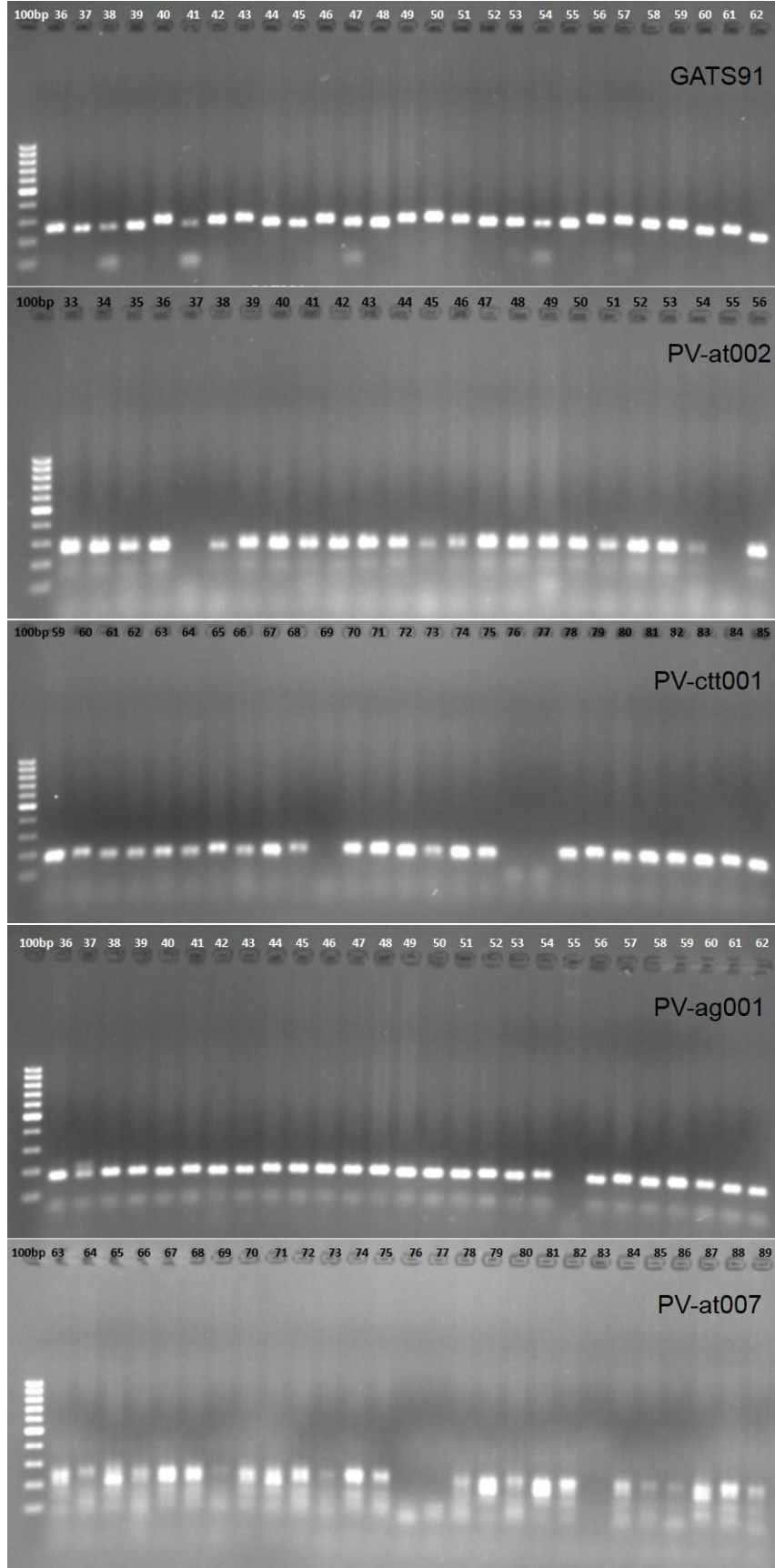
Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
1	94°C	5 dk	1
2	94°C	30 sn	30
	56°C	45 sn	
	72°C	45 sn	
3	94°C	30 sn	10
	53°C	45 sn	
	72°C	45 sn	
4	72°C	10 dk	1

PCR ürünleri elektroforez analizine kadar, alüminyum folyoya sarılmış bir şekilde +4°C’de saklanmıştır. Bantların istenilen bölgede olup olmadığını ve spesifik bağlanmaların olup olmadığını kontrol etmek için RedSafe Nucleic Acid Staining Solution içeren %2’lik agaroz jelde 1X TBE tamponunda 110 Voltta yaklaşık 120 dk yürütülmüştür. Bantlar UV ışık altında Gel Imaning System Vilber Lourmat Quantum ST5 ile görüntülenmiştir (Şekil 3.4, 3.5).

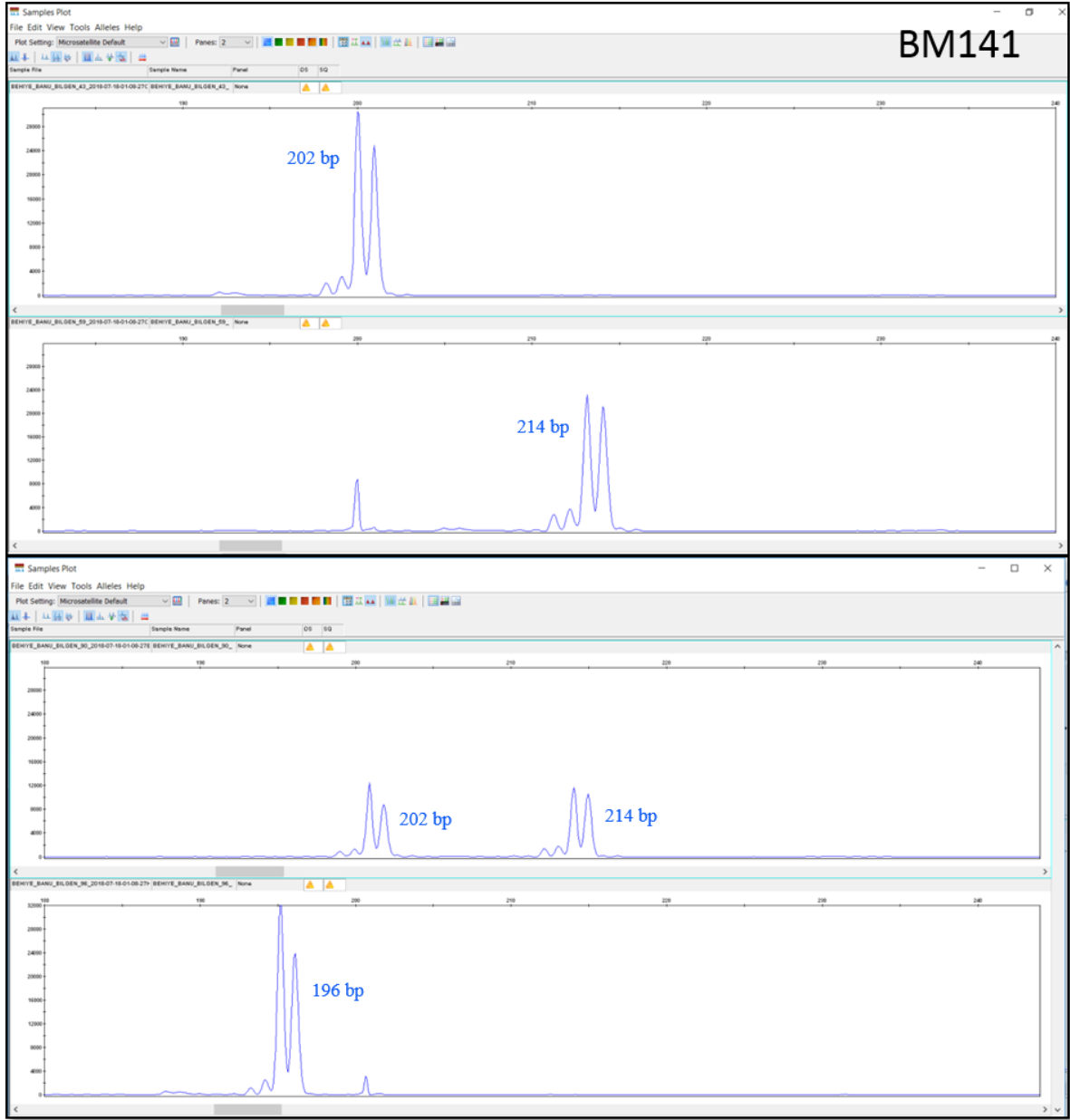
Elde edilen PCR ürünlerinin DNA parça (fragment) büyüklüklerini belirlemek için hizmet alımı yapılmıştır. Çalışılan fasulye genotiplerinin DNA parça (fragment) analizlerinin sonuçları laboratuvarımızda GeneMapper Software 5.0 (Applied Biosystems) yazılımı ile değerlendirilmiş ve primerlerin sahip olduğu allellerin büyüklükleri tespit edilmiştir. GeneMapper Software 5.0 programı yardımıyla incelenen primerlere ait allellerin büyüklüklerini gösteren örnekler aşağıdaki şekillerde verilmiştir (Şekil 3.6-3.15).



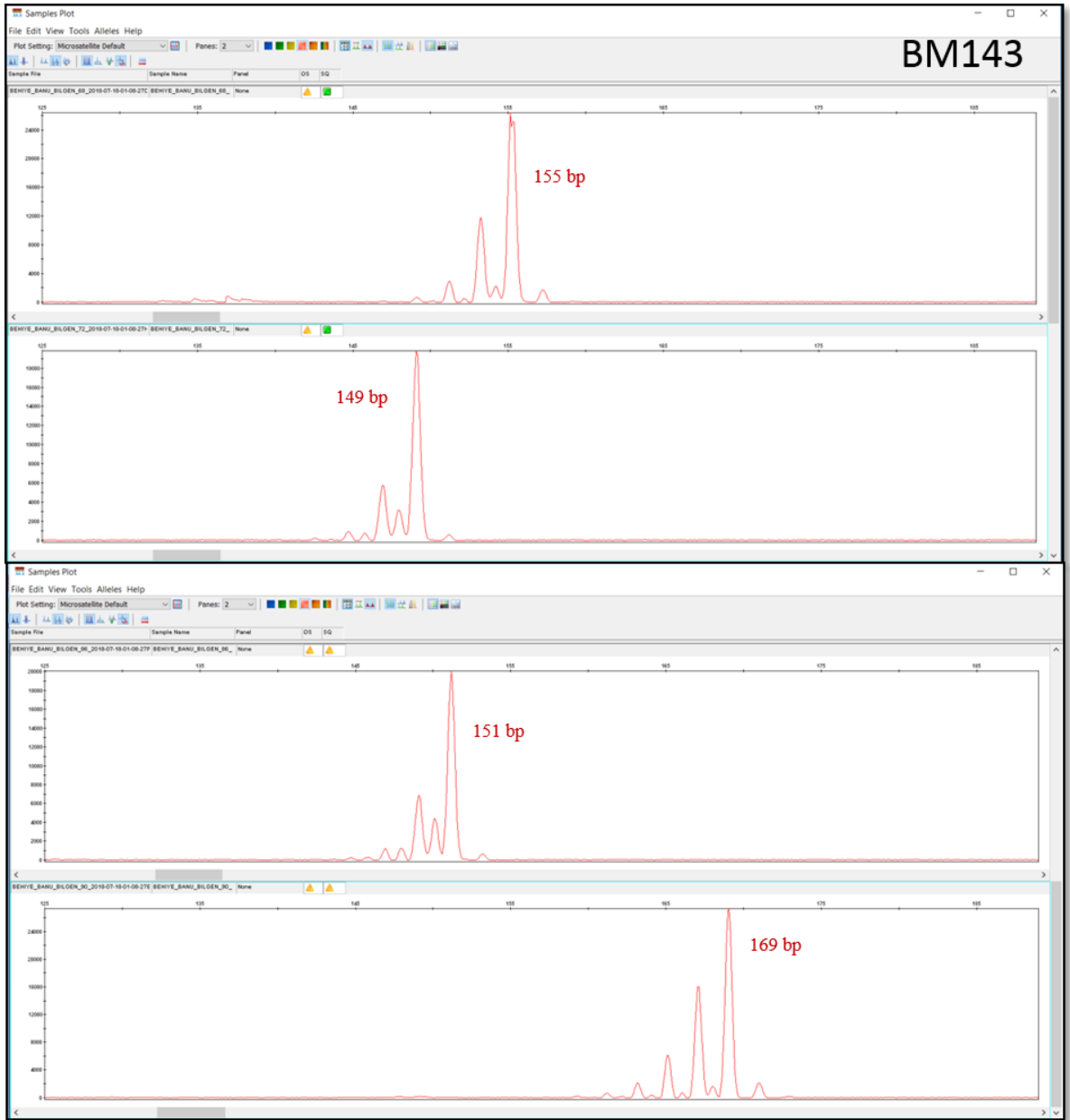
**Şekil 3.4.** Fasulye genotiplerine ait bazı örneklerin PCR ürünlerinin UV ışık altındaki jel görüntüsü (BM141, BM143, BM152, BM160 ve BM172)



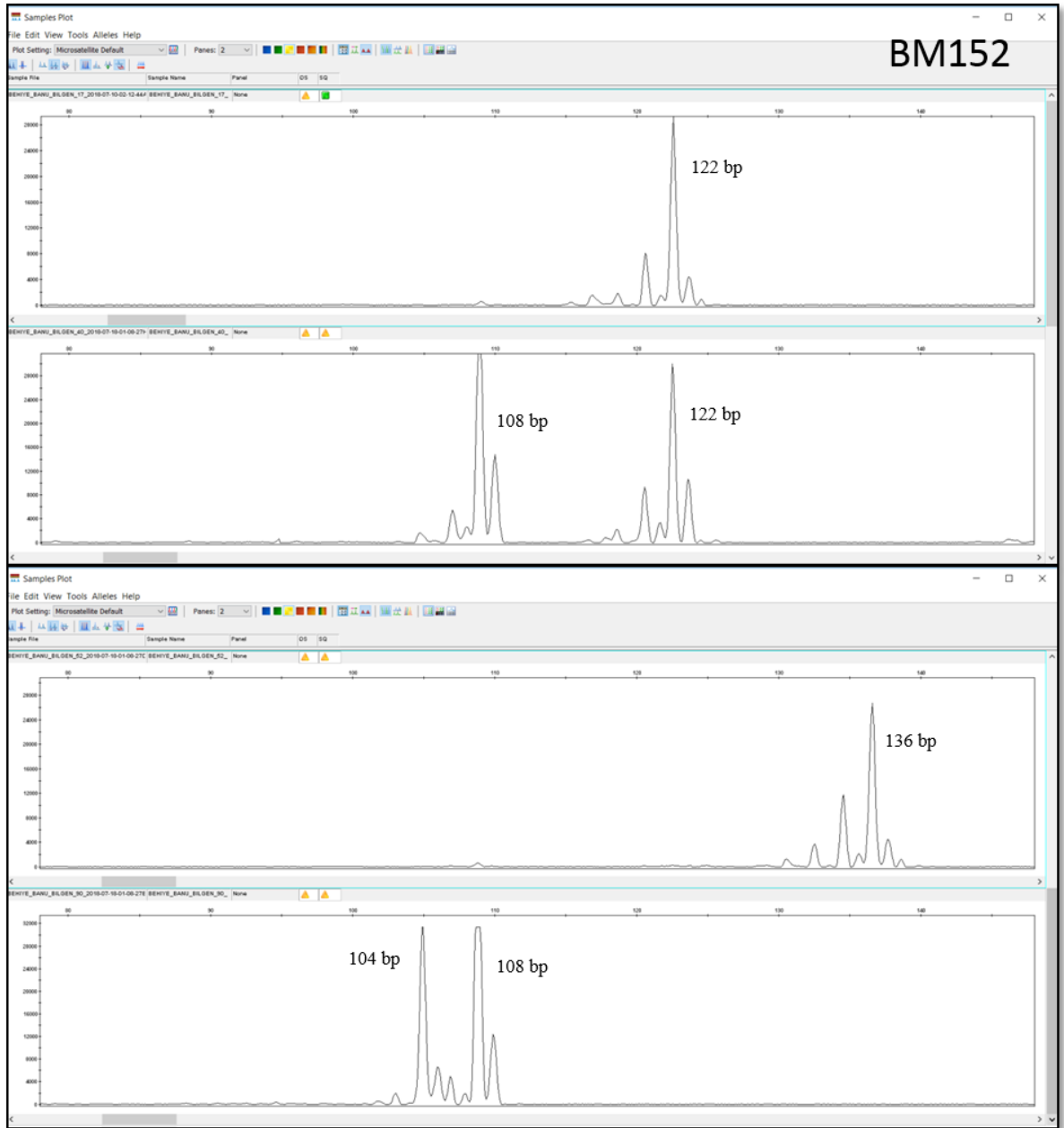
Şekil 3.5. Fasulye genotiplerine ait bazı örneklerin PCR ürünlerinin UV ışık altındaki jel görüntüsü (GATS91, PV-at002, PV-ctt001, PV-ag001 ve PV-at007)



Şekil 3.6. BM141 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü

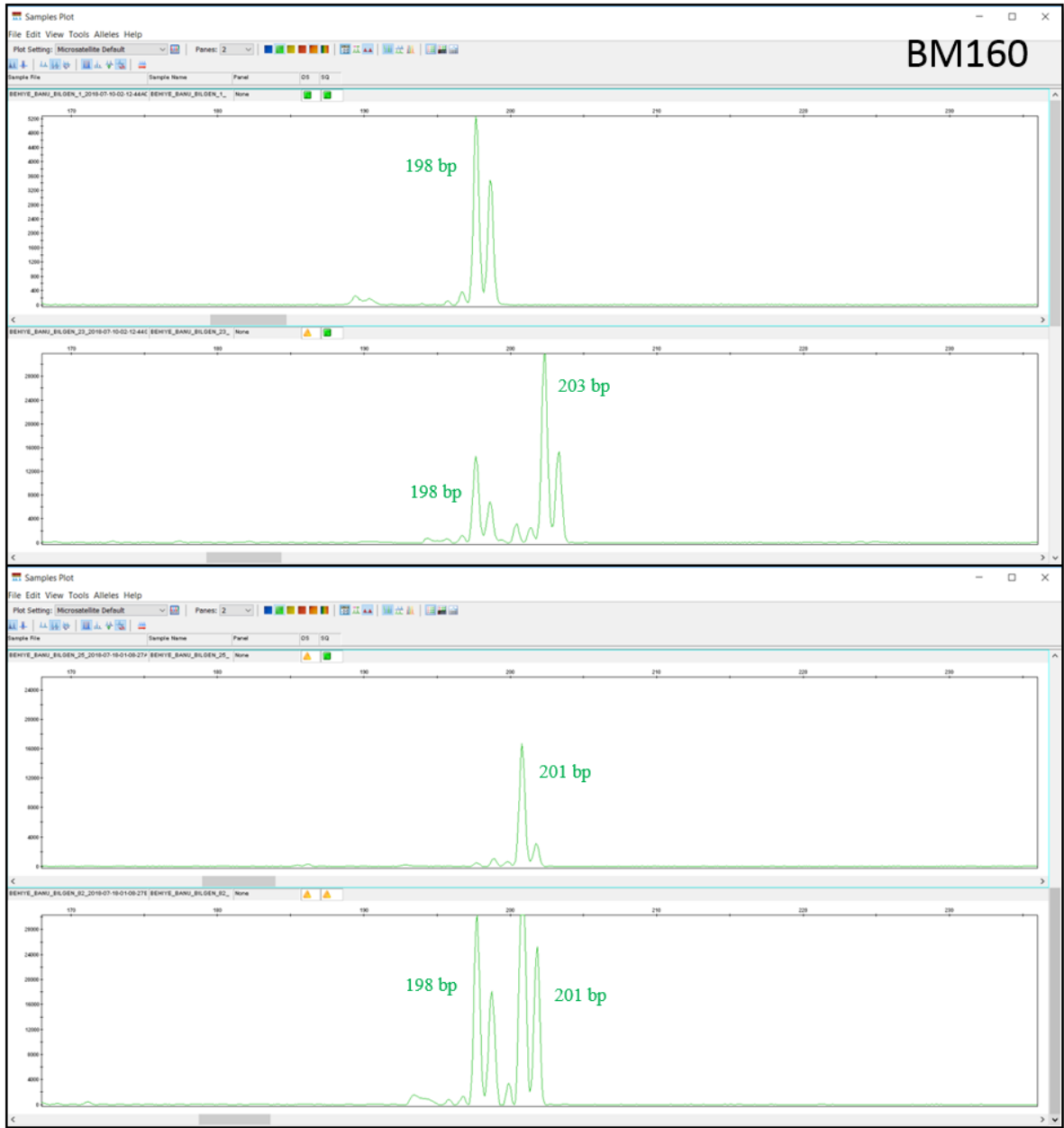


Şekil 3.7. BM143 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü



Şekil 3.8. BM152 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü

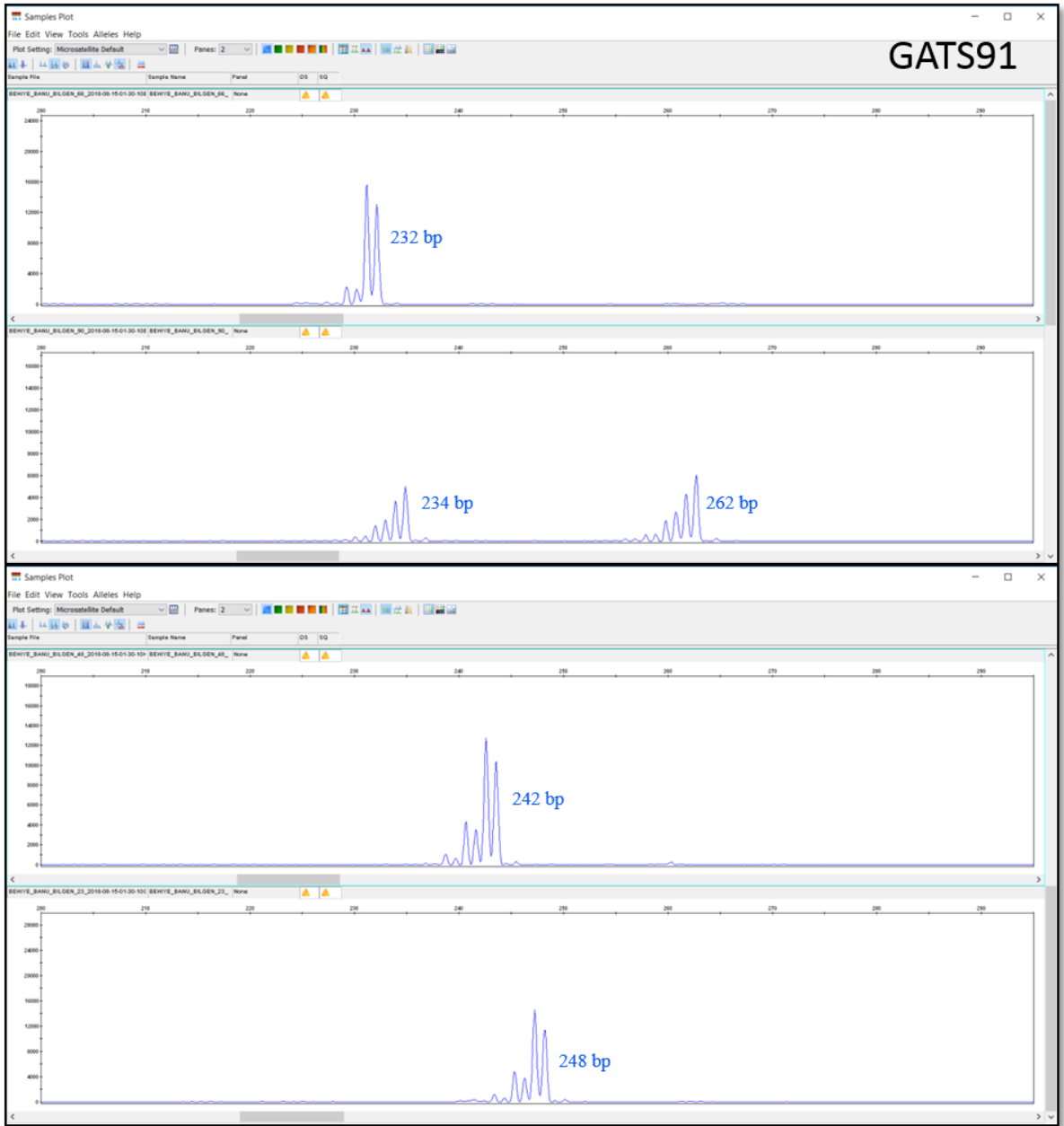




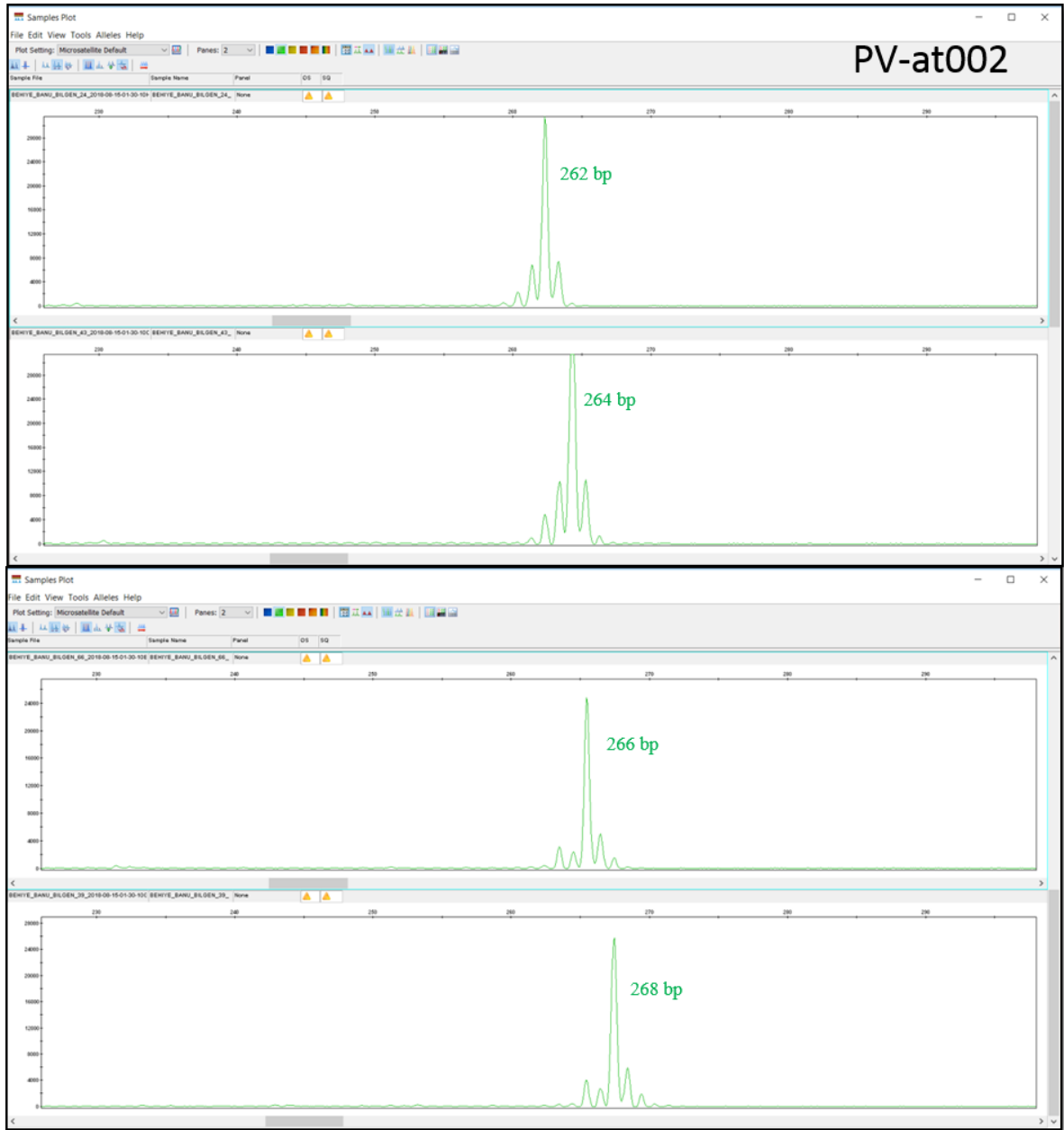
Şekil 3.9. BM160 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü



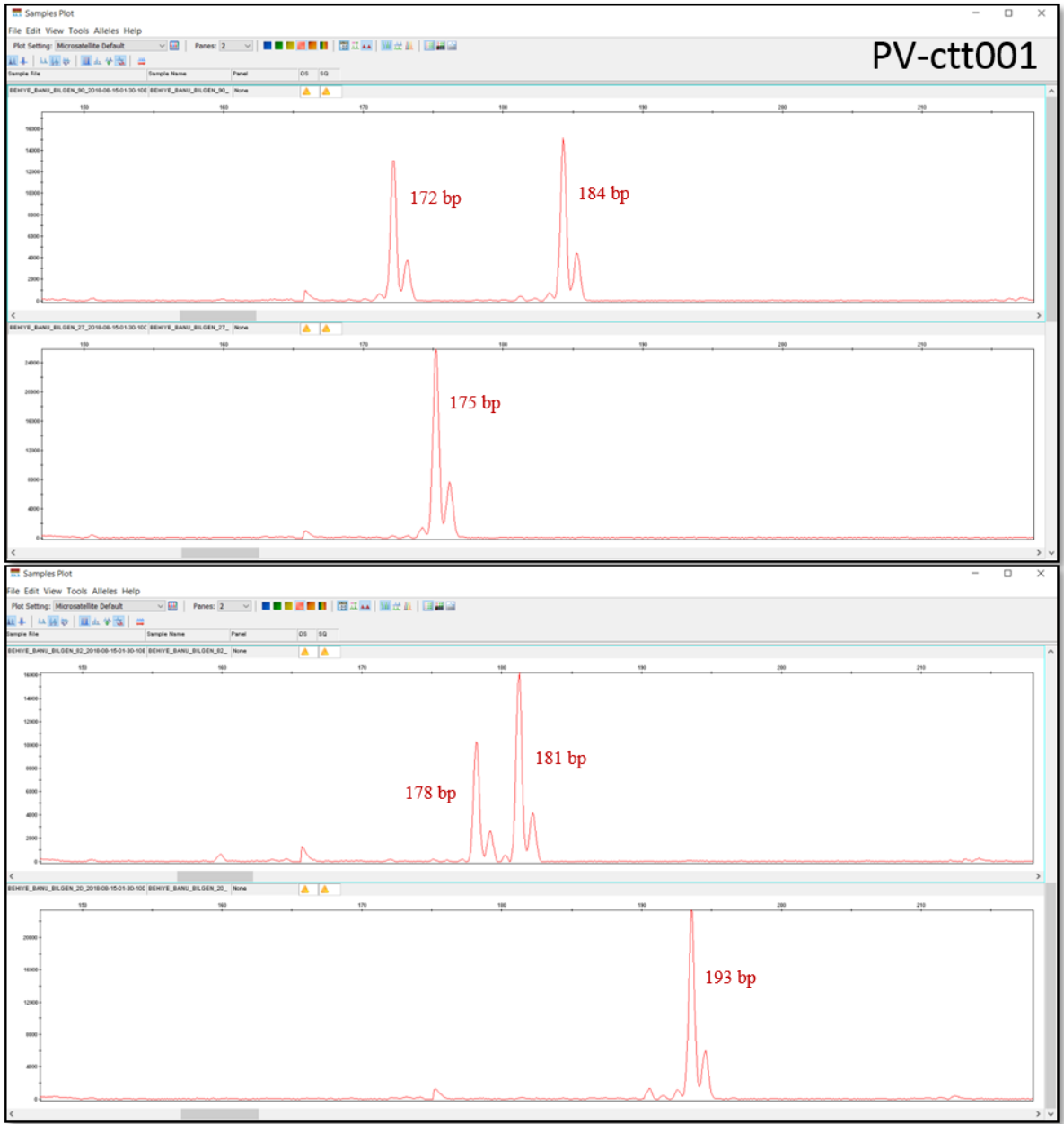
Şekil 3.10. BM172 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü



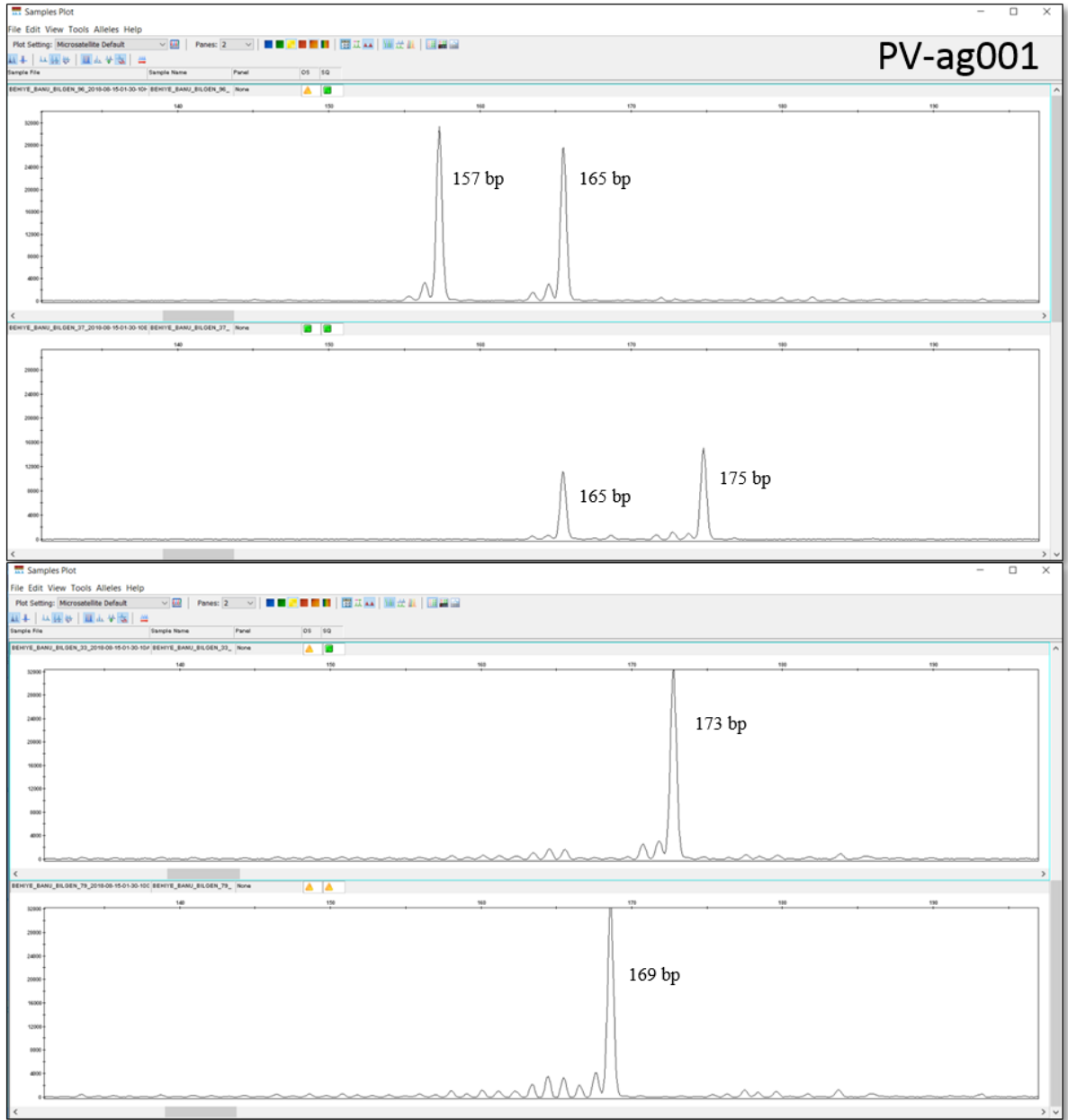
Şekil 3.11. GATS91 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü



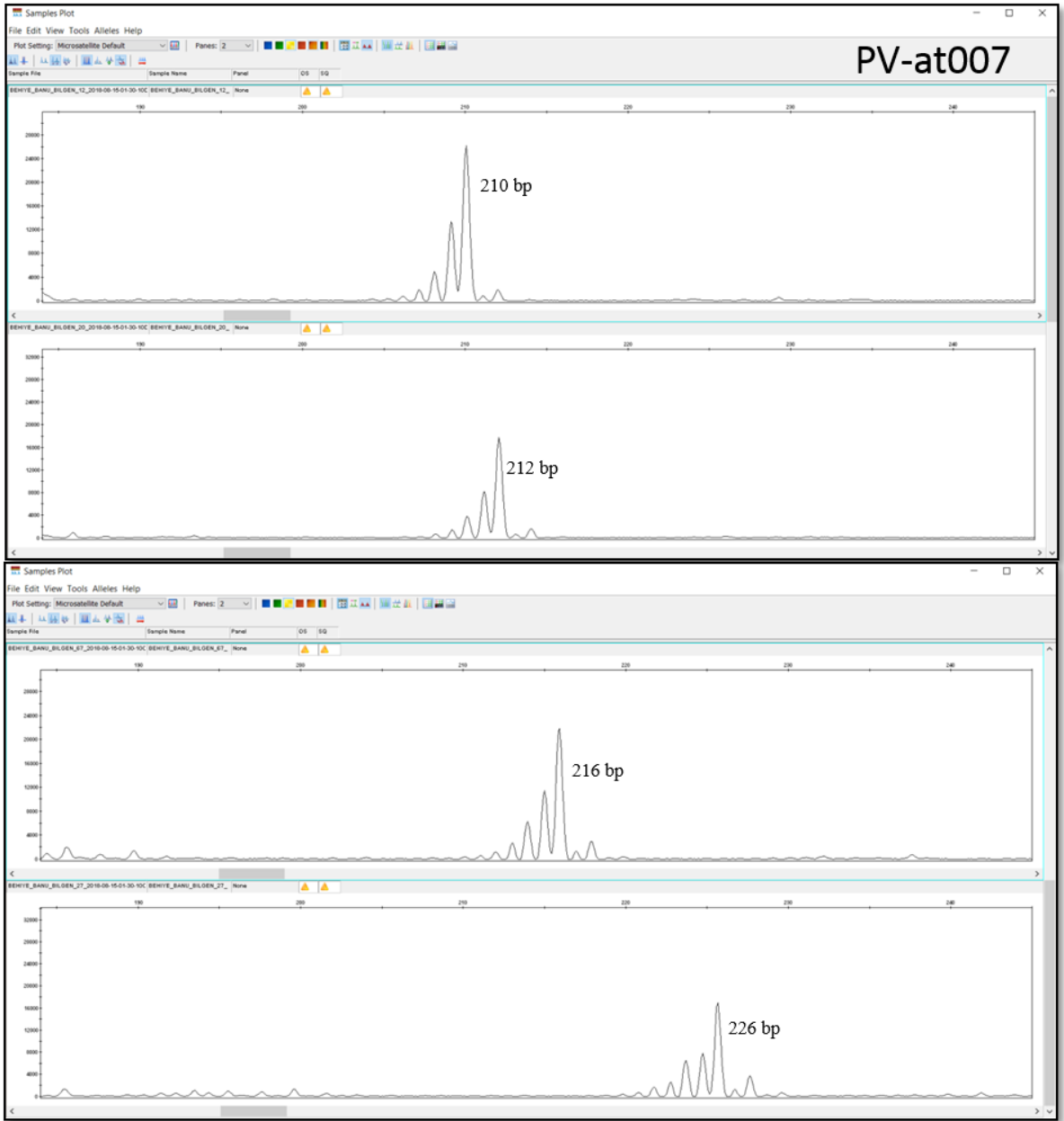
Şekil 3.12. PV-at002 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü



Şekil 3.13. PV-ctt001 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü



Şekil 3.14. PV-ag001 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü



Şekil 3.15. PV-at007 no'lu primere ait bazı allellerin elektroferogram görüntüsü

### 3.5. SSR Verilerinin İstatistiksel Analizi

Bütün populasyonları değerlendirdiğimizde iki ve ikiden daha fazla allele sahip olan mikrosatellit bölgesi polimorfik lokus olarak değerlendirmeye alınmaktadır. Bu sebeple polimorfizm ölçütü olarak, bir lokustaki allel sayısı baz alınmıştır. Çeşit ve populasyonların genetik yapısını belirleyebilmek ve çeşitliliğini saptamak için her birinde, polimorfik lokuslar ve yüzdeleri, polimorfik lokuslarda gözlenen allel sayısı ( $N_a$ ), etkili allel sayısı ( $N_e$ ), Nei (1987)'nin gözlenen heterozigotluk değeri ( $H_o$ ), beklenen heterozigotluk değeri ( $H_e$ ), Shannon sabiti ( $I$ ) ve standart hataları hesaplanmıştır. Polimorfizm yüzdesini belirlemek için, polimorfik lokusların sayısı, toplam lokus sayısına bölünmesi formülü kullanılmıştır. Ortalama allel sayısı, çalışılan her bir populasyondaki her bir lokusun sahip olduğu allel sayısının aritmetik ortalaması alınarak bulunur. Polimorfik bilgi içeriği (PIC), bir belirtecin populasyon içindeki polimorfizm değerini belirlemede kullanılan bir parametredir. PIC değeri, bir lokusa ait allel sayısına ve allellerin populasyon içindeki dağılımına göre değişebilir. Çalışmada kullanılan bireylerdeki her bir nSSR lokusu için polimorfik bilgi içeriği (PIC) değeri, aşağıda verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$PIC = 1 - \left( \sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

Formüldeki " $p$ ", bir nSSR lokusundaki her bir allelin frekansını, " $n$ " ise bir nSSR lokusundaki allel sayısını ifade etmektedir (Botstein ve ark. 1980).

İstatistik analizler için elde edilen veriler GenAEx [(Version 6.5) (<http://biology-assets.anu.edu.au/GenAEx/Download.html>)] (Peakall ve Smouse 2006) istatistik yazılım programı kullanılarak yapılmıştır.

SSR lokus verileri kullanılarak çalışılan fasulye genotiplerinin benzerliklere göre dağılımının belirlenmesi için STRUCTURE 2.3.4 istatistik programı kullanılmıştır (Pritchard ve ark. 2000). STRUCTURE analizi sonucunda ayırt edici alleller kullanılarak çalışılan örnek grubundaki farklı gruplar belirlenmektedir. Eldeki veri setine en uygun K değerinin belirlenmesi için K=1'den K=10'a kadar analizler yapılmıştır (Evanno ve ark. 2005). STRUCTURE HARVESTER programı kullanılarak en uygun K değeri belirlenmiştir (Earl ve vonHoldt, 2012). Uzaklık matrisi ve dendrogramın oluşturulmasında NTSYS-pc Versiyon 2.2 (Numerik Taksonomi Çok Değişkenli Analiz sistemi, Exeter Software, Setauket, N.Y.) bilgisayar programı kullanılmıştır.



### 3.6. SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) Markır Analizi

SNP analizleri için daha önce literatürde yayınlamış ve *Phaseolus vulgaris*'in sahip olduğu 11 kromozomdan tüm genomu temsil edecek şekilde her kromozomun farklı bölgelerinden seçilmiş (Matthew ve ark. 2013) 128 farklı SNP bölgelerinden primer prob dizaynı yapılarak TIB MOLBIOL firmasına gönderilmiştir. TIB MOLBIOL firmasında ileri (F) primerler 5 nmol, geri (R) primerler 5 nmol, proplar 1 nmol olacak şekilde sentezlettirilmiştir. Liyofilize olarak gelen primer ve proplar 20 pM olacak şekilde sulandırılarak asimetrik PCR için kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Elde edilmiş olan DNA'lar, primerler, proplar ve Roche LightCycler® DNA Master HybProbe Master Mix'ler kullanılarak Çizelge 3.6'da belirtilen PCR karışımları hazırlanmıştır. Hazırlanan karışımlar SNP analizleri için, ROCHE -LightCycler® 480 Instrument II Real Time PCR cihazı ile Çizelge 3.7'de belirtilen reaksiyon basamakları, süreleri, sıcaklıkları ve döngü sayıları uygulanarak Asimetrik PCR uygulaması gerçekleştirilmiştir. Literatürden elde edilen (Matthew ve ark. 2013) toplamda 128 SNP primeri, fasulye genotiplerine ait 94 DNA'da polimorfizmin belirlenmesi için kullanılmıştır. Sonuçta bu primerler arasından 73 SNP primerlerinin polimorfik olduğuna karar verilmiş ve tüm örneklerle uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan SNP primerlerin isimleri ve sekans bilgileri EK-1'de yer almaktadır.

**Çizelge 3.6.** SNP PCR işleminde bir örnek için kullanılan karışım içeriği ve miktarları

PCR Karışımı	Kullanılan Konsantrasyon ve Miktar
Hybprobe Master Mix	1 µL
MgCl <sub>2</sub>	20 mM
İleri (F) Primer (20 pM)	2 pM
Geri (R) Primer (20 pM)	10 pM
Probe (20 pM)	4 pM
sdH <sub>2</sub> O	4.9 µL
DNA	125 ng

**Çizelge 3.7.** SNP işleminde uygulanan Real Time PCR analizi için reaksiyon basamakları, süresi, sıcaklıkları ve döngü sayıları

Reaksiyon Basamağı	Reaksiyon Sıcaklığı	Reaksiyon Süresi	°C/sn	Döngü Sayısı
1	95 °C	10 dk	4,4	1
2	95 °C	5 sn	4,4	50
	50 °C	10 sn	2,2	
	72 °C	15 sn	4,4	
3	95 °C	5 sn	4,4	1
	40 °C	15 sn	2,2	
	80 °C	15 sn	0,19	
4	40 °C	30 sn	2,2	1

### 3.7. SNP Verilerinin İstatistiksel Analizi

SNP analizlerinde Real Time PCR işlemi tamamlandıktan sonra Melting Point analizi ile ilgili genotiplerin SNP bölgesindeki reaksiyonları belirlenerek ilgili genotiplerin SNP bölgesindeki reaksiyonları belirlenmiştir. SNP analizlerinde elde edilen ham veriler varlık 1 (bir) veya yokluk 0 (sıfır) durumlarına göre skorlanarak binom veri matrisi oluşturulmuştur. Uzaklık matrisi ve dendrogramlarının değerlendirilmesinde NTSYS-pc Versiyon 2.2 (Numerik Taksonomi Çok Değişkenli Analiz sistemi, Exeter Software, Setauket, N.Y.) bilgisayar programı kullanılmıştır. Çalışılan genotiplerin benzerlik dendrogramlarının oluşturulması için benzer verilerin gruplandırılmasında UPGMA (Unweighted Pair Group Metodu ile Aritmetik Ortalama) ve SAHN (Sequential Agglomerative Hierarchical Nonoverlapping) gruplama programı kullanılarak filogenetik ağaçlar oluşturulmuştur.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Mikrosatellit (SSR) Analizlerine Ait Bulgular

SSR ve SNP analizlerinde kullanılmak üzere izole edilen genomik DNA'ların kalite ve miktar tayini UV spektrofotometre ile ölçülmüş ve ölçüm sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. İzole edilen fasulye genomik DNA miktarları yaklaşık 10 ng ile 68 ng arasında, DNA saflığı ise ortalama  $1,622 \pm 0,281$  olarak hesaplanmıştır.

Mikrosatellit (SSR) primerlerine ait allelleri belirleyebilmek için; analiz edilen her bir primer bir lokus ve her bir primerin çoğalttığı farklı nükleotid uzunluğundaki DNA parçaları tek bir allel olarak değerlendirilmiştir. Bu ilkeyi baz alarak, analiz ettiğimiz 10 SSR primeri için, çalışmada kullanılan 94 (79 ticari çeşit ve ıslah kademesine ait 15 genotip) fasulye genotipinin (*P. vulgaris* = 91 genotip, *P. acutifolius* = 2 genotip, *P. coccineus* = 1 genotip) her birinin sahip olduğu allelleri belirlenmiş olup ve bu allellerin frekansları ayrı ayrı hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). Çizelge 4.2'de çalışmada kullanılan 10 SSR lokusuna (BM141, BM143, BM152, BM160, BM172, GATS91, PV-at007, PV-at002, PV-ag001 ve PV-ctt001) ait primerler, primerlerin tekrar motifleri ve primerlerin sahip olduğu allellerin baz çifti (bç) olarak büyüklükleri belirtilmiştir. Bütün genotipleri bir bütün olarak değerlendirdiğimizde 10 SSR lokusunun tamamı polimorfik olarak saptanmıştır. Ticari çeşit ve ıslah hatlarını ayrı ayrı ele aldığımızda SSR lokuslarının polimorfizm yüzdesi %100 olarak hesaplanmıştır. Çalışılan *P. vulgaris*, *P. acutifolius* ve *P. coccineus* türlerine ait genotiplerde kullanılan 10 SSR lokusu için toplam 89 allel tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan SSR lokuslarından en çok allel (13) BM141, GATS91 ve PV-at007 lokuslarında gözlenmiştir. BM143 ve BM152 lokuslarında 11'er allel, PV-ctt001 lokusunda 7 allel, BM172, PV-at002 ve PV-ag001 lokuslarında ise 6'şar allel saptanmıştır. BM160 lokusu ise 3 allel ile en düşük allel sayısına sahip lokustur.

BM141 lokusunda 196 ile 252 bç arasında toplam 13 allel gözlenmiştir. BM141 için hesaplanan allel frekanslarına bakıldığında 234 bç uzunluğundaki allel en yüksek frekansa sahip alleldir ( $f=0,510$ ). BM141'de gözlenen 13 allelden 7 tanesinin frekansı 0,01'den düşüktür ve bu allelleri nadir allel olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.2). 196 bç büyüklüğündeki allel sadece *P. coccineus*'a ait genotipde gözlenmiştir.

BM143 lokusunda 133 ile 187 bç arasında toplam 11 allel gözlenmiştir. BM143 için hesaplanan allel frekanslarına bakıldığında 149 bç uzunluğundaki allel en yüksek frekansa sahip alleldir ( $f=0,432$ ). 151 ( $f=0,116$ ) ve 155 ( $f=0,195$ ) bç'lik allelleri ise yüksek frekansa sahip diğer allellerdir. BM143'de gözlenen 13 allelden 8 tanesinin frekansı nispeten düşük olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.1.** Fasulye genotiplerine ait genomik DNA'ların miktar ve kalite değerleri

Genotip kodu	DNA miktarı (ng/ul)	DNA Saflığı A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>	Genotip kodu	DNA miktarı (ng/ul)	DNA Saflığı A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub>
OB-1	22,163	1,783	OT-30	13,788	1,499
OB-2	47,447	1,770	OT-31	29,580	1,536
OB-3A	19,098	1,780	OT-32	56,477	2,006
OB-3B	15,006	1,818	OT-33	44,393	1,477
OB-4	13,504	1,798	OT-34	34,232	1,268
OB-5	25,365	1,791	OT-35	68,241	1,223
OB-6	45,504	1,793	OT-36	55,867	1,132
OB-7	28,114	1,776	OT-37	64,095	1,891
OB-8	52,861	1,763	OT-38	50,129	1,489
OB-9	47,581	1,768	SB-1	45,122	1,555
OB-10	27,544	1,790	SB-2	50,257	1,066
OK-1	22,440	1,709	SB-3	51,366	1,187
OK-2	12,050	1,758	SB-4	19,573	1,200
OK-3	41,891	1,458	SB-5	19,164	1,268
OK-4	43,636	1,783	SB-6	23,159	1,128
OT-1	13,511	1,790	SB-7	24,526	1,364
OT-2	56,634	1,747	SB-8	29,445	1,752
OT-3	60,060	1,750	SK-1	54,398	1,781
OT-4	35,583	1,782	SK-2	37,615	1,226
OT-5	25,595	1,777	SK-3	37,643	2,052
OT-6	29,565	1,799	SK-4	29,471	1,158
OT-7	38,348	1,786	SK-5	25,385	1,687
OT-8	33,557	1,737	SK-6	30,595	1,558
OT-9	42,645	1,721	SK-7	39,982	1,308
OT-10	29,355	1,779	SK-8	44,484	1,908
OT-11	37,978	2,539	SK-9	59,081	1,881
OT-12	24,976	1,229	SK-10	45,267	1,365
OT-13	55,922	1,744	SK-11	32,087	1,258
OT-14A	30,271	1,773	SK-12	21,736	1,458
OT-14B	34,956	1,578	SK-13	25,957	1,007
OT-15	50,456	1,876	SK-14	49,473	1,650
OT-16	36,730	1,760	SK-15	45,437	1,448
OT-17A	10,504	1,858	SK-16	57,389	1,589
OT-17B	53,010	1,165	ST-1	36,587	1,256
OT-18	43,245	1,275	ST-2	51,927	1,782
OT-19A	49,641	1,763	ST-3	45,788	1,259
OT-19B	32,207	1,756	ST-4	46,852	1,266
OT-20	19,376	1,770	ST-5	33,591	1,578
OT-21	48,204	1,798	ST-6	31,252	1,225
OT-22	27,591	1,835	ST-7	25,126	1,025
OT-23	22,726	1,788	ST-8	30,266	1,899
OT-24	39,368	1,801	ST-9	14,983	1,874
OT-25	63,752	2,005	ST-10	29,925	1,589
OT-26	50,395	1,811	ST-11	16,483	2,047
OT-27	34,789	1,810	<i>P. acutifolius</i> -1	26,521	1,891
OT-28	25,114	1,773	<i>P. acutifolius</i> -2	51,458	1,236
OT-29	61,259	1,788	<i>P. coccineus</i>	27,451	1,665

BM152 lokusunda 104 ile 150 bç arasında toplam 11 allel saptanmıştır. BM152 için hesaplanan allel frekanslarına bakıldığında 108 bç uzunluğundaki allel en yüksek frekansa sahip alleldir ( $f=0,489$ ). 136 bç'lik allel ikinci yüksek frekansa sahip alleldir ( $f=0,181$ ). BM152'de gözlenen diğer allellerin frekansları nispeten düşük gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

BM160 lokusunda 198 ile 203 bç arasında toplam 3 allel gözlenmiştir. BM160 için hesaplanan allel frekanslarına bakıldığında 198 bç uzunluğundaki allel en yüksek frekansa sahip alleldir ( $f=0,805$ ). 201 bç'lik allel frekansı 0,163 ve 203 bç'lik allel frekansı 0,032 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

BM172 lokusunda 94 ile 128 bç arasında toplam 6 allel belirlenmiştir. BM172 için hesaplanan allel frekanslarına bakıldığında 112 bç'lik allel en yüksek frekansa sahip alleldir ( $f=0,474$ ). BM172'de gözlenen 94 bç'lik allelin frekansı 0,300 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). 128 bç uzunluğundaki allel ise frekansı en düşük alleldir ( $f=0,021$ ).

GATS91 lokusunda 232 ile 276 bç arasında toplam 13 allel saptanmıştır. GATS91 lokusunda en yüksek allel frekansı 248 bç'lik allelde hesaplanmıştır ( $f=0,208$ ). GATS91'de gözlenen 266 ( $f=0,167$ ) ve 272 ( $f=0,182$ ) bç'lik allellerin frekansı nispeten yüksek hesaplanmıştır (Çizelge 4.2). GATS91'de gözlenen 13 allelden 2 tanesinin frekansı 0,01'den düşüktür ve bu alleller nadir allel olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.2).

PV-at007 lokusunda 210 ile 234 bç arasında toplam 13 allel saptanmıştır. PV-at007 lokusunda en yüksek allel frekansı 212 bç'lik allelde hesaplanmıştır ( $f=0,274$ ). PV-at007'de gözlenen 218 ( $f=0,167$ ) bç'lik allel ikinci en yüksek frekansa sahip alleldir (Çizelge 4.2). 234 bç uzunluğundaki allel ise frekansı en düşük alleldir ( $f=0,011$ ).

PV-at002 lokusunda 258 ile 268 bç arasında toplam 6 allel belirlenmiştir. PV-at002 lokusunda en yüksek allel frekansı 262 bç'lik allelde hesaplanmıştır ( $f=0,828$ ). PV-at002'de gözlenen diğer beş allelin frekansları nispeten düşük olarak gözlenmiştir (Çizelge 4.2).

PV-ag001 lokusunda 157 ile 175 bç arasında toplam 6 allel saptanmıştır. PV-ag001 lokusunda en yüksek allel frekansı 175 bç'lik allelde hesaplanmıştır ( $f=0,422$ ). PV-ag001'de gözlenen 165 bç'lik allel ( $f=0,385$ ) ikinci en yüksek frekansa sahip alleldir (Çizelge 4.2). 171 bç uzunluğundaki allel ise frekansı en düşük alleldir ( $f=0,010$ ).

PV-ctt001 lokusunda 160 ile 193 bç arasında toplam 7 allel saptanmıştır. PV-ctt001 lokusunda en yüksek allel frekansı 193 bç'lik allelde hesaplanmıştır ( $f=0,354$ ). PV-ctt001'de gözlenen 181 bç'lik allel ( $f=0,333$ ) ikinci en yüksek frekansa sahip alleldir (Çizelge 4.2). 160 ve 175 bç uzunluğundaki alleller ise frekansı en düşük ve nadir allellerdir ( $f=0,010$ ).

**Çizelge 4.2.** Çalışmada analiz edilen 10 SSR lokusuna ait allellerin fasulye genotiplerindeki frekansları

Lokus	Tekrar Motifi	Allel	f*	Lokus	Tekrar Motifi	Allel	f*
<b>BM141</b>	<b>(GA)<sub>29</sub></b>	196	0,010	<b>GATS91</b>	<b>(GA)<sub>17</sub></b>	232	0,042
		198	0,005			234	0,005
		200	0,021			242	0,094
		202	0,099			244	0,083
		214	0,219			248	0,208
		224	0,010			250	0,021
		228	0,010			262	0,042
		230	0,031			264	0,010
		234	0,510			266	0,167
		236	0,010			268	0,052
		242	0,010			270	0,073
		244	0,052			272	0,182
		252	0,010			276	0,021
		<b>BM143</b>	<b>(GA)<sub>35</sub></b>			133	0,074
149	0,432			212	0,274		
151	0,116			214	0,032		
155	0,195			216	0,097		
165	0,032			218	0,167		
167	0,011			220	0,032		
169	0,021			222	0,022		
171	0,042			224	0,097		
173	0,058			226	0,022		
177	0,011			228	0,032		
187	0,011			230	0,054		
<b>BM152</b>	<b>(GA)<sub>31</sub></b>	104	0,032	<b>PV-at002</b>	<b>(AT)<sub>8</sub></b>	232	0,022
		108	0,489			234	0,011
		118	0,021			258	0,010
		120	0,027			260	0,010
		122	0,090			262	0,828
		134	0,011			264	0,052
		136	0,181			266	0,068
		142	0,021			268	0,031
		144	0,053			157	0,026
		148	0,021			165	0,385
<b>BM160</b>	<b>(GA)<sub>15</sub>(GAA)<sub>5</sub></b>	150	0,053	<b>PV-ag001</b>	<b>(GA)<sub>11</sub></b>	169	0,052
		198	0,805			171	0,010
		201	0,163			173	0,104
		203	0,032			175	0,422
<b>BM172</b>	<b>(GA)<sub>23</sub></b>	94	0,300	<b>PV-ctt001</b>	<b>(CTT)<sub>3</sub>(T)<sub>3</sub>(CTT)<sub>6</sub></b>	160	0,010
		96	0,032			172	0,156
		100	0,032			175	0,010
		112	0,474			178	0,099
		124	0,142			181	0,333
		128	0,021			184	0,036
<b>*f = Frekans</b>						193	0,354

Bu tez çalışması kapsamında kullanılan 10 SSR primerine ait genetik parametreler Çizelge 4.3’de verilmiştir. Çizelge 4.3’e göre, hesaplanan PIC değerleri 0,289 ile 0,854 arasında değişmektedir. Ortalama PIC değeri  $0,621 \pm 0,058$  olarak hesaplanmıştır. PIC değeri en fazla GATS91 primerinde (0,854), en düşük BM160 primerinde (0,289) hesaplanmıştır. SSR lokusunda gözlenen allel sayısı 3 ile 13 arasında (ortalama 8,9) arasında, etkili allel sayısı 1,44 ile 7,539 arasında (ortalama 3,731) değişmektedir.

Analiz edilen bütün genotipler bir bütün olarak ele alındığında en düşük Shannon sabiti (I) değeri 0,579 ile BM160 primerinde, en yüksek Shannon sabiti (I) değeri ise 2,211 ile GATS91 primerinde tespit edilmiştir. Ortalama Shannon sabiti (I)  $1,468 \pm 0,171$  olarak tespit edilmiştir. Gözlenen heterozigotluk değeri (Ho) 0,042 ile GATS91 ve PV-ctt001 lokuslarında en yüksektir. PV-at002 lokusunda ise gözlenen heterozigotluk (Ho) 0,010 değeri ile en düşüktür. Beklenen heterozigotluk değeri (He) 0,867 ile GATS91 lokusunda en yüksektir. PV-at002 lokusunda ise beklenen heterozigotluk (He) 0,306 değeri ile en düşüktür.

**Çizelge 4.3.** Çalışmada kullanılan 10 SSR lokusuna ait genetik parametreler

Lokus	N*	Na*	Ne*	I*	Ho*	He*	PIC*
<b>BM141</b>	94	13	3,096	1,560	0,021	0,677	0,644
<b>BM143</b>	94	11	4,001	1,756	0,011	0,750	0,723
<b>BM152</b>	94	11	3,458	1,689	0,021	0,711	0,686
<b>BM160</b>	94	3	1,479	0,579	0,042	0,324	0,289
<b>BM172</b>	94	6	2,967	1,292	0,021	0,663	0,608
<b>GATS91</b>	94	13	7,539	2,211	0,031	0,867	0,854
<b>PV-at002</b>	94	6	1,440	0,696	0,010	0,306	0,294
<b>PV-ctt001</b>	94	7	3,672	1,469	0,042	0,728	0,683
<b>PV-ag001</b>	94	6	2,934	1,264	0,021	0,659	0,597
<b>PV-at007</b>	94	13	6,723	2,166	0,011	0,851	0,836
<b>Ortalama</b>	94	8,9	3,731	1,468	0,023	0,654	0,621
<b>Standart Hata</b>	-	1,169	0,628	0,171	0,004	0,061	0,058

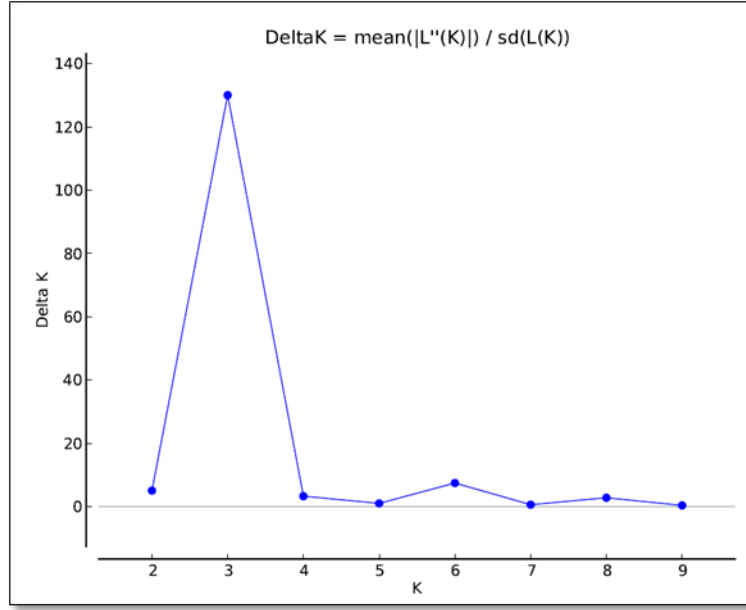
\*N = Örnek sayısı, Na = Gözlenen allel sayısı, Ne = Etkili allel sayısı, I = Shannon sabiti, Ho = Gözlenen heterozigotluk, He = Beklenen heterozigotluk, PIC = Polimorfik bilgi içeriği

Çalışılan 94 farklı fasulye genotipi arasındaki genetik farklılaşma ve filogenetik ilişkinin belirlenmesi için genetik mesafe temelinden farklı olarak Bayesian kümeleme yaklaşımı ile STRUCTURE analizi yapılarak genotiplerin oluşturduğu farklı gruplar belirlenmiştir (Pritchard ve ark. 2000). SSR verilerine dayalı STRUCTURE analizinde, en iyi K değerini hesaplamak için STRUCTURE HARVESTER (Earl ve vonHoldt 2012) programı kullanılmıştır. Her bir K değeri için, en yüksek olasılık gösteren K değeri  $\Delta K$  değeri olarak kabul edilmiş ve bu değer K=3 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Bayesian temelli STRUCTURE analizi sonucuna göre 94 fasulye genotipi genetik olarak kendi arasında 3 ana gruba ayrılmıştır (3 farklı grup; Kırmızı, Yeşil ve Mavi). Elde edilen 3 ana grupta genotiplerin dağılımı Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

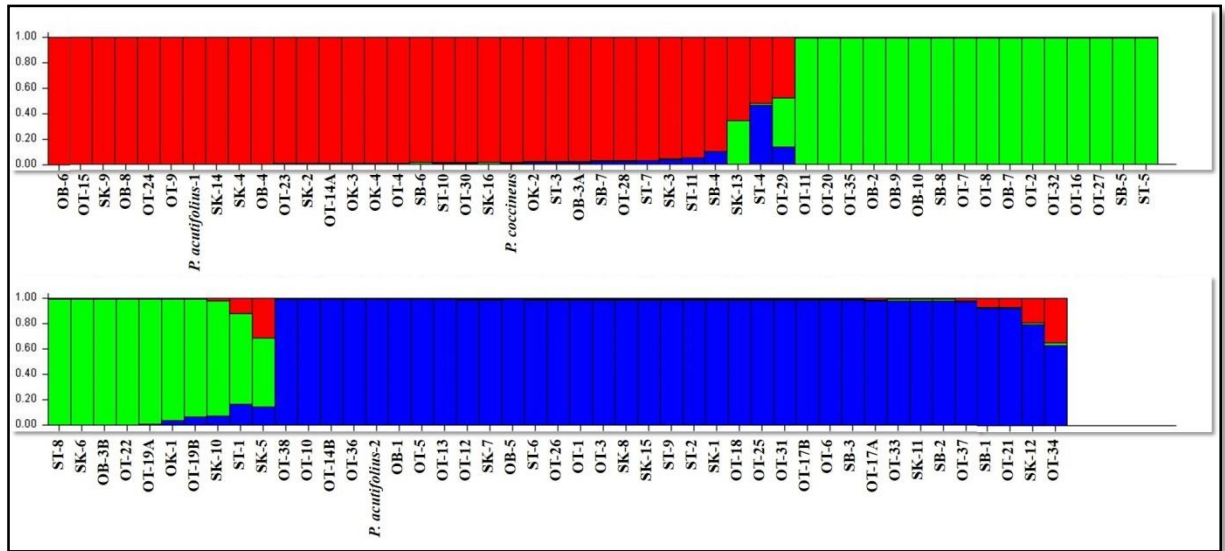
SSR analizlerinde elde edilen ham veriler varlık 1 (bir) veya yokluk 0 (sıfır) durumlarına göre skorlanarak binom veri matrisi oluşturulmuştur. Uzaklık matrisi ve dendrogramlarının değerlendirilmesinde NTSYS-pc Versiyon 2.2 bilgisayar programı kullanılmıştır. Fasulye genotipleri arasındaki benzerliklere göre elde edilen dendrogramdaki genetik çeşitlilik 0,17 ile 1,00 arasında olduğu tespit edilmiştir. OT1/SK15, SK11/SB2, OT28/SK7/SB7, OB3A/ST3 gibi genotip çiftleri arasındaki genetik benzerlik değeri 1,00 olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.3).

Oluşturulan dendrograma bakıldığında 94 fasulye genotipi kendi arasında temelde 2 ana gruba ayrılmıştır. Grup-2’de 7 genotip, Grup-1’de ise 87 genotip yer almıştır. Grup-1 ise kendi arasında 3 alt gruba ayrılmıştır. Şekil 4.3’de verilen dendrogramda sonuç olarak *P. vulgaris*, *P. acutifolius* ve *P. coccineus* türlerini 3 ayrı grup olarak ayırması ve *P. vulgaris* türü içerisinde bulunan oturak taze, oturak barbunya, oturak kuru fasulye ve sırik taze, sırik barbunya, sırik kuru fasulye çeşitlerini ayrı gruplar halinde gruplandırılması beklenilmekteydi. Şekil 4.3’de verilen dendrogramı incelediğimizde SSR analizi sonucu elde edilen veriler ile beklenen ayırımın tam olarak yapılmadığı gözlenmiştir.

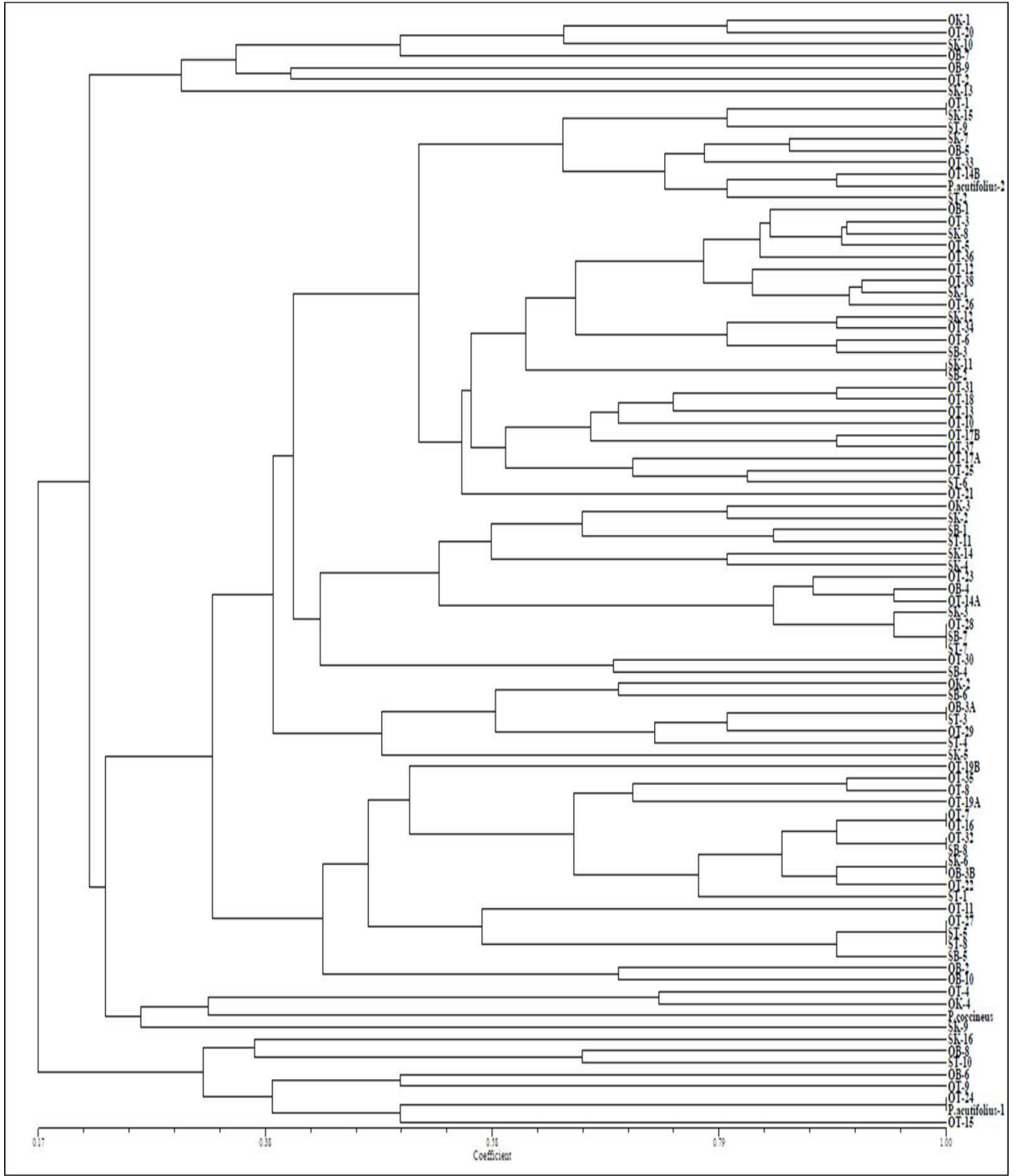




Şekil 4.1. STRUCTURE analizi için uygun K değerinin belirlendiği DeltaK grafiği



Şekil 4.2. SSR lokus verilerinin STRUCTURE analizi (K=3) sonucunda çalışılan fasulye genotiplerinin benzerliklere göre dağılımı (3 farklı grup; Kırmızı, Yeşil ve Mavi)



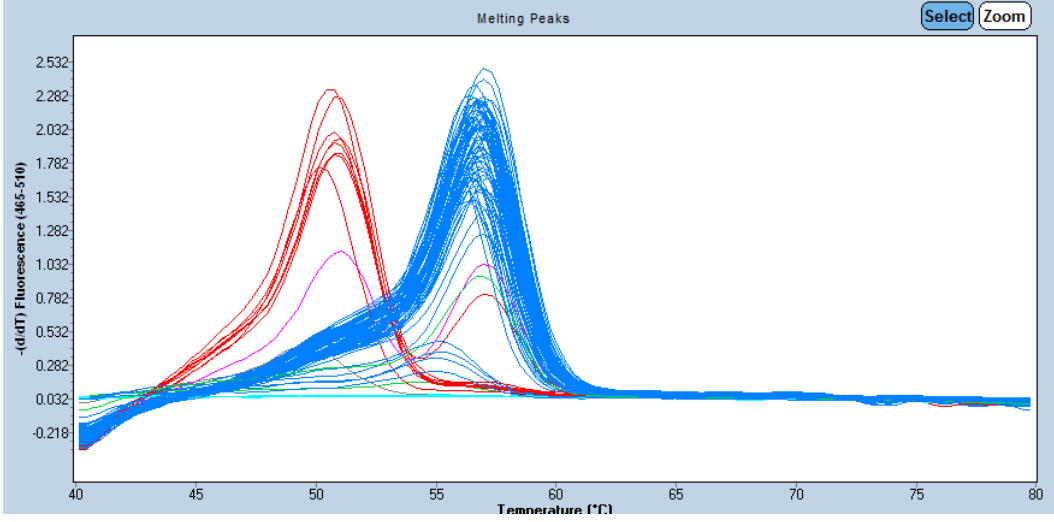
**Şekil 4.3.** Fasulye genotiplerinin SSR analizi sonucunda genetik benzerlik değerlerine göre elde edilen dendrogram

## 4.2. SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) Analizlerine Ait Bulgular

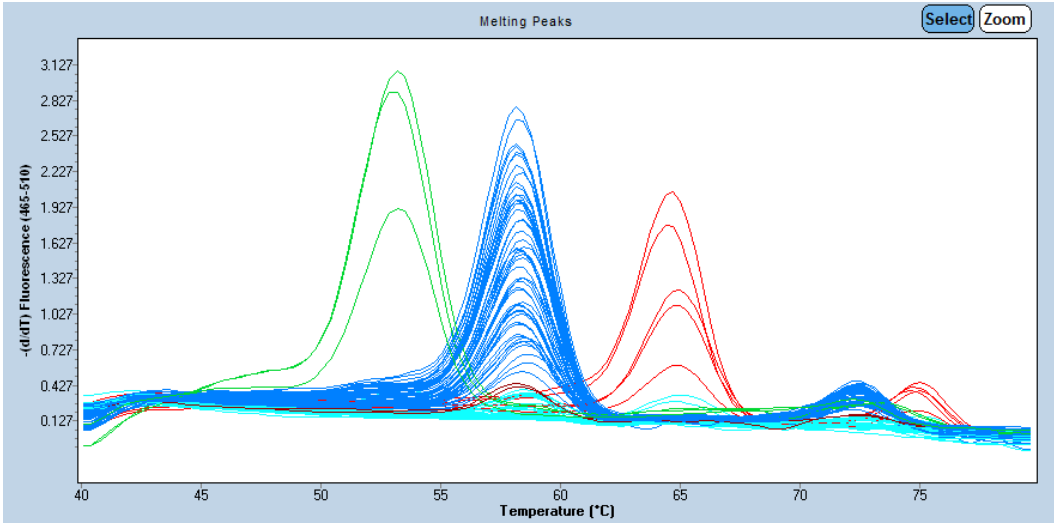
Bu tez çalışmasında *P. vulgaris L. 'nin* sahip olduğu 11 kromozomdan tüm genomu temsil edecek şekilde her kromozomun farklı bölgelerinden seçilmiş 128 SNP primeri denenmiş ve bu primerlerden 73 tanesi polimorfik olarak saptanmıştır. Polimorfik ve monomorfik olarak belirlenen bazı SNP primerlerine ait Erime Eğrisi (Melting Peaks) görüntüsü Şekil 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. Kullanılan SNP primerleri arasında en çok allel grubu SNP51 ve SNP65 (5) kodlu primerlerde gözlenmiştir. En az allel grubu SNP13, SNP22, SNP28, SNP61, SNP62, SNP69 ve SNP72 kodlu (2) primerlerinde gözlenmiştir. SNP primerlerine ait PIC değerleri Çizelge 4.4'de verilmiştir. Hesaplanan PIC değerleri 0,042 ile 0,523 arasında değişmektedir. Ortalama PIC değeri 0,337 olarak hesaplanmıştır. PIC değeri en fazla SNP59 primerinde (0,523), en düşük SNP61 ve SNP69 primerlerinde (0,042) hesaplanmıştır.

SNP analizlerinde elde edilen ham veriler varlık 1 (bir) veya yokluk 0 (sıfır) durumlarına göre skorlanarak binom veri matrisi oluşturulmuştur. Uzaklık matrisi ve dendrogramlarının değerlendirilmesinde NTSYS-pc Versiyon 2.2 (Numerik Taksonomi Çok Değişkenli Analiz sistemi, Exeter Software, Setauket, N.Y.) bilgisayar programı kullanılmıştır. SNP analizleri sonucunda oluşturulan dendrogram Şekil 4.9 ve 4.10'da, SNP ve SSR verileri birleştirilerek oluşturulmuş dendrogram Şekil 4.11'de verilmiştir. SNP analizleri sonucunda oluşturulan dendrogram incelendiğinde genetik çeşitliliğin 0,46 ile 1,00 arasında değiştiği gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan 94 fasulye genotipi dendrogramda 2 ana gruba ayrılmaktadır. Oluşan 2 ana grup aynı zamanda kendi içerisinde alt gruplara ayrılarak farklı fasulye çeşitlerini büyük bir oranla ayırt ederek beklenen alt grupları elde etmede başarılı sonuçlar vermiştir. Şekil 4.9'da verilmiş olan dendrogram detaylı incelendiğinde oturak taze (OT), oturak barbunya (OB), oturak kuru (OK) ve sırik taze (ST), sırik barbunya(SB), sırik kuru (SK) çeşitlerini kendi içerisinde alt gruplara ayırarak beklenen sonuçları başarılı bir şekilde vermiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan standart (kontrol) çeşitler olarak kullanılan *P. acutifolius* ve *P. coccineus* türlerine ait genotipler incelendiğinde ayrı gruplar halinde karşımıza çıkmaktadır.

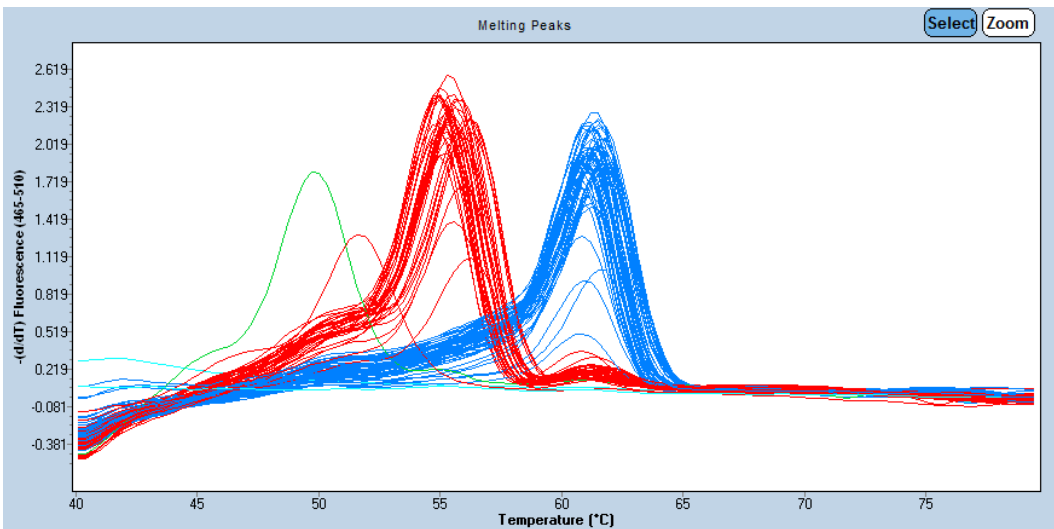
Fasulye genotiplerinin akrabalık derecesi Öklid benzerlik indeksi katsayıları yardımıyla belirlenmiş, SSR ve SNP için 3 boyutlu grafikler oluşturulmuş (EK-2) ve çalışılan fasulye genotiplerinin oluşturduğu kümeler UPGMA dendrogramlarındaki sonuçlarla uyumlu olarak gözlenmiştir.



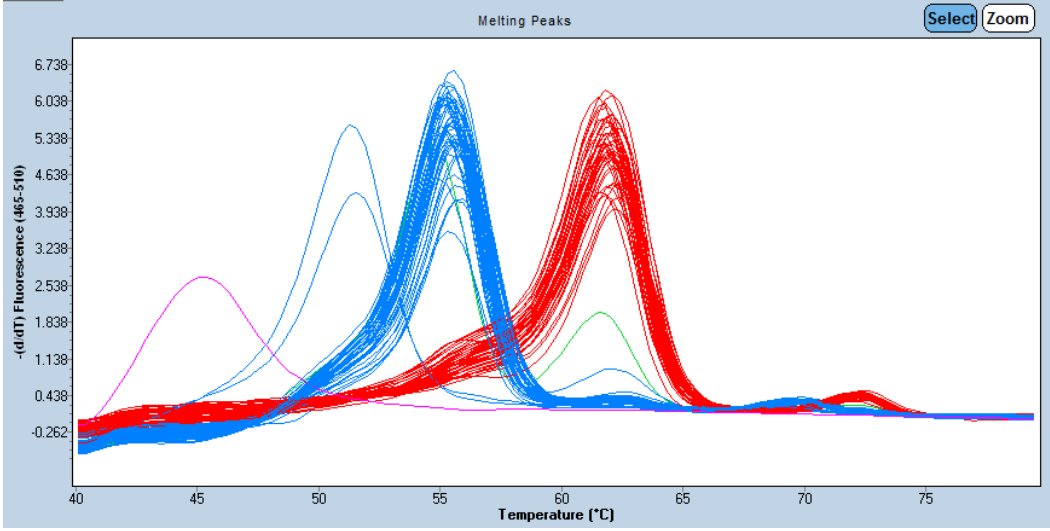
Şekil 4.4. Çalışmada kullanılan polimorfik SNP01 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü



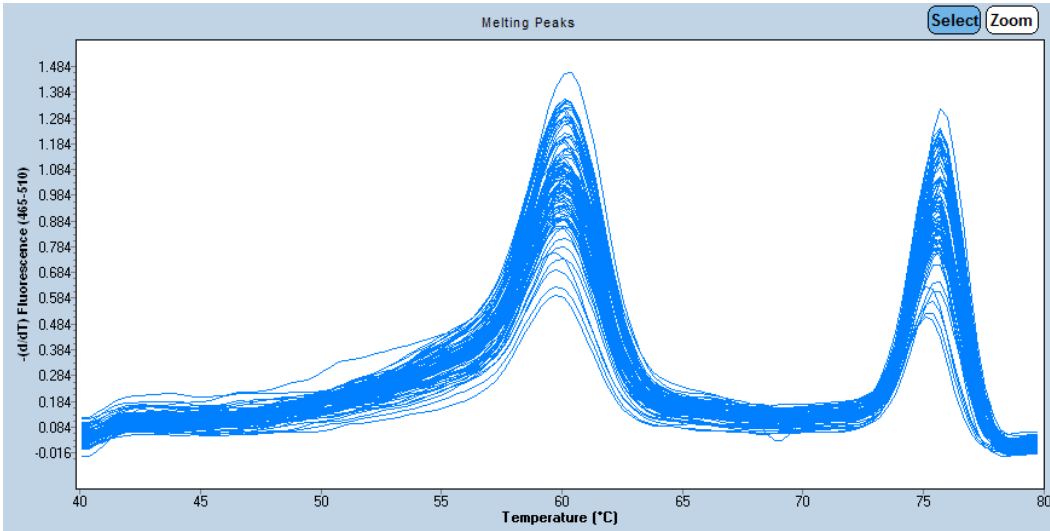
Şekil 4.5. Çalışmada kullanılan polimorfik SNP03 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü



Şekil 4.6. Çalışmada kullanılan polimorfik SNP61 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü



Şekil 4.7. Çalışmada kullanılan polimorfik SNP51 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü



Şekil 4.8. Çalışmada kullanılan monomorfik SNP121 primerinin Erime Eğrisi görüntüsü

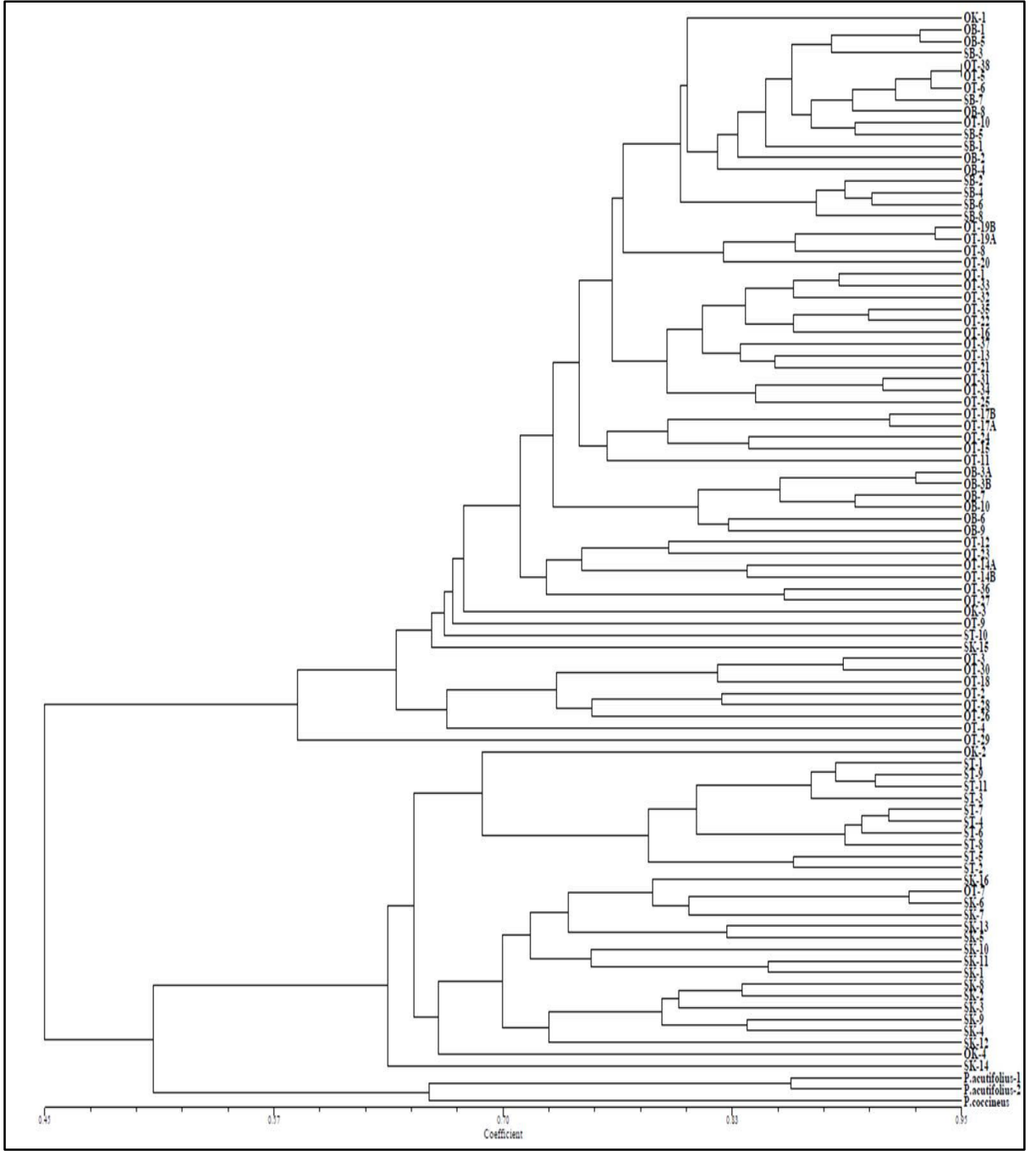
**Çizelge 4.4.** Polimorfik SNP lokuslarında gözlenen allel grupları ve polimorfik bilgi içeriği (PIC) değerleri

SNP Kodu	Allel Grupları	PIC	SNP Kodu	Allel Grupları	PIC
SNP1	3	0,187	SNP38	4	0,450
SNP2	3	0,376	SNP39	3	0,412
SNP3	3	0,371	SNP40	4	0,462
SNP4	3	0,403	SNP41	3	0,399
SNP5	2	0,331	SNP42	3	0,268
SNP6	3	0,394	SNP43	3	0,388
SNP7	3	0,393	SNP44	3	0,411
SNP8	3	0,377	SNP45	4	0,375
SNP9	3	0,405	SNP46	3	0,332
SNP10	3	0,375	SNP47	3	0,386
SNP11	3	0,391	SNP48	3	0,291
SNP12	3	0,349	SNP49	3	0,295
SNP13	2	0,362	SNP50	3	0,149
SNP14	3	0,375	SNP51	5	0,436
SNP15	3	0,314	SNP52	3	0,118
SNP16	4	0,319	SNP53	3	0,152
SNP17	3	0,352	SNP54	3	0,318
SNP18	3	0,329	SNP55	3	0,261
SNP19	3	0,384	SNP56	3	0,385
SNP20	3	0,291	SNP57	2	0,270
SNP21	3	0,386	SNP58	3	0,390
SNP22	2	0,326	SNP59	4	0,523
SNP23	3	0,387	SNP60	3	0,388
SNP24	3	0,378	SNP61	2	0,042
SNP25	3	0,393	SNP62	2	0,116
SNP26	3	0,425	SNP63	3	0,119
SNP27	3	0,388	SNP64	3	0,288
SNP28	2	0,358	SNP65	5	0,458
SNP29	3	0,390	SNP66	3	0,298
SNP30	3	0,349	SNP67	3	0,363
SNP31	3	0,100	SNP68	3	0,391
SNP32	3	0,414	SNP69	2	0,042
SNP33	3	0,163	SNP70	3	0,389
SNP34	3	0,384	SNP71	3	0,466
SNP35	3	0,415	SNP72	2	0,367
SNP36	4	0,407	SNP73	3	0,377
SNP37	3	0,288			









**Şekil 4.11.** Fasulye genotiplerinin SNP ve SSR analizi sonucunda genetik benzerlik değerlerine göre elde edilen dendrogram

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Dünya’da ve Türkiye’nin farklı bölgelerinde ekimi gerçekleştirilen ticari fasulye çeşitleri ve ıslah materyalleri olmak üzere *P. vulgaris*, *P. acutifolius* ve *P. coccineus* türlerine ait toplamda 94 genotip kullanılmıştır. Çalışmada yer alan fasulye genotipleri Determinate-Oturak (bodur, yer) ve Indeterminate-Sırik fasulye formlarından oluşmaktadır. 94 genotip içerisinde; *P. vulgaris* türünden 91 adet (41 adet oturak taze, 11 adet sırik taze, 11 adet oturak barbunya, 8 adet sırik barbunya, 4 adet oturak kuru, 16 adet sırik kuru fasulye), *P. acutifolius* türünden 2 adet, *P. coccineus* türünden ise 1 adet ıslah kademesindeki oturmuş hat ve ticari çeşitler yer almaktadır. Çalışmada kullanılan fasulye ticari çeşit ve ıslah hatları May-Agro Tohumculuk A.Ş.’ye ait Bursa merkez tesislerinde bulunan yetiştirme seralarında, kontrollü ortamda yetiştirilmiştir. Toplanan taze yaprak örnekleri kullanılarak genetik analizler yapılmıştır. Toplanan yaprak örneklerinden DNA izolasyonu yapılarak elde edilen DNA’lar ile EK-1’de verilen 73 SNP primeri ve Çizelge 3.3’de verilen 10 SSR (BM141, BM143, BM152, BM160, BM172, GATS91, PV-at002, PV-ctt001, PV-ag001 ve PV-at007) lokusu PCR ile çoğaltılmış ve genetik yapıları belirlenmiştir. Çalışmada denenen 128 SNP primerinden 73 SNP primerinin polimorfik olduğu gözlenmiş ve tüm örneklerle uygulanmıştır. Çalışılan fasulye genotiplerinde analiz edilen 10 SSR lokusu için toplam 89 allel tespit edilmiştir. Çalışmada analiz edilen 10 SSR lokusuna ait allellerin ticari çeşit ve ıslah hatlarındaki frekansları Çizelge 4.2’de ve çalışılan SSR primerlere ait gözlenen allel sayısı, etkili allel sayısı, Shannon sabiti, gözlenen heterozigotluk, beklenen heterozigotluk, polimorfik bilgi içeriği Çizelge 4.3’de verilmiştir. Polimorfik 73 SNP primerlerinden ve 10 SSR lokuslarından elde edilen ham verilerden oluşturulan dendrogramlar Şekil 4.3, 4.9 ve 4.10’da verilmiştir.

Yapılan moleküler analizler sonucunda Dünya’da ve Türkiye’nin farklı bölgelerinde ekimi gerçekleştirilen ticari fasulye çeşitlerinin yanında aynı zamanda May-Agro Tohumculuk A.Ş. ıslah programından geliştirilmiş ıslah materyallerine ait toplamda 94 genotip için genetik çeşitlilik ve türün genetik yapısı hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir. SSR belirteçleri yüksek polimorfizm göstermeleri, genomda tekrar eden bölgeler halinde bulunmaları ve bu tekrar bölgelerinin genotiplere özgü sayıda olması nedeniyle bitki türleri arasında genetik varyasyonun belirlenmesi ve akrabalık ilişkilerinin incelenmesi çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Oliveira ve ark. 2006). Bu tez çalışmasında kullanılan SSR belirteçleri daha önce farklı fasulye genotiplerinin çeşitlilik analizlerinde de kullanılmıştır. Bu çalışmalarda da bulduğumuz sonuçlara benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu veriler SSR belirteçlerinin güvenilir sonuçlar verdiğini göstermektedir (Blair ve ark. 2003).

Polimorfik bant sayısı, popülasyondaki genetik çeşitliliğin analizinde kullanılan temel parametrelerden biridir ve genotipler arasındaki çeşitliliği belirleyici kriter oluşturmaktadır. Bu tez çalışmasında 10 SSR primeri kullanılarak 89 polimorfik bant elde edilmiştir. Primer başına düşen ortalama polimorfik bant sayısı ise 8,9'dur. Blair ve ark. (2006)'nın çalışmasında Amerika kıtasının farklı bölgelerinden elde edilen 43 adet *P. vulgaris* genotipi ile 1 adet *P. acutifolius* türüne ait genotip arasında ve oluşturdukları popülasyonun genelinde allellik çeşitlilik ve heterozigotluk değeri belirlemek amacı ile SSR analizi yapılmıştır. Bu amaçla genomik ve intergenik (Expressed Sequence Tags, EST) olan toplamda 129 adet SSR belirteci kullanılmıştır. Genomik mikrosatellitler ile elde edilen polimorfizm oranı (0,446) olarak saptanmıştır. Kwak ve ark (2009)'nın çalışmasında, farklı coğrafik bölgelerden toplanan fasulye genotiplerinde 26 SSR primeri ile yapılan analizlerde ortalama allel sayısı 16 olarak belirlenmiştir. Burle ve ark (2010)'nın çalışmasında, Brezilya'dan toplanan 279 fasulye genotipinde 67 SSR belirteci analiz edilmiş ve ortalama allel sayısı 6 olarak hesaplanmıştır. Brezilya fasulyenin gen merkezlerinden biri olduğu için buradaki genotipler arasında yüksek genetik çeşitlilik görüldüğü bildirilmiştir. Cabral ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, Brezilya bölgesinden toplanan 57 kuru fasulye genotipinde genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla 16 SSR belirteci kullanılmıştır. Çalışmada 16 SSR primerinden 13 SSR belirteci polimorfik olarak bulunmuş ve bu belirteçlerden elde edilen allel sayısı 29 ve lokus başına düşen ortalama allel sayısı 2,2 olarak hesaplanmıştır. Sarıkamış ve ark (2009)'nın çalışmasında 30 fasulye genotipinde kullanılan 12 SSR primerinin 10 tanesi polimorfik olarak saptanmış ve toplam allel sayısı 45 (lokus başına 2 ile 10 arası) olarak bildirilmiştir. Khaidizar ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada Kuzey Anadoludan örneklenen fasulye genotiplerinde 30 SSR lokusunda 72 allel belirlenmiştir. Bilir ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada 13 SSR belirtecinde toplam 192 allel belirlenmiş ve lokus başına düşen ortalama allel sayısı 14,8 olarak bildirilmiştir. Ekbiç ve Hasancaoğlu (2019)'nun çalışmasında fasulye genotiplerinde 18 SSR lokusuna ait 63 allel (polimorfizm oranı %73) ve lokus başına düşen ortalama allel sayısı 2,55 olarak belirtilmiştir. Araştırmacıların elde ettiği ortalama polimorfik bant sayısı bu tez çalışmasından elde ettiğimiz değerlere yakındır.

Bu tez çalışmasında kullanılan SSR lokuslarından en çok allel (13) BM141, GATS91 ve PV-at007 lokuslarında gözlenmiştir. BM143 ve BM152 lokuslarında 11'er allel, PV-ctt001 lokusunda 7 allel, BM172, PV-at002 ve PV-ag001 lokuslarında ise 6'şar allel saptanmıştır. BM160 lokusu ise 3 allel ile en düşük allel sayısına sahip lokustur. Cabral ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada, BM141 SSR primeri en çok allelle sahip ve en yüksek PIC değerine sahip primerdir. Çalışmada ortalama PIC değeri 0,27 olarak belirlenmiştir. Cabral ve

ark. (2011)'nin çalışması ile bu tez çalışmasından elde edilen sonuçları karşılaştırdığımızda, tez çalışmasında da BM141 SSR primeri en çok allele (13 allel) sahip olarak gözlenmiş ve sonuçlarda büyük bir yakınlık olduğu tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında kullanılan SSR primerlerinin ortalama PIC değeri 0,621 olarak bulunmuştur. Ulukapı ve Onus (2013)'un çalışmasında 22 SSR lokusunda polimorfizm oranı %73 ve PIC değerleri 0,047 and 0,373 arasında saptanmıştır. Ekbiç ve Hasancaoğlu (2019) tarafından yapılan çalışmada Ordu ilinden toplanan 33 yerli fasulye genotipinde 18 SSR lokusunda PIC değerleri 0,06 ile 0,82 arasında değişmiştir. Kwak ve ark. (2009), fasulyede SSR primeri kullanılarak yaptıkları genetik çeşitlilik çalışmasında ortalama PIC değerini 0,62 olarak bildirmiştir. Burle ve ark. (2010)'nin çalışmasında ise ortalama PIC değeri 0,49 olarak saptanmıştır. De Luca ve ark. (2018), İtalyan yerli fasulye genotiplerinde mikrosatellit belirteç analizi sonucunda PIC değerini 0,315 ve 0,928 arasında rapor etmiştir. Pereira ve ark. (2019) tarafından 17 fasulye çeşidi kullanılarak yapılan çalışmada 33 SSR lokusunun ortalama allel sayısı 4,15 ve ortalama PIC değeri 0,5 olarak bildirilmiştir. Bilir ve ark. (2019)'nin çalışmasında en yüksek allel sayısı (29) BM160 lokusunda gözlenmiştir. Bilir ve ark. (2019)'un çalışması ve bu tezde ortak kullanılan SSR lokuslarına baktığımızda GATS91 lokusunda 13 allel, BM141 ve BM143 lokuslarında 10 allel, PV-ctt001 lokusunda 16 allel ve PV-at002 lokusunda 12 allel bildirilmiştir. Çalışmalar arasında ortak kullanılan SSR lokuslarında farklı allel gözlenmesi beklenen bir durumdur, çünkü çalışılan fasulye popülasyonlarının özellikleri, coğrafik dağılışı ve örneklenen birey sayısı farklılık göstermektedir.

Çalışmamız sonucunda genetik çeşitlilik parametrelerinden biri olan Shannon sabiti (I) en yüksek (2,211), en düşük (0,579) olarak hesaplanmıştır. Yüksek I değeri (ortalama 1,468) genotipler içindeki varyasyonun yüksek olduğunun göstergesidir. Bu çalışmada gözlenen ortalama heterozigotluk değeri ( $H_o$ ) 0,023 ve beklenen ortalama heterozigotluk değeri ( $H_e$ ) ise 0,654 olarak hesaplanmıştır. Bu tez çalışmasında kullanılan genotipler ticari çeşit ve ıslah materyallerine ait olduğundan örneklerin çoğu homozigot genotipe sahiptir ve bu nedenle  $H_o$  düşük gözlenmiştir. Bilir ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada gözlenen heterozigotluk değeri 0,452, beklenen heterozigotluk değeri 0,724 olarak hesaplanmıştır. Valentini ve ark. (2018)'nin çalışmasında Brezilya'dan örneklenen 109 fasulye genotipinde 18 SSR lokusunda yapılan genetik çeşitlilik analizi sonucunda toplam 65 allel (ortalama 4), ortalama PIC değeri 0,36 ve genetik çeşitlilik ( $h$ ) ise 0,44 olarak bildirilmiştir. Valentini ve ark. (2018) tarafından yapılan STRUCTURE analizinde  $K=4$ 'de iki Andean ve iki Mesoamerikan genotiplerinin kendi içinde kümelendiği 4 grup gözlenmiştir. Pereira ve ark. (2019)'nin çalışmasında 17 fasulye çeşidinde yapılan SSR analizi sonucunda  $H_e$  0,55 ve  $H_o$  0,05 olarak bildirilmiştir. Pereira ve

ark. (2019)'nın toucher yöntemi kullanılarak ve 27 SSR lokusunu değerlendirmeye alarak yaptıkları kümeleme analizinde 17 fasulye genotipi 4 farklı grup oluşturmuştur.

Moleküler belirteçler (özellikle SSR ve SNP belirteçleri) kullanılarak yapılan DNA parmakizi çalışmaları genotipler arasındaki farklılığı ortaya çıkarmada yüksek etkiye sahiptir (Assefa ve ark. 2019). Carucci ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada İtalya yerel fasulye çeşitlerinin genetik yapısı 12 SSR lokusu ile analiz edilmiş, çalışma sonucunda belirlenen toplam 50 allelin (lokus başına ortalama allel sayısı 4,42) ortalama PIC değeri 0,5 ve  $H_o$  değeri 0,24 olarak hesaplanmıştır. Carucci ve ark. (2017) çalışmasında kullanılan BM160 primeri bu tez çalışmasında kullanılmış ve PIC değerleri arasında fark gözlenmiştir (Tez çalışmasında  $PIC=0,289$  iken yapılan çalışmada  $PIC=0,86$  olarak bildirilmiştir).

Bu tez çalışmasında *P. vulgaris*'in sahip olduğu 11 kromozomun farklı bölgelerinden seçilmiş 128 SNP primerinden 73 tanesi polimorfik olarak saptanmıştır. SNP primerlerine ait PIC değeri en fazla SNP59 primerinde (0,523), en düşük SNP61 ve SNP69 primerlerinde (0,042) gözlenmiştir. Çalışmamızda ortalama PIC değeri 0,337 olarak hesaplanmıştır. Cortes ve ark. (2011)'nin fasulyede SNP çeşitliliğini belirlemek amacıyla yürütmüş olduğu çalışmada 70 fasulye genotipinde (28 Andean ve 42 Mesoamerikan) 94 SNP primerinin ortalama PIC değeri 0,437 olarak bildirilmiştir. Yapılan çalışmada kültüre alınan 70 fasulye genotipinde Andean ve Mesoamerikan gen havuzuna sahip 2 ana küme gözlenmiş ve SNP analizinin bu grupları beklenen şekilde ayırt ettiği bildirilmiştir. Blair ve ark. (2013) tarafından *P. vulgaris*'de parental polimorfizmin taranması ve genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla yapılan çalışmada 236 farklı fasulye genotipinde 736 SNP primer skorlanmış ve ortalama PIC değeri 0,328 olarak hesaplanmıştır. Bu tez çalışmasında kullanmış olduğumuz SNP primerlerinin ortalama PIC değeri Cortes ve ark. (2011) ve Blair ve ark. (2013) tarafından elde edilen ortalama PIC değerleri arasındadır. SNP belirteçleri tek nükleotid polimorfizmine dayanan oldukça hassas belirteçlerdir ve ayrıca SNP primerlerinin genotipleri/populasyonları ayırt etme gücü oldukça yüksektir. Nemli (2013) tarafından yapılan tez çalışmasında 66 fasulye genotipinde genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla 105 SNP belirteci kullanılmıştır. Çalışmada elde edilen PIC değerleri 0,97 ile 0,04 arasında (ortalama PIC değeri=0,65) hesaplanmıştır.

SNP, SSR ve SNP-SSR verileri birleştirilerek oluşturulmuş dendrogramlar Şekil 4.3, 4.9, 4.10 ve 4.11'de verilmiştir. SNP analizleri sonucunda oluşturulan dendrogram incelendiğinde genetik çeşitliliğin 0,46 ile 1,00 arasında değiştiği gözlenmiştir. Cortes ve ark. (2011) tarafından yapılan çalışmada Andean ve Mesoamerikan gen havuzlarına ait 70 fasulye genotipinde SNP belirteçlerinin geliştirilmesi için KASPar teknolojisi kullanılmıştır. Çalışmada 84 genomik ve 10 EST-SNP belirteci geliştirilmiş ve bu primerler kullanılarak

Mesoamerikan ve Andean gen havuzlarının başarılı bir şekilde ayrıldığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmada Mesoamerikan gen havuzu ile karşılaştırıldığında Andean gen havuzuna ait bireylerde daha fazla çeşitlilik gözlemlenmiştir. Ayrıca SSR ve SNP belirteçlerinin fasulyede çeşitlilik çalışmalarında birlikte kullanıldıklarında ideal markır olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar ışığında bu tez çalışmasındaki Şekil 4.11'de SNP ve SSR verileri birleştirilerek verilmiş olan dendrogram incelendiğinde SSR ve SNP belirteçlerinin beklenen genetik uzaklıkları ve yakınlıkları verdiği gözlemlenebilmektedir. Bu tez çalışmasında, her iki belirteç sonucu birleştirilip oluşturulan dendrograma bakıldığında (Şekil 4.11) tür ve çeşit ayırımlarının beklenildiği gibi ayrıldığını ve bundan sonraki çalışmalarda daha ideal sonuçları almak için her iki belirtecin birlikte kullanılması gerektiğini destekler nitelikte sonuçlar alınmıştır.

Tez çalışması kapsamında yapılan SSR verilerine dayalı Bayesian temelli STRUCTURE analizi sonucuna göre 94 fasulye genotipi genetik olarak kendi arasında 3 ana gruba ayrılmıştır. Burle ve ark. (2010)'nın çalışmasında Brezilya'da bulunan 279 fasulye genotipinin STRUCTURE analiz sonucunda iki gruba (K=2) ayrıldığı ve bunların Andean ve Mesoamerikan olduğu bildirilmiştir. Blair ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada ise 108 fasulye genotipinin Andean, Kolombiya, Ekvator, Kuzey Peru, Guatemala ve Mesoamerikan olmak üzere 5 gruba ayrıldığı bildirilmiştir. Hegay ve ark. (2012) tarafından Kırgızistan'dan örneklenen Mesoamerikan ve Andean gen havuzlarına ait 28 fasulye genotipinde genetik çeşitlilik analizi yapılmıştır. STRUCTURE popülasyon yapısı analizi sonucunda genotiplerin iki kümeye ayrıldığı ve Mesoamerikan genotiplerinin Andean genotiplerine göre kendi aralarında daha fazla çeşitlilik gösterdiği saptanmıştır.

Genetik çeşitlilik çalışmalarında çeşitli DNA belirteç sistemleri kullanılmaktadır ve bu sistemlerin kullanılışlığının karşılaştırılması moleküler bitki ıslahı çalışmaları ve analizleri için son derece önemlidir. Kullanılan DNA belirteç sistemlerinin laboratuvarlar arası transferi, tekrarlanabilir sonuçlar elde edebilmek için standart hale getirilmesi ve elde edilen verilerin karşılaştırılması için gereklidir. Böylece yapılan çalışmalara yapılan maddi giderler azalır ve zamandan tasarruf sağlanabilir. Garcia ve ark. (2004)'nın çalışmasında tropical mısır türlerinde genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla farklı belirteç sistemleri (SSR, RFLP, AFLP ve RAPD) kullanılmıştır. Geleta ve ark. (2006) ise Sorgum genotipleri arasında yaptıkları genetik çeşitlilik çalışmasında SSR ve AFLP tekniklerinin her ikisinin de etkili olduğunu bildirmiştir. Cortes ve ark. (2011), SSR ve SNP belirteçlerini fasulyede çeşitlilik çalışmalarında birlikte kullanıldıklarında ideal belirteç olduğunu bildirmiştir. Ulukapı ve Onus (2012) tarafından yapılan çalışmada ise fasulyede SCAR ve SSR belirteci kullanılarak genetik analizler yapılmış ve 39 genotipin SCAR ve SSR verilerine dayalı UPGMA dendrogramı oluşturulmuştur.

Birçok tarımsal bitki türünde yapılan klasik ıslah çalışmaları istenilen oranda amacına ulaşmış olmakla birlikte günümüzde yeni genotip ve çeşitlerin geliştirilmesinde moleküler belirteçlerden yararlanılması ıslah programlarına önemli katkılar sağlamıştır. Çok hızlı bir şekilde gelişen mevcut ıslah programlarına değerli veriler sağlayan DNA belirteçleri de eklenerek klasik ve moleküler ıslah programları oluşturulmaktadır. Fasulye türleri, fasulye ıslah programlarında geliştirilmekte olan ıslah hatları ve mevcut ticari fasulye çeşitleri arasındaki genetik ilişkinin detaylı bir şekilde ortaya çıkarılması, aile seleksiyonlarında önemli olduğu kadar çeşitli amaçlarla yapılan genetik analizler ve ıslah programlarının oluşturulmasında da büyük önem teşkil etmektedir. Sahip olunan gen kaynaklarının genetik çeşitlilik analizleri, moleküler, coğrafik, fonksiyonel ve morfolojik seviyelerde verilerden yararlanılmasına da imkan sağlamaktadır (Lu ve ark. 2009). Genetik uzaklık ve yakınlık çalışmaları çalışılan genotipler arasındaki farklılıkların ortaya çıkmasını sağlamakta ve ıslah programlarında gen havuzundaki genetik çeşitliliğin artırılmasına katkıda bulunmaktadır. Genotipler birbirinden ne kadar genetik uzaklığa sahipse, görülen varyasyon da o kadar fazla olmaktadır. Islah genotiplerinde görülen bu açılmalar seleksiyonu şekillendirmektedir ve ne kadar çok varyasyon elde edilirse ıslah programının başarı şansı o oranda artmaktadır, bu durum ıslahçının hedefine ulaşmasını kolaylaştırmaktadır. Genetik çeşitlilik çalışmalarında genetik analizlerin yapılması uzaklık ve yakınlık durumlarının belirlenmesi, yeni popülasyonların oluşturulmasına ve heterosis gösteren yüksek verimli kombinasyonların elde edilmesine katkıda bulunmaktadır. Bitki ıslahçıları genetik çeşitliliğin çeşitli yöntemler kullanılarak değerlendirilmesini alternatif bir seleksiyon yöntemi olarak kullanılmaktadır, elde edilen genetik çeşitlilik verileri çalışılan genotiplerin gruplar halinde düzenlenmesine yardımcı olmaktadır. Böylece morfolojik, agronomik ve genetik anlamda birçok özelliği bilinen genotipler arasında en ümitvar melez kombinasyonların oluşturulması, zaman ve masraftan tasarruf sağlanabilecek kombinasyonlarının oluşturulmasına olanak sağlamaktadır (Souza ve ark. 2008). Bu araştırmada, moleküler yöntemler kullanılarak elde edilen verilerden fasulye türleri, ıslah hatları ve ticari çeşitleri ile filogenetik ağacın elde edilerek, genetik yakınlık-uzaklıklarının tespit edilmesi ve bu verilerin ıslah programında kullanılabilmesi amaçlanmıştır. Moleküler belirteçler yolu ile hatlar arasındaki akrabalık ilişkilerinin ortaya konulması ile hem yeni güçlü popülasyonlar oluşturulmasındaki seçimlerde, hem de verimli hibritlerin oluşturulmasındaki seçimlerde başarı şansının artırılması imkanının ortaya çıkartıyor olması, çalışmanın önemini açıkça ortaya koymaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- Akçin A (1973). Erzurum Şartlarında Yetiştirilen Kuru Fasulye Çeşitlerinde Gübreleme, Ekim Zamanı ve Sıra Aralığının Tane Verimine Etkisi ile Bu Çeşitlerin Bazı Fenolojik, Morfolojik ve Teknolojik Karakterleri Üzerine Bir Araştırma. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 4(2): 65-76.
- Alvarez MT, Saenz DM, De La Vega MP (1998). Genetic Variation in Common and Runner Bean of the Northern Meseta in Spain. Genetic Resources and Crop Evol., 45: 243-251.
- Alzate-Marin A, Costa M, Sartorato A, Peloso J, Borro E, Moreira M (2003). Genetic Variability and Pedigree Analysis of Brazilian Common Bean Elite Genotypes. Scientia Agricola, 60(2): 283-290.
- Angioi S A, Rau D, Attene G, Nanni L, Bellucci E, Logozzo G, Negri V, Spagnoletti Z, PL, Papa R, (2010). Beans in Europe: Origin and Structure of the European Landraces of *Phaseolus vulgaris* L. Theor Appl Genet, 121: 829-843.
- Anonim (2016). Türkiye İstatistik Kurumu. www.tuik.gov.tr (Erişim Tarihi: 13.05.2019).
- Anonim (2018). Türkiye İstatistik Kurumu. www.tuik.gov.tr (Erişim Tarihi: 16.05.2019).
- Anonim (2019). USDA Natural Resources Conservation Service. https://plants.usda.gov. (Erişim Tarihi: 13.05.2019).
- Asfaw A, Blair MW, Almekinders C (2009). Genetic Diversity and Population Structure of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the East African highlands. Theor Appl Genet, 120: 1-12.
- Assefa T, Mahama AA, Brown AV, Cannon EKS, Rubyogo JC, Rao IM, Blair MW, Cannon SB (2019) A Review of Breeding Objectives, Genomic Resources, and Marker-Assisted Methods in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Mol Breeding, 39: 20.
- Ateş D, Kaygısız Aşcıoğlu T, Nemli S, Erdoğan S, Eşiyok D, Tanyolaç MB (2018). Association Mapping of Days to Flowering in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Revealed by DArT Markers. Mol Breeding, 38: 113.
- Avila T, Blair MW, Reyes X, Bertin P (2012). Genetic Diversity of Bean (*Phaseolus*) Landraces and Wild Relatives From the Primary Centre of Origin of the Southern Andes. Plant Genetic Resources, 10(01): 83-92.
- Balkaya A, Yanmaz R (2003). Bazı Taze Fasulye Çeşit Adayları ile Ticari Çeşitlerin Morfolojik Özellikler ve Protein Markörler Yoluyla Tanımlanmalar. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi, 9(2):182-188.
- Baş T, Koludar J, Caymazer Z (1991). Fasulye Araştırmaları Projesi (Ege Dilimi). 1991 Yılı Gelişme Raporu, Menemen İzmir.
- Becerra V, Paredes M, Rojo M, Diaz C, Lucia M, Blair MW (2010). Microsatellite Marker Characterization of Chilean Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Germplasm. Crop Science, 50(5): 1932-1941.



- Beebe S, Skroch PW, Tohme J, Duque MC, Pedraza F, Nienhuis J (2000). Structure of Genetic Diversity Among Common Bean Landraces of Middle American Origin Based on Correspondence Analysis of RAPD. *Crop Science*, 40: 264-273.
- Benchimol LL, Campos T, Carbonell SAM, Colombo CA, Chioratto AF, Formighieri EF, Souza AP (2007). Structure of Genetic Diversity Among Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Varieties of Mesoamerican and Andean Origins Using New Developed Microsatellite Markers. *Genet Resour Crop Evol.*, 54: 1747-1762.
- Bilir Ö, Yüksel Özmen C, Özcan S, Kibar U (2019). Genetic Analysis of Turkey Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes by Simple Sequence Repeats Markers. *Russian Journal of Genetics*, 55: 61-70.
- Blair MW, Pedraza F, Buendia HF, Gaitan-Solis E, Beebe SE, Gepts P, Tohme J (2003). Development of a Genome-Wide Anchored Microsatellite Map for Common Bean *Phaseolus vulgaris*. *Theor. Appl. Genet.*, 107: 1362-1374.
- Blair MW, Giraldo MC, Buendia HF, Tovar E, Duque MC, Beebe SE (2006). Microsatellite Marker Diversity in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet*, 113: 100-109.
- Blair MW, Diaz JM, Hidalgo R, Diaz LM, Duque MC (2007). Microsatellite Characterization of Andean Races of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet.*, 116: 29-43.
- Blair MW, Gonzalez LF, Kimani PM, Butare L (2010). Genetic Diversity, Intergene Pool Introgression and Nutritional Quality of Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Central Africa. *Theor Appl Genet.*, 121(2): 237-248.
- Blair MW, Soler A, Cortes AJ (2012). Diversification and Population STRUCTURE in Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *PLoS ONE*, 7(11): e49488.
- Blair MW (2013) Mineral Biofortification Strategies For Food Staples: The Example of Common Bean. *J Agric Food Chem.*, 61:8287-8294.
- Blair MW, Cortes AJ, Farmer AD, Huang W, Ambachew D, Penmetsa RV, Carrasquilla-Garcia N, Assefa T, Cannon SB (2018). Uneven Recombination Rate and Linkage Disequilibrium Across a Reference SNP map For Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *PLoS ONE* 13:e0189597
- Botstein D, White RL, Skolnick K, Davis RW (1980). Construction of a Genetic Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphism. *American Journal of Human Genetics*, 32: 314-331.
- Briand L, Brown AE, Lenne JM, Teverson DM (1998). Random Amplified Polymorphic DNA Variation Within and Among Bean Landrace Mixtures (*Phaseolus vulgaris* L.) from Tanzania. *Euphytica*, 102: 371-377.
- Boczkowska M, Bulinska- Radomska Z, Nowosielski J (2012). AFLP Analysis of Genetic Diversity in Five Accessions of Polish Runner Bean (*Phaseolus coccineus* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(4): 473-478.

- Buah S, Buruchara R, Okori P (2017). Molecular Characterisation of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Accessions From Southwestern Uganda Reveal High Levels of Genetic Diversity. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64: 1985-1998.
- Burle ML, Fonseca JR, Kami JA, Gepts P (2010). Microsatellite Diversity and Genetic STRUCTURE Among Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Landraces in Brazil, a Secondary Center of Diversity. *Theor. Appl. Genet.*, 121: 801-813.
- Buso GSC, Amaral ZPS, Brondani RPV, Ferreira ME (2006). Microsatellite Markers For the Common Bean *Phaseolus vulgaris*. *Molecular Ecology Notes*, 6: 252-254.
- Cabral PDS, Soares TCB, Lima ABP, De Miranda FD, Souza FB, Gonçalves LSA (2011). Genetic Diversity in Local and Commercial Dry Bean (*Phaseolus vulgaris*) Accessions Based on Microsatellite Markers. *Genetics and Molecular Research*, 10(1): 140-149.
- Carucci F, Garramone R, Aversano R, Carputo D (2017). SSR Markers Distinguish Traditional Italian Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Landraces from Lamon. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 53(4): 168-171.
- Castineiras L, Esquivel M, Lioi L, Hammer K (1991). Origin, Diversity and Utilization of the Cuban Germplasm of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica*, 57: 1-8.
- Chiorato FC, Carbonell AMC, Benchimol LL, Chiavegato MB, Dias LAS, Colombo CA (2007). Genetic Diversity in Common Bean Accessions Evaluated by Means of Morpho-Agromonomical and RAPD Data. *Sci. Agric. (Piracicaba, Braz)*, 64(3): 256-262.
- Coelho RC, Faria MA, Rocha J, Reis A, Oliveira MBPP, Nunes E (2009). Assessing Genetic Variability in Germplasm of *Phaseolus vulgaris* L. Collected in Northern Portugal. *Scientia Horticulturae*, 122: 333-338.
- Cortes AJ, Chavarro MC, Blair MW (2011). SNP Marker Diversity in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet.*, 123:827-845.
- Çiftçi Y, Şehirali S (1984). Fasulye (*Phaseolus vulgaris*) Çeşitlerinde Değişik Özelliklerin Fenotipik ve Genotipik Farklılıklarının Saptanması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yayın No: 4, Ankara.
- Da Silva GF, Dos Santos JB, Ramalho MAP (2003). Identification of SSR and RAPD Markers Linked to a Resistance Allele for Angular Leaf Spot in the Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) line ESAL 550. *Genetics and Molecular Biology*. 26: 459- 463.
- De Luca D, Cennamo P, Del Guacchio E, Di Novella R, Caputo P (2018). Conservation and Genetic Characterisation of Common Bean Landraces from Cilento Region (Southern Italy): High Differentiation in spite of Low Genetic Diversity. *Genetica* 146(1): 29-44.
- Debouck DG (1988). *Phaseolus* Germplasm Exploration. *Genetic Resources of Phaseolus Beans*, Ed: P. Gepts. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 3-31.
- Debouck DG, Toro O, Paredes OM, Johnson WC, Gepts P (1993). Genetic Diversity and Ecological Distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in Northwestern South America. *Econ Bot*, 47: 408-423.
- Del Piano L, Capone C, Sorrentino C, Abet M, Sicignano M, Enotrio T (2009). ISSR and SSR Analysis of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Ecotype “Fagiolo di Controne”.

Proceedings of the 53rd Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress (SIGA), Poster Abstract 7: 42, Torino Italy.

- Desiderio F, Rossi M, Bitocchi E, Belluocchie E, Nanni L, Rau D, Attene G, Papa R (2008). Origins and Domestication of *Phaseolus vulgaris*, as Revealed by Chloroplast and Nuclear Molecular Markers, Proceedings of the 52nd Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress (SIGA), 14-17 September, A: 35, Padova, Italy.
- Direk M, Bayramoğlu Z, Paksoy M (2002). Konya İlinde Fasulye Üretiminde Karşılaşılan Sorunlar ve Çözüm Önerileri. Selçuk Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi 16(30): 21-27.
- Duran LA, Blair MW, Giraldo MC, Macchiavelli R, Prophete E, Nin JC, Beaver JC (2005). Morphological and Molecular Characterization of Common Bean Landraces and Cultivars from the Caribbean. Crop Science, 45: 1320-1328.
- Earl DA, vonHoldt BM (2012). STRUCTURE HARVESTER: A Website and Program for Visualizing STRUCTURE Output and Implementing the Evanno Method. Conserv Genet Resour 4: 359-361.
- Ekbiç E, Hasancaoğlu EM (2019). Morphological and Molecular Characterization of Local Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes. Applied Ecology and Environmental Research, 17(1): 841-853.
- Ekinci AS (1939). Türkiye Fasulye Soy ve Çeşitlerinin Sistematiği ve Morfolojik Tetkiki ve Standardizasyona Başlamak İçin İlk Mesai. T.C. Yüksek Ziraat Enstitüsü Çalışmalarından Sayı: 69, Ankara.
- El-Tabey Shehata AM (1992). Hard-to-cook Phenomenon in Legumes. Food Rev. Int., 8: 191-221.
- Escribano MR, Ron AM, Santalla M, Ferreira JJ (1991). Taxonomical Relationship Among Common Bean Populations from Northern Spain. An. Auta. Dei., 20(3-4): 17-27.
- Escribano MR, Ron AM, Amurrio JM (1994). Diversity in Agronomical Traits in Common Bean Populations from Northwestern Spain. Euphytica 76: 1-6.
- Escribano MR, Santalla M, De Ron AM (1997). Genetic Diversity in Pod and Seed Quality Traits of Common Bean Populations From Northwestern Spain. Euphytica, 93: 71-81.
- Escribano MR, Santalla M, Casquero PA, De Ron AM (1998). Patterns of Genetic Diversity in Landraces of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Galicia. Plant Breeding, 117(1): 49-56.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005). Detecting the Number of Clusters of Individuals Using the Software STRUCTURE: a simulation study. Mol Ecol 14: 2611-2620.
- Foschiani A, Miceli F, Vischi M (2009). Assessing Diversity in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Accessions at Phenotype and Molecular Level: A Preliminary Approach. Genetic Resources and Crop Evolution, 56(4): 445-453.
- Gaitan-Solis E, Duque MC, Edwards KJ, Tohme J (2002). Microsatellite Repeats in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*): Isolation, Characterization, and Cross-Species Amplification in *Phaseolus* spp. Crop Science, 42: 2128-2136.

- Gaitan-Solis E, Choi IY, Quigley C, Cregan P, Tohme J (2008). Single Nucleotide Polymorphisms in Common Bean: Their Discovery and Genotyping Using a Multiplex Detection System. *Plant Genome*, 1: 125-134.
- Galvan MZ, Aulicino MB, Medina Garcia S, Balatti PA (2001). Genetic Diversity Among Northwestern Argentinian Cultivars of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L. ) as Revealed by RAPD Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 48: 251-260.
- Galvan MZ, Menendez-Sevillano MC, De Ron AM, Santalla, M, Balatti PA (2006). Genetic Diversity Among Wild Common Beans from Northwestern Argentina Based on Morpho-Agronomic and RAPD Data. *Genetic Resources and Crop Evol.*, 53: 891-900.
- Galvan MZ, Lanteri AA, Menendez-Sevillano MC Balatti PA (2010). Molecular Characterisation of Wild Populations and Landraces of Common Bean from Northwestern Argentina. *Plant Biosystems*, 144(2): 365-372.
- Garcia AAF, Benchimol LL, Barbosa AMM, Geraldi IO, Junior CLS, Souza AP (2004). Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR Markers for Diversity Studies in Tropical Maize Inbred Lines. *Genet Mol Biol.*, 27: 579-588.
- Garcia RAV, Rangel PN, Brondani C, Martins WS, Melo LC, Carneiro MS, Borba, TCO, Brondani RPV (2011). The Characterization of a New Set of EST-Derived Simple Sequence Repeat (SSR) Markers as a Resource for the Genetic Analysis of *Phaseolus vulgaris*. *BMC Genetics*, 12(41): 1-14.
- Geleta N, Labuschagne MT, Viljoen CD (2006). Genetic Diversity Analysis in Sorghum Germplasm as Estimated by AFLP, SSR and Morpho-Agronomical Markers. *Biodivers Conserv.*, 15: 3251.
- Gil J, Ron AM (1992). Variation in *Phaseolus vulgaris* in the Northwest of the Iberian Peninsula. *Plant Breeding*, 109: 313-319.
- Gill-Langarica HR, Muruaga-Martinez JS, Vargas-Vazquez MLP, Rosales-Serna R, Mayek-Perez N (2011). Genetic Diversity Analysis of Common Beans Based on Molecular Markers. *Genetics and Molecular Biology*, 34(4): 595-605.
- Guerra-Sanz JM (2004). New SSR markers of *Phaseolus vulgaris* from Sequence Databases. *Plant Breeding*, 123(1): 87-89.
- Gülümser A, Zeytun A (1988). Çarşamba Ovasında Fasulye Tarımı ve Sorunları. *O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3(2): 143-158.
- Halitgil MB, Erkovan Hİ, Serin Y, Tan M, Kışlal H (2007) Bazı Baklagil-Buğdaygil Yem Bitkileri Karışımlarında Azot Transferi, Azot Kullanım Etkinliği ve Gübrenin Paylaşımı. *Türkiye 7. Tarla Bitkileri Kongresi*, 25-27 Haziran 2007, Erzurum.
- Hanai LR, De Campos T, Camargo LE, Benchimol LL, De Souza AP, Melotto M., Carbonell, SA, Chioratto AF, Consoli L, Formighieri EF, Siqueira MV, Tsai SM, Vieira ML (2007). Development, Characterization, and Comparative Analysis of Polymorphism at Common Bean SSR Loci Isolated from Genic and Genomic Sources. *Genome*, 50(3): 266-277.

- Hegay S, Geleta M, Bryngelsson T, Gustavsson L, Hovmalm HP, Ortiz R (2012). Comparing Genetic Diversity and Population Structure of Common Beans Grown in Kyrgyzstan Using Microsatellites. *Scientific Journal of Crop Science*, 1(4): 63-75.
- Jose FC, Sudheer Mohammed MM, Thomas G, Varghese G, Selvaraj N, Dorai M (2009). Genetic Diversity and Conservation of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae) Landraces in Nilgiris. *Current Science*, 97(2): 227-228.
- Jimenez OR, Korpelainen H, Rojas A, Elomaa P, Valkonen JPT (2012). Genetic Purity of Common Bean Seed Generations (*Phaseolus vulgaris* cv. 'INTA ROJO') as Tested with Microsatellite Markers. *Seed Science and Technology*, 40(1): 73-85.
- Kaçar O, Çakmak F, Çöplü N, Azkan N (2004). Bursa Koşullarında Bazı Kuru Fasulye Çeşitlerinde (*Phaseolus vulgaris* L.) Bakteri Aşılama ve Değişik Azot Dozlarının Verim ve Verim Unsurları Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(1): 207-218.
- Kapoor VP, Banerji R, Prakash D (1992). Leguminous Seeds: Potential Industrial Sources for Gums, Fat and Protein. *J. Sci. Ind. Res.*, 51: 1-22.
- Khaidizar MI, Haliloglu K, Elkoca E, Aydın M, Kantar F (2012). Genetic Diversity of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Landraces Grown in Northeast Anatolia of Turkey Assessed with Simple Sequence Repeat Markers. *Turkish Journal of Field Crops* 17(2): 145-150.
- Kıpçak C, Nevruzhan C, Türkistanlı S (1951). Türkiye'nin Zirai Bünyesi (Çeviri P. Zhukovsky). *Türkiye Şeker Fab. A.Ş. Neşriyat No.20*, İstanbul.
- Kumar V, Sharma S, Kumar A, Kumar M, Sharma S, Malik S, Singh KP, Sanger RS, Bhat K. V (2008). Genetic Diversity in Indian Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L. ) Using Random Polymorphic DNA Markers. *Physiol. Mol. Biol. Plants*. 14 (4): 383-387.
- Kwak M, Gepts P (2009). Structure of Genetic Diversity in the Two Major Gene Pools of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). *Theoretical and Applied Genetics*, 118(5): 979-992.
- Larue TA, Patterson TG (1981). How Much Nitrogen Do Legume Fix? *Advances in Agron*, 34: 15-36.
- Lewis G, Schrire B, Mackinder B, Lock M (2005). *Legumes of the World*. Kew: Royal Botanic Gardens. 577 p, Edinburgh.
- Lioi L, Piergiovanni AR, Pignone D, Puglisi S, Santantonio M, Sonnante G (2005). Genetic Diversity of Some Surviving on Farm Italian Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Landraces. *Plant Breeding*, 124: 576-581.
- Lioi L, Piergiovanni AR (2013). European Common Bean. In: Singh M, Upadhyaya HD, Bisht S (Eds.), *Genetic and Genomic Resources of Grain Legume Improvement*, Elsevier, Oxford, p. 322. 11-40.
- Loridon K, McPhee K, Morin J, Dubreuil P, Pilet-Nayel ML, Aubert G, Rameau C, Baranger A, Coyne C, Lejeune-Henaut I, Burstin J (2005). Microsatellite Marker Polymorphism and Mapping in Pea (*Pisum sativum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 111(6): 1022-1031.

- Lu Y, Yan J, Guimaraes CT, Taba S, Hao Z, Gao S, Chen S, Li J, Zhang S, Vivek BS, Magorokosho C, Mugo S, Makumbi D, Parentoni SN, Shah T, Rong T, Crouch JH, Xu Y (2009). Molecular Characterization of Global Maize Breeding Germplasm Based on Genome-Wide Single Nucleotide Polymorphisms. *Theor Appl Genet.*, 120:93-115.
- Maciel FL, Echeverrigaray S, Gerald LTS, Grazziotin FG (2003). Genetic Relationships and Diversity Among Brazilian Cultivars and Landraces of Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) Revealed by AFLP Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 50(8): 887-893.
- Madakbaş SY, Ergin M, Özçelik H, Küçükomuzlu B (2007). Orta Karadeniz Bölgesinde Yetiştirilen Bazı Bodur Taze Fasulye Populasyonlarından Seçilen Bodur Ayşe Kadın Özelliğinde Saf Hatların Bazı Morfolojik ve Tarımsal Özelliklerinin Belirlenmesi. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(41): 68-73.
- Mahuku GS, Iglesias AM, Jara C (2009). Genetics of Angular Leaf Spot Resistance in The Andean Common Bean Accession G5686 And Identification of Markers Linked To The Resistance Genes. *Euphytica*. 167 (3): 381- 396.
- Marotti I, Bonetti A, Minelli M, Catizone P, Dinelli G (2007). Characterization of Some Italian Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Landraces by RAPD, Semi-Random and ISSR Molecular Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54: 175-188.
- Martins SR, Vences FJ, Saenz de Miera LE, Barroso MR, Carnide V (2006). RAPD Analysis of Genetic Diversity Among and Within Portuguese Landraces of Common White Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Scientia Horticulturae*, 108: 133- 142.
- Masi P, Zeuli PLS, Donini P (2003). Development and Analysis of Multiplex Microsatellite Markers Sets in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Molecular Breeding*, 11(4): 303-313.
- Matthew W, Blai Andres J, Cortes R, Varma P, Andrew F, Carrasquilla-Garcia N, Doug RC (2013). A high-throughput SNP Marker System for Parental Polymorphism Screening, and Diversity Analysis in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theor Appl Genet*, 126(2): 535-48.
- Mercati F, Leone M, Lupini A, Sorgona A, Bacchi M, Abenavoli MR, Sunseri F (2013). Genetic Diversity and Population Structure of a Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Collection from Calabria (Italy). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(3): 839-852.
- Metais I, Aubry C, Hamon B, Jalouzot R, Peltier D (2000). Description and Analysis of Genetic Diversity Between Commercial Bean Lines (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 101(8): 1207-1214.
- Metais I, Aubry C, Hamon B, Jalouzot R, Peltier D (2001). Assessing Common Bean Genetic Diversity Using RFLP, DAMD-PCR, ISSR, RAPD and AFLP Markers. *Acta Hort. (ISHS)*, 546: 459-461.
- Metais I, Hamon B, Jalouzot R, Peltier D (2002). Structure and Level of Genetic Diversity in Various Bean Types Evidenced With Microsatellite Markers Isolated from A Genomic Enriched Library. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(8): 1346-1352.

- Miklas PN, Kelly JD, Beebe SE, Blair MW (2006). Common Bean Breeding for Resistance Against Biotic and Abiotic Stresses: From Classical to MAS Breeding. *Euphytica*, 147: 105-131.
- Montero-Rojas M, Ortiz M, Beaver JS, Siritunga D (2013). Genetic, Morphological and Cyanogen Content Evaluation of a New Collection of Caribbean Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) Landraces. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(8): 2241-2252.
- Myers JR, Baggett JR (1999). Improvement of Snap Beans. Common Bean Improvement for the 21st Century, Ed: S. Singh. Kluwer Academic Publishers, Boston, 289-329.
- Negri V, Tosti N (2002). *Phaseolus* Genetic Diversity Maintained on-Farm in Central Italy. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49: 511-520.
- Negri V, Tiranti B (2010). Effectiveness of in Situ and Ex Situ Conservation of Crop Diversity. What A *Phaseolus vulgaris* L. Landrace Case Study Can Tell Us. *Genetica*, 138(9-10): 985-998.
- Nei M (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, NY. 512 p.
- Nemli S (2013). Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)'de Ekonomik Öneme Sahip Bazı Agronomik Karakterleri Kontrol Eden DNA Markırlarının İlişki Haritalaması ile Saptanması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Nemli S, Kaygısız Aşcıoğlu T, Ateş D, Eşiyok D, Tanyolaç MB (2017). Diversity and Genetic Analysis Through DArTseq in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Germplasm From Turkey. *Turk Journal of Agriculture and Forestry*, 41: 389-404.
- Ocampo CH, Martin JP, Yelamo MDS, Ortiz JM, Toro O (2003). Tracing the Origin of Spanish Common Bean Cultivars Using Biochemical and Molecular Markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52: 33-40.
- Oliveira EJ, Padua JG, Zucchi MI, Vencovsky R, Carneiro-Viera ML (2006). Origin, Evolution and Genome Distribution of Microsatellites. *Genetics and Mol. Biol.*, 29(2): 294-307.
- Özçelik N (1999). Örtüaltı Yetiştiriciliğine Elverişli Sırk Taze Fasulye Çeşit İslahı. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 902-906, Ankara.
- Özhatay N, Byfield A (2005). Türkiye'nin Önemli Bitki Alanı. Doğal Hayatı Koruma Vakfı, 476s, İstanbul.
- Özhatay FN, Kültür Ş, Gürdal MB (2011). Check-list of Additional Taxa to the Supplement Flora of Turkey V, *Turkish Journal of Botany*, 35: 589-624.
- Peakall R, Smouse PE (2006). GENALEX 6: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic Software for Teaching and Research. *Molecular Ecology Notes*, 6: 288-295.
- Pereira HS, Mota APS, Rodrigues LA, de Souza TLPO, Melo LC (2019). Genetic Diversity Among Common Bean Cultivars Based on Agronomic Traits and Molecular Markers and Application to Recommendation of Parent Lines. *Euphytica*, 215: 38.
- Piergiovanni AR, Taranto G, Pignone D (2000). Diversity Among Common Bean Populations from the Abruzzo Region (Central Italy): A Preliminary Inquiry. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 47: 467-470.

- Piergiovanni AR, Taranto G, Lasavio PF, Pignone D (2006). Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Landraces from Abruzzo and Lazio Regions (Central Italy). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53(2): 313-322.
- Piergiovanni AR, Lioi L (2010). Italian Common Bean Landraces: History, Genetic Diversity and Seed Quality. *Diversity*, 2(6):837-862.
- Porch T, Beaver JS, Debouck DG, Jackson SA, Kelly JD, Dempewolf H (2013). Use of Wild Relatives and Closely Related Species to Adapt Common Bean to Climate Change. *Agronomy*, 3: 433-461.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 155: 945-959.
- Raatz B, Mukankusi C, Lobaton JD, Male A, Chisale V, Amsalu B, Fourie D ve ark. (2019). Analyses of African Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Germplasm Using a SNP Fingerprinting Platform: Diversity, Quality Control and Molecular Breeding. *Genet Resour Crop Evol.*, 66: 707-722.
- Ramalho, MAP, Abreu AFB (2006). Cultivares [Cultivars], In: Feijão [Common Bean]. Vieira, C., Paula, T.J. ve Borem, A. (eds), Editora UFV, Viçosa-MG, 415-436, Brazil.
- Rodino AP, Santalla M, Montero I, Casquero PA, Ron DAM (2001). Diversity of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Germplasm from Portugal. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 48: 409-417.
- Rodino AP, Santalla M, Ron AMD, Singh SP (2003). A Core Collection of Common Bean from The Iberian Peninsula. *Euphytica*, 131: 165-175.
- Ron AM, Escribano MR, Ferreira JJ (1990). Caracterizacion de Variedades Locales de Judia Comun Del Nde Espana Para Verdeo Y Apovechamiento De Grano. *Actas 5. I. Congresso Iberico de Ciencias Hortícolas*, 156-161.
- Salunke DK, Kadam SS (1989). *CRC Handbook of World Food Legumes*, Vol I, CRC Pres: Boca Raton, FL.
- Santalla M, Monteagudo AB, Gonzalez AM, De Ron AM (2004). Agronomical and Quality Traits of Runner Bean Germplasm and Implications for Breeding. *Euphytica*, 135: 205-215.
- Sarıkamış G, Yaşar F, Bakır M, Kazan K, Ergul A (2009). Genetic Characterization of Green Bean (*Phaseolus vulgaris*) Genotypes from Eastern Turkey. *Genetics and Molecular Research*, 8(3): 880-887.
- Schmit V, Jardin P, Baudoin JP, Debouck DG (1993). Use of Chloroplast DNA Polymorphisms for The Phylogenetic Study of Seven *Phaseolus* Taxa Including *P. vulgaris* and *P. coccineus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 87(4): 506-516.
- Schmutz J, McClean PE, Mamidi S, Wu GA, Cannon SB, Grimwood J ve ark. (2014). A Reference Genome for Common Bean and Genome-Wide Analysis of Dual Domestications. *Nat. Genet.*, 46: 707-713.
- Schuelke M (2000). An Economic Method for the Fluorescent Labeling of PCR Fragments. *Nature Biotechnology*, 18: 233-234.



- Sicard D, Nanni L, Porfiri O, Bulfon, D, Papa R (2005). Genetic Diversity of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. coccineus* L. Landraces in Central Italy. *Plant Breeding*, 124: 464-472.
- Singh SP (1999). Production and Utilization. Common Bean Improvement in The Twenty-First Century, Ed: SP Singh. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1- 25.
- Smith KJ, Huyser W (1987). World Distribution and Significance of Soybean, In: Soybeans: Improvement, Production and Uses. Wilcox, J.R. (ed), 2nd edition. Agronomy Monographs No 16: American Society of Agronomy, 1-22, Madison, Wisconsin.
- Souza SGH, Pipolo VC, Ruas CF (2008). Comparative Analysis of Genetic Diversity Among the Maize Inbred Lines (*Zea mays* L.) Obtained by RAPD and SSR Markers. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51(1): 183-192.
- Stagnari F, Maggio A, Galieni A, Pisante M (2017). Multiple Benefits of Legumes for Agriculture Sustainability: An Overview. *Chem. Biol. Technol. Agric.* 4: 2.
- Sustar-Vozlic J, Maras M (2006). Genetic Diversity and Origin of Slovene Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Germplasm as Revealed by AFLP Markers and Phaseolin analysis. *Journal American Society Horticultural Science*, 131: (2) 242-249.
- Svetleva D, Pereira G, Carlier J, Cabrita L, Leitao J, Genchev D (2006). Molecular Characterization of *Phaseolus vulgaris* L. Genotypes Included in Bulgarian Collection by ISSR and AFLP Analyses. *Scientia Horticulturae*, 109: 198-206.
- Şehirali S (1971). Türkiye’de Yetiştirilen Bodur Fasulya Çeşitlerinin Tarla Ziraatı Yönünden Önemli Başlıca Vasıfları Üzerinde Araştırmalar. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayın: 474, Bilimsel Araştırma ve İncelemeler: 275s Ankara.
- Şehirali S, Özgen M, Karagöz A, Sürek M, Adak S, Güvenç, Tan A, Burak M, Kaymak HÇ, Kenar D (2005). Bitki Genetik Kaynaklarının Korunma ve Kullanımı. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası VI. Teknik Kongresi, Cilt 1, 253-273, Ankara.
- Tan M, Serin Y (2009). Baklagil Yem Bitkilerinin Tarımsal Özellikleri, Ekonomik Önemleri, Taksonomileri ve Genel Yapısal Özellikleri, Cilt: 2, Yem Bitkileri (Baklagil Yem Bitkileri), Ed: Avcıoğlu R, Hatipoğlu R, Karadağ Y. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, İzmir, 277-289.
- Tertivanidis K, Koutita O, Papadopoulos I, Tokatlidis IS, Tamout EG, Pappa-Michailidou V, Koutsika-Sotiriou M (2008). Genetic Diversity in Bean Populations Based on Random Amplified Polymorphic DNA Markers. *Biotechnology*, 7(1): 1-9.
- Teixeira FF, Ramalho MAP, Santos JB, Abreu FB, Guimaraes CT, Oliviera ACC (2005). QTL Mapping for Angular Leaf Spot in Common Bean Using Microsatellite Markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Vicosa, MG, v.5, p.272.
- Thome J, Beebe S, Gonzalez O, Duque MC (1996). AFLP Analyses of The Wild *Phaseolus vulgaris* Core Collection. Annual Report of The Bean Improvement Cooperation-Bic, 39: 176-177.
- Tiwari M, Singh NK, Rathore M, Kumar N (2005). RAPD Markers in The Analysis of Genetic Diversity Among Common Bean Germplasm from Central Himalaya. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52: 315-324.

- Tunar M, Kesici S (1998). İlkbahar Yetiştiriciliği İçin Sırık ve Bodur Ayşe Fasulyelerin Teksel Seleksiyon Yöntemi İle Islahı. 2. Sebze Tarımı Sempozyumu, 209-212, Tokat.
- Türkeş T (1989). Şeker, Boncuk Ayşe, Karaayşe ve Ferasetsiz Fasulyelerinde Seleksiyon Islahı. Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü, 14s, Yalova.
- Ulukapı K (2009). Selekte Edilmiş Bazı Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Hat ve Çeşitlerinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu. Doktora tezi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Ulukapı K, Onus AN (2012). Molecular Characterization of Some Selected Landrace Green Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes. J. Agric. Sci., 18: 277-286.
- Unk J (1984). Local Variates of Beans and Their Role in Breeding. Horticulture Abstract, 7: 4391.
- Valentini G, Gonçaves-Vidigal MC, Elias JCF, Moiana LD, Mindo NNA (2018). Population Structure and Genetic Diversity of Common Bean Accessions from Brazil. Plant Molecular Biology Reporter, 36: 897-906.
- Vallejos CE, Sakiyama NS, Chase CD (1992). A Molecular Marker Based Linkage Map of *Phaseolus vulgaris* L. Genetics, 131: 733-740.
- Yu K, Park SJ, Poysa V, Gepts P (2000). Integration of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers Into a Molecular Linkage Map of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). The American Genetic Association, 91: 429-434.
- Zeven AC, Waninge J, Van Hintum T, Sing SP (1999). Phenotypic Variation in A Core Collection of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Netherlands. Euphytica, 109(2): 93-106.
- Zeytun A (1987). Çarşamba Ovası'nda Yetiştirilen Fasulye Çeşitlerinin Fenolojik ve Morfolojik Karakterlerinin Tespiti Üzerinde Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Zhang X, Blair MW, Wang S (2008). Genetic Diversity of Chinese Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Landraces Assessed with Simple Sequence Repeat Markers. Theoretical and Applied Genetics, 117(4): 629-640.

## EKLER

### EK-1: SNP analizlerinde kullanılan polimorfik primerlere ait bilgiler

SNP Primer Adı		Primer Dizisi
SNP1 [A/T]	F	AGGGCATATCTGTCCAAGTTGATGACTGCTGGGAAAGAATtCTGTGGAGAGGATTGGTCA
	R	GGCTGAAGgAAAAAAtATGTTTCCATAAMGAGGAMGATTTGCTTCGGTATTGCTTCTCTT
SNP2 [A/T]	F	TAGTGAAGTGAAGTTAGAAGTTACAAGTGTGAAATTCGAAGCATTGAGTGAAGCAAACAA
	R	AGAGAAAAATAAAAAGAAAGAGAATCAGAGTCCCTAAGAACCTGGAAAAGCGCTTTGGTTA
SNP3 [A/G]	F	TTNATTCTGTTCCCTCTATTTATTGTTAAATAATTCTTTTCAGTCGTTACATTAGTGGCT
	R	TTATTTTGTGATTGGTGCTTACTAAGCAAACCTATTGATGTTCAAGTCTATTTCTATCAT
SNP4 [A/G]	F	AAATTATGTTAAGGATAGAATAGATACTGCATGTGTACTTGGATATTAATTTGGGTCACTT
	R	AAGGAAGTTAGGGCCAAACAGTGAATAAAAAGATTATTAAGTCTTTGTTCAATTTCTGCTG
SNP5 [T/C]	F	NNNNCCGCATGTGTAAaYGTAACTATTCAAACCTATATTTGCGGTTGCACGATAACCACt
	R	ACTCAATATTGCATCTCCATATCAGAAAAGCTTAGAAAAACAAGAAAACCAAATAAAAAGAC
SNP6 [A/G]	F	TCACCTACTCCTACCTTTTTCACTCTCATTCATTCCTCCTTCTTCTATTCAATTCCGTCC
	R	ATTCAACACGCAGGAGAGAAGAACCAGAATAAGTGGAAAGCTCAAGAAATTGCAGGACCT
SNP7 [A/C]	F	AGTTTTGTTTCATCTAGTGCAGACTGAAAAGTGAAGTGAAGGTTAAAGGTTGATTGATGCT
	R	TTGGACTTCAAGAAAAGCAGCAATTTGTAAGGATTTTCAGCTTAGAAAACGGAATGTCTA
SNP8 [A/T]	F	CAAATCACATGGAAAATTATTTGACAAGGTCTGAAACAAGGAATAATtCCTAAAACAATT
	R	GCTTACCGGAGGTAGGAACATCTTTGCCGCTTATCTCATTACCCTTCAATTAACCTC
SNP9 [A/T]	F	GAGTTTGAAGAAACGCATCAACTAAGCTTCCAATAGCTTCATACTATTTACTGAACGTGt
	R	AATAGCGCCAATTATCCCCTAAACTAAATGTTGGGAGCTAAGCGAGCAGCAGAAAAAAGG
SNP10 [C/G]	F	TGTCAGTGACGGGCACCACTATTTTTCCAATCTGTGTGTGCCTTTTTTCATGaAGCCCAGA
	R	TGAAGTTCTCCTTAAAACCAGCGCAACTCGCGAATGTTGCTTCTGGACGTTTTGGGAACG
SNP11 [A/G]	F	TGTATTTGGAATATGTACTAGTGGGTTTTTGTAGTCTACGTTCAAGAGGACAAATAGAT
	R	CTGTTGAAGGAATGGTATGTGCATTGGCTAAACTTCTAATTCCTTAGTTTTGAATTCCAC
SNP12 [C/G]	F	TACATACAAGACATTGAAAAMGCAGAATACTAATGTCACACCAAGCCAAAATTAGAACAA
	R	AAAAAAGACCAAGCAACAAGTTAGAAGTTAATTTACTTTGAGGAAACAATTTTTAAATT
SNP13 [T/G]	F	GCTTATGTTGATTTCAAAGAAGAGTACTACACCCCATATCCTGCTGTTGTTAATGACAAT
	R	ATCTGCATCTGCATGTGGTAAGAGTTGGGCAACTTCTGCTTGGTCCAGACAATGTGCATG
SNP14 [A/G]	F	aaggaaaagcatTGTCCCTCAAGTTCACCAAACGAAGTAACCAGTACCTGCAAGCACGTGC
	R	AAGTCCAACAAGAAATTGGAAAATAAAATCCACTGAACGAACCTAAAAAGAAATGAAAAT
SNP15 [A/G]	F	ATCAAATCCACCTTCATCCGATCCATAGATGGCCAGGATGGTGTGACAGTCATGTAATC
	R	CTGCTGTCAAAAGTTTTTCCAGATGCCACCTGAAAATAAATTGAGGCTAAATTTCATAAA
SNP16 [T/C]	F	GCTTCAAATTTGCTTTTGGTATCAGAGTTTCTCTGGCCTGCATTACTTCTTCTGTAGC
	R	GGCAACAAGGTTACATGCTATACCTTTTCTTACCTTGAAGCATTCCCTTCTGCATATTGAG
SNP17 [A/T]	F	ACTTACATTGAAATGAACTAAACATGTGATTATTACTAATGAAGGACGCAAGTGAATGC
	R	GGTATGGTAAATATAAACAAGGTCCATGACAAGAAAATACACAAGTATGCAGGTCAAACA
SNP18 [T/G]	F	CAAATTCATKTTCTGGATTCTAGTACTGTATCCATCACACATCCTACTCATGGTTGT
	R	ATAAGTTGGTGCCACCACGGCAACTAAGGAAGTCCAACCGGACAGTACAATCACCAAACC
SNP19 [A/C]	F	CAGATTGCGGCTTTGCCAAGTTATCTGCAAATCCATTCAAaTCATGACAAGTGGCTTGT
	R	TTTGGCTCTTCAACGCCAAAAGGGAGGAATGCAAACCTTGTCTCAGTTGTCTGATACGCG

SNP Primer Adı		Primer Dizisi
SNP20 [A/C]	F	ATTCCAATAAGTAGGCACATCATTCAATATTGTTTAGAACCCTATGGGTTTTGGAATgAG
	R	CAAAATATGAGCAAAGAAAGCCCAACCTGTAAGCCATTCATCCATGACAGTTTTACCAA
SNP21 [T/C]	F	TGTTCTTCATTACTATTAGTCCCAATATCTAGCTAAAACCTCCACAaCCGCTTTGAATAG
	R	GTCTCATTCGCAACTTTCATTACTTCATTTCTATGTTTCCAATATCTTGGCCAATTTTCA
SNP22 [C/G]	F	TAATGYGAAGGCTGTGGTTATTATTGCCAAAGTAAGAGAACCAGATTCTAGGAGGTTGAA
	R	TTCAGGTCCATTTCTATTTCCAGAATCCAAGCAACAATCACACAAAGGGGAACCTATATA
SNP23 [T/C]	F	GAAATTGTGTTCTTGCAAGAACTaAGCAGTCTCCGCCAGTCTGAAAAGGACGTCAAGAAA
	R	GGCTCTTCGCCAAAGGTCAAGAGtATACCGaTCTTGAGTCAAGGGTCTTGCTCTGCGCA
SNP24 [A/T]	F	AAAGCAAAGGACAGCATCTAGGAATTGAAATCAACATCCAAGATATAACCAAAGATTTT
	R	TTTTTTCCTCATTTACCCAAATTACAAACAGGCCTATTTCAACGGTCTCTTAAGAAG
SNP25 [T/C]	F	CCCTAAAAAATTCTGTGCAAAAATTATGCTTTAATTTGTTTGCCTTTGAACAAGGCTACTT
	R	CAGTATACAAAGTTTCAAGATCACCTTTTGAAAAATGATGTGGAGCAACTTCTCTTAAA
SNP26 [A/C]	F	GACACAAGTACTAGCAGGGAAGCAAATAATTAACATAACATAGCCTTTTTTTTCCC
	R	GAATAAACCTCTCACCTCACTTCTATTTTATCGTCCAATGCAAACTTAATGAAAAAC
SNP27 [A/G]	F	TATGAGTCTTTGATACTTGTATATTATTATCAACTCCACATTCTCAATCCACACTTGA
	R	CCTCACCATAGTATGTAGTGCTAAATAGTTTATGGTTTATCCTCTGAAAACAGAATTACA
SNP28 [C/G]	F	CTTTGAAATTTATGGCTTCAATATTGCAGTCAAGTTAATGTGGCTGATTTGTTGTAATGT
	R	TGGTGGATCCCAACTGGTCGGGTGATAAGAAGTTTGTATTGAGATTTTTTATATAAGGAT
SNP29 [A/T]	F	GTATCACACAAAAACACAGTCAATCTTGTCAATTGTAATTTCAAGTCTGTCAGAAGAAAA
	R	TTTCAGCCTGTGTATTGAAGTCTTGACKCAGGCATTTAAAAAYACCAGTATAAATCAGCA
SNP30 [A/C]	F	ATTTAAAATGATTAGATGCCAACACAAATGAAAACTTAAGTATGGCTTCTTTGCCAACA
	R	ACCTGCATCCCATATAAACGCCTGAATGGCCATTTGCCGTGATATTTGACTGTGCCAAGG
SNP31 [T/C]	F	TCTTGTGAGGAAcATTGTTGARCAGGCTGCWGTGAGAGATGTGCAGGAGGCtTGTGTCTA
	R	GAGCGTAATACTAAAATTCTTTACCTTcTCTTATTTMATTTTCGTGAAAttcaTATNN
SNP32 [A/G]	F	GGAGCATTCTTCAGCATGTCTGGTATGACCaTAAACCTGCAAACTTATCCTGTCAAAAC
	R	CTATCCTTACAgAAAATGCAATCTACAAATTCAAcCTTATTMATaTATAAATTTTACTTA
SNP33 [A/T]	F	ACTAACAATTAgKTTCCGGCTGCATAACCTaKTCAATTTTTAGGACATCAAATCCTTTct
	R	AAAGTGACCATGTTTGAACATTCAAGgSTGAGTGGAAaYGAAAGGAAAiNNNNNNNNCACT
SNP34 [C/G]	F	TTGATCTTGTCTGAATGGAATTGCTCAAAATAGCTTCTCTCTTCAGCTGGAATCAATAAA
	R	AAACGATGTATCAACATCAACCAACCATCACGCAGCAGCAGACACTGAGAGTATTATCAG
SNP35 [A/G]	F	ACAAAATAGATTAAGTATGTAACAaWCACAAGMGAAAAGGATGCTGGCAGGAGGGTCCAa
	R	GATATACCTTCACAATATTATCAGCGTGTTCATTAACCATGAAACCAAAAGACCAGTAG
SNP36 [C/G]	F	TCCTCATTCCACATGAATCCTTGGATGTTCTGTGTGTAACAAATCCATCAACAACATGtG
	R	TCGACTaCAATAAGTACACAACCAAAAACATAtTCTTCTATGCTTGTTAACTTACATG
SNP37 [A/T]	F	AAGTTGGAATGCAAGCAATATTTGATCCTTTTAGAAGTCTTGTTTTCCTTCAGGGTTCCC
	R	TGTTTCTGGTTCCAACAACAAAACAGAGAGCGTTGAGCCTTATTTTGTACGCAGGTGGGC
SNP38 [A/G]	F	GGACTCGCCAGAAGATTACAGTAAACAACAAGAAGTCCAGGATAATAAAAAGTTACAaC
	R	AGCATGTAGTCCCTGAAAGTTTGAGAACAGAAGTGTGTACAAATGACAACATTTCAAC
SNP39 [T/C]	F	GTTGAAATGTTGTCAATTTGTACAGCACTTCTGTTCTCAAACCTTTCAGGGACTACATGCT
	R	GTTTGTAACTTTTTATTATCCTGGACTTCTGTTGTTTACTGTAATCTTCTGGCGAGTCC

SNP Primer Adı		Primer Dizisi
SNP40 [A/G]	F	TTCAAAACAAATATGGGCAAACAGGTCAGTCAAATAACCAAAGAATGTTGCGCCCTCAA
	R	AAATTGAAAAAACTAAATTACAAACATGGTCAGGGCTCGGGACTGAAGATAAGATCGTC
SNP41 [T/C]	F	ATCAATGAAAGCCAGCAGCATATATATTCTATCACTTTCTACTCACAGTGGCAATGGTtA
	R	CATCAGAGGATCATTCAAGTCAACCAATTAACATAAAATTTTAAGAAAAAGTAAAAAGAT
SNP42 [T/C]	F	TCATTACATTACATTGCAGTTGAGATAACAGAAAAATAACTAACCACAACACAAATGGA
	R	ACTGGATCATCTTTGAGAATGAAATCGTTCTGTAGGTATGATTNNNATGCAAGCAAAAAT
SNP43 [A/G]	F	ATCATGTTCAAGCAAACCTGTAACCAATTtGGTAAACACTGTTCTACAAGCAAGTTTGCAA
	R	CCTAGATTTATGTGTGGTTTTGGCCTCAAAAATGTATAGCTTTGGGTGATTTTGTGTTGATA
SNP44 [A/G]	F	TTAAGGCAGCAAATGGCCACAATTAAGGTGTACTTCCAACATTCACAAAAGGTAGCTACC
	R	TAACAAACATAGTTCATAGAAAGCCAACATGGATTACAAAACCTTAAGAAAAAGCAAGGA
SNP45 [T/C]	F	GTCTGTCAACCAACCAGATCTTCCTGTAAACTAACCCTCaACTTCAATCATAGCCAACAT
	R	GAATAAGCAAAAACCAGGATCACAGTCAAACCAGTCACCGAATCGATTGAATTCTACAAC
SNP46 [T/C]	F	ACCTGAAATICTCTATAAAGAGGGTGTATTATGCATAGTACTACCATTGGGATCAAGCA
	R	TCTGCCATTAGATAACAACAGAAAAGAACTAACTGAAATTATCAAATTACAGTCACTAAA
SNP47 [A/T]	F	TCTTTAAACAACATTTATYATTTGACTAAAAAAGTTCATCTTCAACCTATGATGTCTTG
	R	TCTCAATCACTCTAATTTTGGTTTGCATGCAGCCTGGTATGAGAAACGGCAAAATGAAAA
SNP48 [A/T]	F	GTTTGAAATGCAATTAACCTAAACATCAACAACCTTATGTGGTCCACTCGGtTTGAGACTC
	R	AGATATATTCAGATAAACTTCCCATaAaAATACTTATRTTATGATATGAATTAaGTTTCTC
SNP49 [C/G]	F	ATACTACATSGAGTTATGGTATTAGATTTATACCTGTGGATGCCTGGTTATTCTTATGAT
	R	CCAGTTTCCCATAGATGTAGTTTAGGCTTGTCaagctggcaacctatnaacctagtgca
SNP50 [C/G]	F	ACATGATTGGTCCACATTGAGAAATTGATTATGGGTCCAGAATAGATTTTGAGTTGAAA
	R	AACATTTTAGGTAGCTTTTCAAAAACAATTTGATTTGTTTGGCTTTGTCAACGTTACCC
SNP51 [A/G]	F	AGGGTAAATTCAAGCAGGTACAAGAATAATTGAATgRAATTAGAAAGATTTGGAACCTGG
	R	TAATGGGTGTAGAGAAGTTGAGGGAGGGTTGGAAGCTGAGAGAAGTGGCTGAAAGAGAGG
SNP52 [A/G]	F	ATTTAAGCACAAATTATAAGCTTGCAATTTTAAACGTTTGGGTTTGTAGAAATGTGTCTa
	R	ACTGAAGATTTCGGTTTTAACTGTTTTACTTTTTTAACTTTTTTTTTGTAAAAATAATTAT
SNP53 [A/T]	F	TCTACACATTATTTTAGCCTTTTGGTCATTTWCTAGTTAATACGGAATCTTCATCATGAT
	R	CAGTGAATTTATCCAAGTGGTATGGAGGGTTATGGAGAAAATTCCATAACTGTGTAGAAT
SNP54 [A/T]	F	CTTCACTTGTGCCACTCAGAGTATgCAAGTACGACTGACTGCATTTGATGAATGAAAAAA
	R	TTTTGTTTGTGCGGAATCTTAGAGAAAGATTGTTTTACATGTTTGGTTTATTTAAAAAAA
SNP55 [A/C]	F	ACTACTGTTGTTACCTCACATAGTTTAGATACCATATGCCTTTCATGCTATCTGTtTAAA
	R	AGTTAATCAAGAACCACAATGACTGGGTACCATAGGGTAGAGAGAGATCCATTGAACCA
SNP56 [A/G]	F	TAAATGAATGAATGGTGGATTTTTTTTCCCTGTGGTTTATTCAATTTCTTCATTATTGAGc
	R	TCCCTTATGCACCAAATTGAACTGTTTAATTTAAGAAAAAAATAAAAGAAAAAGAGGA
SNP57 [A/G]	F	AGTTTTTATATAGAATTATAGAAAAGAGTACTACTAACAACCTTTGGAATTTGTTTTTCCC
	R	AAAAGAAAAATACTAGACCAATTCAAACATTATCAATCAAGCCACTTAGTTTTTGTAAAC
SNP58 [A/G]	F	CTTCTATAAAACATAGTGAATCTTCTCTGCTCCACTAGCTGTTCTAATTGCTTCACTCA
	R	ATCATCCTCTGTTTCGTACCTACACTACAACAATTTATATATGGAATTTCTGAAGTAAGT
SNP59 [A/T]	F	AGGGATGTAAGGCATCTCAAGGGTATTACAACCAATTCTGAATAATTAACATTTTTTTT
	R	ATCCAGATCTTGAATCCCTTTCCCTTTTCCATAAAAGAGAACACAACAAAACATACCTTAG

SNP Primer Adı		Primer Dizisi
SNP60 [T/C]	F	CGATACAATGTGTGGNGTATGTGATAATATGTCATGAGTCAATAAGCCTATTCTTGGTtG
	R	TTATATTGGCTATTTGTTTTTGTCTTAAGAAATgCWATTGAATGGAGTtTYTGATAAC
SNP61 [T/C]	F	CTCGACGACCTCCTTCATATTCTTCAAGCTCTTCACCTTCCAAAGGTTCTCTCTCTCT
	R	TAAAATGTTTTCACTCTGTAATTGTTAYGTTKATTTTCTACCGGTCCAATTTTAGATTTT
SNP62 [T/C]	F	GCACAATCAAGATATCATCAGAACATTATAGCCAAAGAGCAACAAAATCTGTTTTCATCA
	R	TACTTTAGTCATTCGTGTAATCAACCATTGAATGTAACATTCCCTTACCACTTGCATGA
SNP63 [A/C]	F	TAATTGATCCTTTTCGTGCGAAGTGGCTCTCACTATCTTCAACAGTTTCTCATTCTCTCAg
	R	AGCCATAGGTTATAATTTTTGGTCCATTTAACCTCATCGCCACTTCTCTCTTGTGGTAC
SNP64 [T/C]	F	GACTTCACGCTTAGGCTCACACTCTATTATAGAGTGAGGATGGCGGTCCCCTTCATCAGG
	R	TTGGTAGTCCAGGTTGTGTACGACCCCCAGTGAAAAACAACCTAAAGTAATGCAAAAATTA
SNP65 [A/G]	F	TTTTGTGATGTTGAAAGCTCGCTAGTCACTTGTAATAACCCCTTAGTAAACTTGCTC
	R	TTAAACCATTAATTTTCTGTACCGTCCcctcTTAAACAACCTTGCTTCTCAACATCCAAA
SNP66 [T/C]	F	TGAAGTTTGMACCCACTTAAtATAYTATGAAATATCTTAATCTCTAGTCGGTGTGAGaTCT
	R	CAACTAGTAAATCAATCCACCAACCTGTGCGAGGGCATAAGgCAGRGGAGCATACATTCC
SNP67 [T/C]	F	TGGTCGAGAATTATTTAATTTACACATACAATATCTATTGCCAACTGGTCTTATTGcAT
	R	AGTTTAACATCTTCACATTTATGATTAATGATAATTGAAATATCTCATTGGAGAAAAGAG
SNP68 [T/C]	F	CTTATGGATTTGTGTGCCTTGTTTGCCGGGAATCATTGTTGGGGTTTTGTTAATtTGGT
	R	GTTGTCTTTTTTAGTTTTTGTATTGGGCGCTGTTCCGTTCCCAAAGACGTTCCCTCAT
SNP69 [A/T]	F	AAATTcATTTCAAAAAAATTCACAATGACAATTTAGCAATTCACATATAAAAAATTTCAC
	R	ATGACAATTTAGCAATTCACAAtGACAATTTTACACGGGAATAGACTATTTACACAAATA
SNP70 [T/C]	F	GTAATCCTAATTACACGGGTAGAATTATAAAAAGGAAAaATGAAAAGATATAAAAAGTTCAT
	R	GATGAGTTGCTAGTCTCTCTCCCAAATCTTACCAAATCATGCCACTTTTCTCTTAGT
SNP71 [T/C]	F	ACTTATTTGAGCTCTTGGAAGTGTCTGTTTAGAAAATCGAATGTTATTAATTGAATTGgA
	R	CTAATCATTGAACCATTTTAGATGGCTTGTGTTTGTaTRGAATATCAACATGCCAGTA
SNP72 [T/C]	F	CGATACAATGTGTGGNGTATGTGATAATATGTCATGAGTCAATAAGCCTATTCTTGGTtG
	R	TTATATTGGCTATTTGTTTTTGTCTTAAGAAATgCWATTGAATGGAGTtTYTGATAAC
SNP73 [A/G]	F	TTGGTGCATGAGGAGCAGCTTAAACGATAACACTTGTGTGATGGTGTACTTCAAAAAGaT
	R	AATATGTTGATTTATTGTGGTCACGGTTGCACGTTTCACAGGCAGGAACTTTGTCCAGAG



## ÖZGEÇMİŞ

Ömer Avıcan 1992 yılında Mardin/Nusaybin’de doğdu. İlk ve ortaokulu Mardin’in Nusaybin ilçesinde Atatürk İlköğretim Okulunda, lise öğrenimini ise Süleyman Bölünmez Lisesinde tamamladı. Lisans öğrenimi için 2011 yılında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü’ne girdi. 2013 yılında İsveç Tarım Bilimleri Üniversitesi Orman Genetiği ve Bitki Fizyolojisi Anabilim Dalı’nda, 2016 yılında İsveç Umea Üniversitesi Moleküler Biyolojik ve Genetik Bölümünde proje uygulama öğrencisi olarak staj yaptı. 2016 yılında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümünden mezun oldu. Eylül 2016’da Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda, Bitki Moleküler Genetiği üzerine yüksek lisans eğitimine başladı.