



**İSPİR FASULYESİ (*Phaseolus vulgaris* L.)
GENOTİPLERİNDE SSR MOLEKÜLER
BELİRTEÇLER İLE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN
BELİRLENMESİ**

Güller ÖZKAN

Yüksek Lisans Tezi

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

2018

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSPİR FASULYESİ (*Phaseolus vulgaris* L.) GENOTİPLERİNDE SSR
MOLEKÜLER BELİRTEÇLER İLE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN
BELİRLENMESİ

Güller ÖZKAN

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

ERZURUM
2018

Her hakkı saklıdır



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



TEZ ONAY FORMU

**İSPİR FASULYESİ (*Phaseolus vulgaris* L.) GENOTİPLERİNDE SSR MOLEKÜLER
BELİRTEÇLER İLE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU danışmanlığında, Güller ÖZKAN tarafından hazırlanan bu çalışma, 26/01/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı – Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ (2./1) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

İmza :

Üye : Prof. Dr. Metin TOSUN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Emre İLHAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun 01/02/2019 tarih ve 5/38 nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü**

Bu çalışma Tübitak 3001 projesi kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 115O260

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İSPIR FASULYESİ (*Phaseolus vulgaris* L.) GENOTİPLERİNDE SSR MOLEKÜLER BELİRTEÇLER İLE GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN BELİRLENMESİ

Güller ÖZKAN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

Kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), insan tüketimi açısından Türkiye gibi dünyada da en önemli yenilebilir baklagil bitkisidir. Farklı çeşitler arasında genetik çeşitliliğin değerlendirilmesi, hastalık direnci, erken olgunluk, yüksek verim ve kuraklığa direnç gibi istenen özelliklerin iyileştirilmesini sağlar. Genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve haritalama çalışmalarının yapılması için en iyi belirteç basit dizi tekrarları (Simple Sequence Repeat) gibi kodominant belirteçlerdir. Ülkemizin Kuzeydoğu Anadolu bölgesine ait gen kaynaklarından 40 yerel çeşit toplanmış ve 5 ticari çeşit ile toplam 45 kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotipinin genetik çeşitliliğin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kullanılan 27 SSR belirteci toplam 142 polimorfik bant üretmiş, belirteç başına allel sayısı 2 (GATS91 ve PVT001 belirteçleri) ile 12 (BM153 belirteci) arasında değişmiş ve ortalama allel sayısı 5.26 olarak bulunmuştur. Belirteç başına gen çeşitliliği, BM053 ve BM153 belirteçleri için 0.37 ve 0.87 arasında değişmiştir. Heterozigot bireylerin popülasyonda orantılı olarak hesaplandığında heterozigotluk, 0.00 ile 1.00 arasında değişmekte olup ortalama 0.30'dur. SSR lokusunun beklenen heterozigotluğu 0.37 (BM053) ile 0.88 (BM153) arasında değişirken ortalama 0.69 olarak bulunmuştur. Nei gen çeşitliliği ortalama (HE) 0.69 olmuştur. Polimorfik bilgi içeriği (PIC) BM053 belirteci ile 0.33, BM153 belirteci ile 0.86 arasında değişmiş ve belirteç başına ortalama 0.63 olarak belirlenmiştir. Genotipler arasındaki genetik uzaklık, NTSYS-pc yazılımı kullanılarak hesaplanmış ve 0.08 ile 0.83 arasında değiştiği gözlenmiştir. En yüksek genetik uzaklığın sırasıyla Karacaşehir-90 ticari çeşiti ile Hat49, Hat50 ve Hat53 (0.83) genotipleri arasında, en düşük genetik uzaklık ise Hat6 ile Hat26 (0.08) arasında olmuştur. Nei'nin genetik mesafesi kullanılarak yapılan kümeleme analizinde 45 kuru fasulye genotipi 3 gruba ayrılmıştır. Bu analiz sonucunda oluşan dendrogram ile coğrafik mesafeler arasında çok az uyuma bulunmuştur. Genetik yapı analizine göre de yerel çeşitler ve ticari çeşitlerin de bulunduğu 3 alt grup meydana gelmiştir. Genetik çeşitlilik ve yapı analizine ait veriler gelecekteki çalışmalar için kuru fasulye ıslah programlarının planlanmasında kullanılabilir. Kuzeydoğu Anadolu Bölgesi'nden toplanan genotipler ve ticari çeşitler arasında varyasyonların mevcut olduğu ve ıslah programlarında kullanılabilecekleri sonucuna varılmıştır.

2018, 50 sayfa

Anahtar Kelimeler: Fasulye genetik ilişki, moleküler belirteçler, yapı analizi

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION of GENETIC DIVERSITY with SSR MOLECULAR MARKERS in THE GENOTYPES of ISPIR BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

Güller ÖZKAN

Ataturk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Field Crops
Cereals and Pulse Crops

Supervisor: Prof. Dr. Kamil HALILOĞLU

Dry bean is one of the most important legumes in human consumption in the whole as well as in Turkey. Assessment of genetic diversity among different varieties help to improve desired characteristics of the crops such as disease resistance, early maturity, high yield and resistance to drought. The best markers for determining genetic diversity and mapping studies are codominant markers such as simple sequence repeat. Forty local landraces were collected from Northeast Anatolia Region and this study was aimed to determine the genetic diversity of 45 dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes with 5 commercial varieties. The 27 SSR markers produced a total of 142 polymorphic bands, ranged from 2 alleles per marker (GATS91 and PVT001) to 12 (BM153 marker) with an average number of 5.26 alleles. The gene diversity per marker varied between 0.37 and 0.87 for BM053 and BM153 markers. When heterozygous individuals are calculated proportionally in the population, the heterozygosity ranged from 0.00 to 1.00, with an average of 0.30. The expected heterozygosity of the SSR locus ranged from 0.37 (BM053) to 0.88 (BM153), with an average of 0.69. Nei gene diversity scoured an average of 0.69. The polymorphic information content (PIC) was 0.33 for the BM053 marker, 0.86 for the BM153 marker and an average of 0.63 per locus. The genetic distance between the genotypes was calculated using NTSYS-pc software and it was changed between 0.08 and 0.83. The highest genetic distance was between Line49, Line50, Line53 (0.83) and cultivar Karacaşehir-90 while the lowest was between Line6 and Line26 (0.08) respectively. In cluster analysis using Nei's genetic distance, 45 dry bean genotypes were divided into 3 groups. As a result of this analysis, very little relationship was found between the dendrogram and the geographical distances. According to the genetic structure analysis, 3 subgroups including local landraces and commercial varieties were found. Data of genetic diversity and structure analysis can be used for planing dry bean breeding program for future studies. There were variations between local genotypes which was collected from Northeastern Anatolia Region and the commercial varieties, and these varieties can be use in breeding programs.

2018, 50 pages

Keywords: Bean genetic relationships, molecular markers, structure.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez konumun belirlenmesinde ve bu araştırmanın her aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen, yaptığım çalışmalarda beni yönlendiren ve her zaman daha iyiye ulaşmam için motive eden, zorluklar karşısında çözümcü, bilgisini ve deneyimlerini paylaşmaktan kaçınmayan, maddi ve manevi her zaman desteğini gördüğüm değerli bilim insanı danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU'na sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın başlangıç aşamasından bitişine kadar her zaman yardımcı olan, sabır gösteren ve desteklerini esirgemeyen hocam Sayın Doç. Dr. Murat AYDIN'a, Sayın Dr. Arash HOSSEIN POUR'a, Sayın Arş. Gör. Selçuk KODAZ'a ve ailelerine teşekkürü bir borç bilirim.

Sabır ve hoşgörü ile her daim desteklerini benden esirgemeyen, kan bağıının önemli olmadığını bir kez daha anlamamı sağlayan, gönül borcumu nasıl ödeyeceğimi bilemediğim her zaman yanımda olan değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Esra ARSLAN'a, Doktora Öğrencisi Selin DOĞAN'a, Uzman Biyolog Merve YÜCE'ye, Doktora Öğrencisi Ceyda IŞIK'a,

Hayatım boyunca yaptığım tüm güzel işlerin ortaya çıkmasını sağlayan, maddi manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili babam Cemal ÖZKAN'a, annem Fatma ÖZKAN'a, babannem Güller ÖZKAN'a, abim Hamza ÖZKAN'a ve canım kardeşim Gülcan AKGÜL'e sonsuz sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Güller ÖZKAN

Ocak, 2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	6
2.1. Fasulyenin (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) tanımı ve önemi.....	6
2.2. Biyoçeşitliliğin Önemi	7
2.3. Fasulye Islahı.....	8
2.4. Bitkilerde Kullanılan Belirteçler	9
2.4.1. Moleküler belirteçlerde arzulanan özellikler.....	10
2.4.2. Moleküler belirteçlerin bitkilerde uygulama alanları.....	11
2.4.3. DNA hibridizasyonuna dayalı	11
2.4.3.a. RFLP (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi)	11
2.4.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) temeline dayalı	12
2.4.4.a. RAPD (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA).....	12
2.4.4.b. AFLP (Çoğaltılan parça uzunluk polimorfizmi)	13
2.4.4.c. SSR (Basit dizi tekrarları).....	13
2.4.4.d. SNP (Tek nükleotid polimorfizmi).....	14
2.4.4.e. iPBS (Primerler arası bağlanma bölgesi).....	15
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal.....	17
3.1.1. Bitki Materyali	17
3.1.2. Çalışmada kullanılan primerler	19
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları.....	20
3.2.2. Bitki materyalinin elde edilmesi.....	22

3.2.3. DNA izolasyonu	23
3.2.4. DNA konsantrasyonu ve kalitesinin belirlenmesi	24
3.2.5. SSR Primerlerinin sulandırılması	24
3.2.6. SSR Moleküler işaretçisi ile PCR analizi.....	25
3.2.6.a. PCR içeriği ve şartları.....	25
3.2.6.b. PCR ürünlerinin yürütülmesi ve görüntülenmesi	25
3.2.7. Verilerin analizi	26
3.2.7.a. SSR belirteçlerinin PIC (Polimorfik Bilgi İçeriği) değerlerinin hesaplanması	26
3.2.7.b. Genotipler içindeki genetik çeşitliliğin tahmini	26
3.2.7.c. Genotipler arasındaki genetik mesafenin tahmini	27
3.2.7.d. Kümeleme analizi.....	27
3.2.7.e. Genetik yapı analizi	27
3.2.7.f. Temel koordinat analizi (PCoA)	28
3.2.7.g. Moleküler varyans analizi	28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	29
4.1. SSR Belirteç Bilgileri	29
4.2. Kümeleme Analizi.....	32
4.3. Genetik Yapı Analizi.....	36
4.4. Temel Koordinat Analizine Göre Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi	38
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	51

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

<	küçük
>	büyük
°C	santigrat derece
µl	Mikrolitre
bç	baz çifti
cm	santimetre
da	dekar
dk	dakika
g	gram
ha	hektar
kb	kilobase pair (kilobaz çifti=kbç=1000 bç)
kg	kilogram
m	metre
M	molar
mg	Miligram
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
ml	mililitre
mm	milimetre
mM	milimolar
n	Döngü sayısı
ng	nanogram
pmol	piko mol
rpm	revolutions per minute (dakikada devir)
sn	saniye
Taq	Taq polymerase (<i>Thermus aquaticus</i> 'dan izole edilen enzim)
V	volt
v/v	Hacim / Hacim

w/v	Ağırlık / Hacim
μM	Mikrogram

Kısaltmalar

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılan Parça Uzunluk Polimorfizmi)
AMOVA	Analysis of Molecular Variance (Moleküler varyans analizi)
BH	Beklenen heterozigotluk
CTAB	Cetyl methyl tri-ammonium bromide
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoksi-Nükleotit Trifosfat
EAS	Etkili allel sayısı
EDTA	Ethylene di-amin tetra acetic acid (Etilen diamin asetik asit)
EST	Expressed Sequence Tags (İfade edilen dizi etiketi)
FAO	Food and Agriculture Organization (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
GBS	Dizileme ile genotiplendirme
I	Shanon bilgi indeksi
iPBS	Primerler Arası Bağlanma Bölgesi
NCBI	The National Center for Biotechnology Information
PBR	Plant Breeders' Rights
PCoA	Principal Coordinates Analysis-PCoA (Temel koordinat analizi)
PCR	Polimerase Chain Reaction (Polimeraz zincir reaksiyonu)
PIC	Polymorphic Information Content (Polimorfik bilgi içeriği)
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA (Rasgele çoğaltılmış DNA polimorfizmi)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilmiş parçaların uzunluk polimorfizmi)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism (Tek nükleotit polimorfizmi)

SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (İstatistik bilgisayar programı)
SRAP	Sequence Related Amplified Polymorphism (Sekansa bağılı çoğaltılmış polimorfizm)
SSR	Simple Sequence Repeats (Basit dizi tekrarları)
STR	Short Tandem Repeats (Kısa bitişik tekrarlar)
TE	Tris-EDTA tamponu
Tris-HCl	Tris-hidroklorür
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average (Aritmetik ortalamaları ile tartılı olmayan çift grup metot analizi)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Fasulye çeşitlerinin toplandığı İspir İlçesi haritası	17
Şekil 3.2. CTAB metodu ile elde edilen DNA'nın %0.8'lik agaroz jel görüntüsü	24
Şekil 4.1. BM210 SSR belirteci ile oluşan bantların jel fotoğrafı	30
Şekil 4.2. BM143 SSR belirteci ile oluşan bantların jel fotoğrafı	30
Şekil 4.3. SSR belirteci kullanarak UPGMA metoduyla oluşturulan kümeleme analizi	34
Şekil 4.4. SSR verilerine göre popülasyon yapısının grafiksel gösterimi.....	37
Şekil 4.5. SSR belirteci kullanarak yapılan temel koordinat analizi ve iki boyutlu diyagram üzerinde ayrımı.....	40
Şekil 4.6. SSR belirteci kullanarak yapılan moleküler varyans analizi (AMOVA)	41

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya’da, Türkiye’de ve Erzurum’da fasulye ekim alanı (ha), üretimi (ton) ve verimi (kg/da)	2
Çizelge 3.1. Fasulye genotipleri, toplandığı yerler ve coğrafik özellikleri.....	18
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan SSR moleküler belirteçlerin bilgileri	19
Çizelge 3.3. SSR moleküler belirteçlerin taramasında kullanılan PCR şartları.....	25
Çizelge 3.4. Bir örnek için kullanılan PCR içeriği	25
Çizelge 4.1. SSR belirtecinden elde edilen bilgiler	30
Çizelge 4.2. SSR belirteçlerinden elde edilen bilgiler	32
Çizelge 4.3. SSR belirteci verilerine dayalı 45 kuru fasulye genotipinde uzaklık tablosu	35
Çizelge 4.4. Fasulye genotiplerin üç alt-popülasyonda üyelik katsayısı	37
Çizelge 4.5. 3 fasulye alt-popülasyonlarında beklenen heterozigotluk ve F_{ST} değerleri	38
Çizelge 4.6. SSR belirteci kullanarak ilk 3 bileşen tarafından varyasyon yüzdesinin gösterimi.....	40

1. GİRİŞ

İnsan yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan enerji çoğunlukla bitkiler tarafından karşılanmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde en önemli sorunlar arasında kalori ve protein yetersizliği yer almaktadır. Bu nedenle hayvansal ve bitkisel proteinlere olan ihtiyaç artmaktadır. Ancak bitkisel proteinlere oranla hayvansal proteinlerin fiyatlarının yüksek olması, ihtiyaç duyulan proteinlerin çoğunun bitkisel kaynaklardan karşılanmasına sebep olmaktadır.

Beslenmede bitkisel kaynaklar içerisinde ilk sırayı tahıllar alırken ikinci sırayı yemeklik tane baklagiller almaktadır. Yemeklik baklagiller içerisinde yer alan fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), dünya ve ülke tarımında önemli yere sahiptir. Fasulye, Orta Amerika yerlileri Aztec ve Maya'lar tarafından 8000 yıl önce ilk kez kültüre alınmıştır (Cardoso *et al.* 2014). Ülkemize 17. yüzyılda giren fasulye, geniş bir varyasyon göstererek iyi adapte olmuştur. Fasulye, ülkemizde tarımı yapılarak toprak ıslahında, insan ve hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır (Şehirli ve Özgen 1988).

Fasulye vitamin ve mineraller, nişasta ve fitokimyasal maddeler bakımından zengin bir kaynak olması yanında, yağ içeriği düşük bir gıda maddesidir (Beebe *et al.* 2000; Svetleva *et al.* 2006; Nyomba *et al.* 2007). Birçok ülkede insanların toplam günlük kalorisinin yaklaşık %15'ini ve günlük proteinin %30'undan fazlasını sağlamaktadır (Hanai *et al.* 2010). Kuru fasulye, yenilebilir kısımları ve bitkisel yapısı bakımından yüksek seviyede genetik çeşitlilik göstermektedir (Biswas *et al.* 2010).

Fasulye tüketici tercihlerine ve çeşitlere göre ya bakla diye adlandırılan yeşil fasulye şeklinde veya kuru fasulye olarak tohumları hasat edilir. Eski çeşitler, çevresel stres faktörlerine karşı daha toleranslı olmaları, organik ve düşük girdi ile yetiştirilebilmeleri, aynı zamanda daha lezzetli olması ve beslenme özellikleri açısından tercih edilmektedir (Klaedtke *et al.* 2017).

Çizelge 1.1. Dünya’da, Türkiye’de ve Erzurum’da fasulye ekim alanı (ha), üretimi (ton) ve verimi (kg/da)

Birim		Dünya	Türkiye	Erzurum
2012	Ekim Alanı	291.26	93.090	11.727
	Üretim Miktarı	24.453.279	200.000	1.719
	Verim	83.96	214.85	147
2013	Ekim Alanı	293.07	84.691	11.401
	Üretim Miktarı	24.617.270	195.000	2.174
	Verim	84	230.25	191
2014	Ekim Alanı	302.93	90.449	11.383
	Üretim Miktarı	26.854.288	215.000	2.299
	Verim	88.65	237.70	202
2015	Ekim Alanı	307.00	93.543	12.071
	Üretim Miktarı	27.644.185	235.000	2.571
	Verim	90.04	251.22	213
2016	Ekim Alanı	293.92	88.548	11.327
	Üretim Miktarı	26.833.394	235.000	2.506
	Verim	91.29	265.39	221

Ülkemizde kuru fasulye ekim alanı son yılda bir önceki yıla oranla azalma göstermesine rağmen üretim miktarında bir değişim gözlenmemiş, verimde ise artış meydana gelmiştir. 2016 yılında ekim alanı 88.548 ha, üretim miktarı 235.000 ton ve verimi 265.39 kg/da olmuştur (FAO 2017). Materyalini topladığımız Erzurum İli’nde ise fasulye ekim alanı yine son yılda bir önceki yıla göre azalmış, buna karşın birim alandan elde edilen verim artmıştır (TÜİK 2017).

Günümüzde ekilebilir araziler ve üretkenlik sınırları giderek azalmakta ve toprağın yiyecek üretme kapasitesini tahrip eden uygulamalar kullanılmaktadır (Ulukan 2011). Bu yüzden toprağın iyileştirilmesindeki doğal yollardan biri de baklagillerin ekimidir.

Fasulye, gelişmiş kök sistemleri ile toprağın alt tabakalarında bulunan besin maddelerini toprak yüzeyine çıkararak toprağı besin maddelerince zenginleştirmektedir. *Rhizobium*

bakterisi fasulye köklerinde nodül oluşturmaktadır (Sprent and Sprent 1990). Baklagillerde azot sabitleyebilme özelliği olmasından dolayı, toprak verimliliğini artırmakta, diğer bitkiler için toprak dokusunu iyileştirmekte ve toprak patojenlerini azaltmaktadırlar. Bu özelliklerinden dolayı ekim sistemlerinde önemli bir bileşen haline gelirler (Graham and Vance 2003; Müller *et al.* 2015). Böylece sulu tarım arazilerinde münavebeye alınması gereken bitkiler arasında yer almaktadır. Buna ek olarak, birçok baklagil bitkisi mikorizal mantarlarla simbiyotik yaşamları yoluyla toprağa bağlı fosfat salgırlar (Sanders and Tinker 1973; Hayman 1983). Aynı zamanda kuru otu hayvan yemi olarak değerli bir kaynaktır (Upadhyaya *et al.* 2011).

Gıda üretim kalitesinin artırılması ve artan insan nüfusunun beslenmesi için önemlidir. Bir ürünün farklı germplazmının bulunması, besin güvenliğinin yanı sıra yiyecek elde etmede yardımcı olabilecek genleri tespit etmek için önemli bir genetik kaynaktır (Zargar *et al.* 2016).

Ekonomik ve beslenme önemine ek olarak, kendi kendine tozlaşması ve genomunun küçük olmasıyla, genetik analizler için mükemmel bir model tür özelliği taşır (Perseguini *et al.* 2011).

Çeşit geliştirme çalışmalarının hızla artması ve tohumluk politikaları ile yurdumuza birçok çeşidin girmesi sağlanmıştır. Yeni çeşitler üretim miktarının yüksek olması konusunda katkı sağlarken, yerel köy çeşitlerine olan ilgiyi azaltarak var olan gen kaynaklarının da azalmasına neden olmaktadır. Yerel köy çeşitleri eşsiz gen kaynaklarıdır, çünkü bazı konulardaki potansiyelleri henüz aydınlatılmamış olup, gelecekteki araştırmalarda kullanılabilecektir (Aydoğan 2017).

Ülkemizin bazı bölgelerinde halen yerel çeşitler kullanılmaktadır ve üretim sonucu elde edilen mahsul yöresel pazarlarda satılmakta, aynı zamanda aile ihtiyacını karşılamaktadır. Yerel çeşitle kuru fasulye yetiştiriciliğinin yapıldığı yerlerden biri de Erzurum'un İspir ilçesidir. İspir ilçesinin coğrafik durumu, iklimi ve toprak yapısı çiftçiler için vazgeçilmez üründen biri olan kuru fasulyede geniş bir varyasyon

oluşturmuştur. İlçede yetiştiriciliği yapılan beyaz taneli şeker fasulyesi tipindeki popülasyon, lezzetli oluşundan dolayı iç pazarda oldukça ilgi görmektedir (Bıyıklı 2015).

İspir ilçesinde üretimi yapılan bu popülasyonun fiziksel ve genetik olarak saf olmayışı, yetiştiricilik ve pazarlamada bazı sorunlarla karşılaşılmasına neden olmaktadır. Bu sebeple üretimin daha verimli hale getirilebilmesi için İspir ilçesinde yetiştirilen popülasyon içerisinde popülasyonu en iyi şekilde temsil edebilen saf hatlar belirlenmiştir (Bıyıklı 2015; Aydoğan 2017).

Bitki genetik kaynaklarındaki çeşitlilik ıslah çalışmaları için oldukça önemlidir. Bu sebeple yerel varyeteler, genetik açıdan kültür bitkilerine yeni özelliklerin kazandırılması ve ileride çıkabilecek sorunların giderilmesi için önemli birer gen kaynağıdır (Ulukan 2011).

Islah çalışmalarında temel amaç, bitkilerin genetik yapılarında meydana gelecek varyasyondan yararlanarak mümkün olduğunca daha kısa sürede, hastalıklara toleranslı, yüksek verimli, daha kaliteli ve adaptasyon yeteneği yüksek olan yeni çeşitlerin elde edilmesidir. Klasik bitki ıslahının uygulama sürecinde melezlemeler ile oluşturulan ve bu kapsamda açılım sergileyen projeniler içerisinde daha iyi nitelikler taşıyan genotipler, gözlemlere dayalı olarak seçilmektedir. Fakat genotip x çevre etkileşiminden dolayı fenotipik seleksiyon oldukça zorlaşmaktadır. Aynı zamanda, bu seleksiyon zahmetli, yüksek maliyetli ve uzun zaman alan işlemlerdir (Güleç vd 2010).

Klasik bitki ıslahında karşılaşılan bu gibi problemlere alternatif olarak moleküler belirteçler kullanılmaya başlanmıştır (Francia *et al.* 2004). Moleküler belirteçlerden çeşit tescil ve sertifikasyonu, kaliteli ve yüksek verimli çeşitlerin belirlenmesi, laboratuvar testleri ile tarla denemelerine ilave olarak kullanılması ve bu gibi sorunların giderilmesinde faydalanılmaktadır (Bilgin ve Korkut, 2005). Moleküler belirteçler, genel olarak ıslahta daha kısa sürede ve daha düşük maliyetle, genetik ve bağlilik haritalamalarında, çeşit tanımlaması ve korunmasında, genotipler arası uzaklığın veya

yakınlığın belirlenmesinde de kullanılmaktadır (Bilgin ve Korkut 2005).

Moleküler belirteçler DNA seviyesinde genotipler arasındaki farklılıkları ortaya çıkararak, genetik kaynakların karakterizasyonu için doğrudan, daha güvenilir ve etkili bir yöntemdir. Fasulyede kullanılan mevcut moleküler belirteçler arasında DNA hibridizasyonuna dayalı RFLP ve PCR tabanlı belirteçler RAPD, ISSR ve SSR ve SNP gibi belirteçler olup, daha kolay, daha ucuz ve daha hızlı oldukları için daha yaygın olarak kullanılırlar. Bununla birlikte, RAPD ve ISSR dominant iken SSR'ler kodominant belirteçlerdir. SSR, küçük DNA dizileri, genellikle 2-6 bp uzunluğundadır ve ökaryotların genomu boyunca dağılmıştır. Genom haritalama, gen etiketleme, genetik çeşitlilik tahmini, çeşit tanımlama ve belirteç destekli seçimde kullanılırlar (Sonnante *et al.* 1994; Mall and Chawla 2014). UPOV'un biyokimyasal ve moleküler teknikleri üzerine çalışma grubu, bitki çeşidi karakterizasyonu için en yaygın kullanılan belirteç sistem olarak SSR'ı belirlemiştir (UPOV 2002). Yapılan çalışmalarda SSR moleküler belirteç sisteminin SNP'e göre daha başarılı sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Müller *et al.* 2015).

Çalışmamız, Erzurum'un İspir İlçesi'nde ziraati yapılarak bölgede ekonomik önemi olan kuru fasulye popülasyonlarının, yüksek tekrarlanabilirlikte, oldukça polimorfik olan ve kodominant özelliği ile heterozigotluk veya homozigotluk durumunun saptanmasına olanak tanıyan, RAPD, RFLP ve AFLP gibi belirteçlerden daha fazla bilgilendirme özelliğine sahip olan SSR moleküler belirteç yöntemini kullanarak, genetik çeşitliliği belirlemek ve hatlar arasındaki akrabalık derecesini bularak ıslah çalışmaları açısından uygun hatların seçilimine yardımcı olmayı amaçlamaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Fasulyenin (*Phaseolus vulgaris* L.) tanımı ve önemi

Fasulye bitkisinin yer aldığı Fabaceae ailesi, Angiyospermiler arasında Orchidaceae ve Compositae'den sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Oldukça geniş olan bu aile yaklaşık 18.000 tür ve 650 cinse sahiptir (Meza *et al.* 2013). Birçoğu, azot fiksasyon kapasitesine sahip çok sayıda faydalı tür içerdiğinden, tarımsal açıdan büyük önem arz etmektedir (Burkart 1952).

Fasulye yaklaşık 8000 yıl önce kültüre alınmıştır (Cardoso *et al.* 2014). *Phaseolus* cinsi içerisinde en yaygın yetiştirilen *Phaseolus vulgaris* türüdür, ayrıca yaygın olarak insan beslenmesinde tüketilen en önemli baklagil bitkilerinden biridir (Müller *et al.* 2015). Kökeni Latin Amerika olan fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) önemli bir baklagil bitkisi olup, ağırlıklı olarak doğu ve güney Afrika ile Latin Amerika'da yetiştirilmektedir (Mercati *et al.* 2013). Fasulye, tropik bölgelerde 300 milyondan fazla insan için besleyici ve düşük maliyetli bir gıda kaynağı olmakla birlikte küçük ölçekli çiftçiler için önemli bir gelir kaynağıdır (Müller *et al.* 2015).

Fasulye diploid olup, $2n=22$ kromozoma sahiptir. Diğer kültür bitkilerine kıyasla küçük bir genoma sahip olan kuru fasulye, börülce (*Vigna unguiculata*) genomuna yakın, soya fasulyesi (*Glycine max*) genomunun yaklaşık yarısı kadar ve bakla genomundan (*Vicia faba*) yaklaşık 21 kat daha küçüktür (Ellwood *et al.* 2008). Kuru fasulye genomu 521 Mb olup, %41 tekrarlı DNA'lardan oluşur (Schmutz *et al.* 2014)

Fasulye büyük oranda kendine tozlaşırken %1-8 oranında yabancı tozlaşır. Ortalama verimin düşük, biyotik ve abiyotik strese karşı duyarlı olmasına rağmen birçok ülkede birincil protein kaynağını oluşturmaktadır. Kuru fasulye tohumlarının ortalama ham protein içeriği %23 iken, bu oran %17.96-27.45 oranında değişmektedir (Rita *et al.* 2009).

2.2. Biyoçeşitliliğin Önemi

Biyoçeşitlilik, türlerin yaşama ortamlarının çeşitli biyotik ve abiyotik faktörler bakımından gösterdiği farklılıkları, ekosistemlerde yaşayan canlıların kendi aralarında, canlılar ile cansızlar arasında, yere ve zamana göre değişen farklılıkları ile genler, türler, ekosistemler ve işlevlerin tamamını ifade etmektedir (Akgün vd 1998).

Birim alandan elde edilen verim, hibrit çeşit ıslahını da kapsayan klasik ıslah uygulamaları, belirteç destekli seleksiyon ve virüssüz üreme için doku kültürü yöntemleri gibi uygulamalarla artırılabilir. Yirminci yüzyılda, yerel çeşitlerin birçoğu, daha fazla tane üreten, ancak öngörülemeyen hastalıklara veya böcek istilalarına karşı savunmasız olan yeni çeşitler ile değiştirilmiştir (Ulukan 2011). İstikrarlı bir besin kaynağı sağlamak için tarımda farklı ürün özelliklerinde çeşitliliğe ihtiyaç vardır. Örneğin, farklı stres koşullarına dayanıklı olan bir çeşit ile yüksek verimli bir çeşidin çaprazlanması sonucunda hem dayanıklı hem de yüksek verimli bir çeşit elde edilebilir, fakat bu özellikleri taşıyan çeşitlere ihtiyaç vardır (Tatum 1971; Rao and Hodgkin 2002).

Bitki popülasyonlarında çeşitlilik, bitki yetiştiricileri için çok önemlidir. Bitki ıslahının temel amacı yüksek verimli, kaliteli, çeşitli iklim ve toprak şartlarına adaptasyon kabiliyeti iyi, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı çeşit elde etmektir. Bitki ıslahçıları, bu hedeflere ulaşmak için bitkiler arasındaki genetik çeşitliliği kullanır. Çevresel koşullara iyi bir şekilde adaptasyon ve bitki ıslahında başarı, genetik çeşitlilik ile ölçülen genetik taban aralığı ile sınırlıdır. Genetik çeşitlilik, bitki ıslahında birçok sorunu gidermek için gereklidir ve bitki genetik kaynakları içindeki biyoçeşitlilikten elde edilmiştir (Ulukan 2011).

Genetik çeşitlilik, arzu edilen niteliklere sahip yeni üstün çeşitlerin geliştirilmesi için gereklidir (Jain 1982). Bu nedenle, türler herhangi bir varyasyon göstermiyorsa genetik çalışmalar yapılamaz. Tek tip bitki yetiştirilmesi genetik kaynakların yok olmasına neden olmaktadır (Bennett 1965). Çeşitliliğin olmaması, bitkilerin gelecekteki olumsuz

durumlara karşı dayanıklılıklarını sınırlamaktadır ve bu durum hem genetikçileri hem de yetiştiricileri uyarmaktadır (Vetela˙inen *et al.* 2008).

Geniş genetik çeşitlilik iyi bir bitki ıslahının ve çevresel koşullara adaptasyonların başarılı bir şekilde geliştirilmesinin temelidir (Hutchinson 1940). Bu bağlamda yerel çeşitlerin varlığı oldukça önemlidir.

Gelişmiş ülkelerde üretim tek tip olma eğilimindedir; modern tarım teknolojisi için verim, kalite, büyüme özellikleri ve olgunluk zamanının aynı olması gerekiyse de, bu tekdüzelik gizli bir tehlike yaratmaktadır; çoğu orijinal genetik çeşitliliğin kaybedilmesi ve genetik tabanın daralmasına neden olmaktadır (Hawkes 2008).

Bitki ıslahında karşılaşılan birçok sorunu (hastalıklara ve zararlılara karşı direnç, soğukluk, kuraklık, tuzlanma vb. stres koşulları ve kalitenin arttırılması) gidermek için gerekli varyasyon hem bugün hem de gelecekteki bitki kaynakları içindeki genetik çeşitliliğe dayanmaktadır. Daha iyi çeşit geliştirmek, bitki çeşitliliğinin geniş bir genetik taban varlığı ile karşılanabilir (Ulukan 2011).

Değerli genetik kaynakların korunması, tarımsal üretim ve gıda güvenliğini artırmanın sürdürülebilir yollarından biridir. Ürünün iyileştirilmesindeki başarının anahtarı, hedef özellikler için ıslah programlarındaki genetik çeşitliliğin devamlılığının sağlanmasıdır.

2.3. Fasulye Islahı

Genetik eşitlilik hakkında bilgi sahibi olmak, bitki ıslahçıları açısından oldukça önemlidir. Cinsler, türler ve popülasyonlar arasında ve kendi ilerinde olan biyoçeşitliliğin bilinmesi önem arz etmekte olup, bu husus ıslah çalışmalarında başarının temelini oluşurmaktadır. Aynı zamanda genetik biyoçeşitliliğin bilinmesi ıslah çalışmaları için anaçların seçiminde önemli bir yere sahiptir (Coors and Pandey 1999).

Islah çalışmaları, gen kaynaklarındaki çeşitlilik ile yakından ilgilidir. Bundan dolayıdır ki yerel varyeteler kültür bitkileri açısından meydana gelebilecek sorunların giderilmesinde ve yeni özellikler kazandırılmasında önem teşkil etmektedirler (Bıyıklı 2015). Son dönemlerde verimi yüksek çeşitlerin daha çok ilgi görmesi, yerel varyetelerin kullanımını oldukça kısıtlamış, birçoğunun yok olmasına sebep olmuş ve olmaya devam etmektedir.

Islahçılar açısından bitkinin gen kaynaklarının çeşitli olması kazandırılması istenen yüksek verim, iri tohum ve hastalıklara dayanıklılık gibi çeşitli özelliklere sahip yeni çeşitlerin geliştirilmesine imkan sağlamaktadır (Villard *et al.* 1998).

Birim alana düşen verimi artırmak ıslah programlarının en önemli amaçlarından biridir (Tosun 2015). Fasulyede verim ve erkencilik açısından varyeteler arasında oldukça fazla farklılıklar bulunduğundan seleksiyona imkan tanımakta (Dreyer and Wielpütz 1998), bu yüzden birçok araştırmada erkenci ve yüksek verimli çeşitlerin geliştirilmesinde olumlu sonuçlar alınmaktadır (Faure *et al.* 1983).

Etkili bir ıslah programını temel olarak bitki türleri içinde genetik çeşitliliğin kapsamı ve doğası hakkında iyi bir bilgi gerektirir. Bir bitkinin genetik çeşitliliğinin bilinmesi, ürün ıslahı için kullanılabilecek önemli bir genetik kaynaktır. Popülasyon yapısının değerlendirilmesi ve germplazmanın genetik çeşitliliği, yeni özellikler ve ürün ıslahı için haritalama ve allelerin ortaya çıkarılmasında önemli bilgiler sağlar (Zargar *et al.* 2016).

2.4. Bitkilerde Kullanılan Belirteçler

Bitkilerde biyoçeşitliliğin belirlenmesi amacıyla yapılan araştırmalarda, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler belirteç yöntemleri kullanılmaktadır.

Farklı kantitatif karakterler arasındaki korelasyonun incelenmesi, verim bileşenlerini iyileştirmek amacıyla seçim yöntemlerinin belirlenebilmesinde fikir sahibi olunmasını sağlar (Panchbhaya *et al.* 2016).

Morfolojik ve agronomik özellikler genetik çeşitliliğe erişmek için düzenli olarak kullanılsa da, genomu kapsamaya yetecek sayıda değildir, çevresel faktörlerden ve gelişme aşamasına bağlı olarak etkilenirler. Buradan hareketle moleküler belirteçler genetik çeşitliliğin analizinde önemli birer araç haline gelmiştir (Ammar *et al.* 2015). Yetiştirme materyallerinin genetik benzerliği ile ilgili bilgiler genetik çeşitliliğin korunmasına ve ıslah programlarının uygulanmasına yardımcı olabilir. Dahası, seçkin yetiştirme materyalinin gen havuzundaki genetik değişkenliği izlemek, ürünü iyileştirmeyi daha verimli hale getirecektir. Morfolojik ve biyokimyasal belirteçlerin sınırlı olması, gen kaynaklarının çeşitliliğinin belirlenmesinde moleküler belirteçlerin kullanımını artırmıştır. Moleküler belirteçler, morfolojik özelliklerin aksine DNA seviyesindeki genotipler arasındaki farklılıkları ortaya çıkarır (Immaculee *et al.* 2015).

2.4.1. Moleküler belirteçlerde arzulanan özellikler

- Polimorfik ve bütün genoma dağılmış olmalı
- Ko-dominant olmalı
- Genetik farklılıkların ortaya çıkarılmasında yeterli olmalı
- Çok sayıda, bağımsız ve güvenilir moleküler belirteç üretmeli
- Basit, hızlı ve ucuz olmalı
- Az miktar DNA ihtiyacı gerektirmeli
- Farklı fenotiplerle bağlantı oluşturmali
- Tekrarlanabilir olmalı
- Çevreden etkilenmemeli.

Bu gibi özelliklere sahip olması avantajdır ama hiçbir moleküler belirteç tekniği bu avantajların tümüne birden sahip değildir. Yapılacak çalışmanın amacına bağlı olarak aranan özelliklerin birkaçına sahip bir belirteç sistemi kullanılmalıdır (Joshi *et al.* 1999).

2.4.2. Moleküler belirteçlerin bitkilerde uygulama alanları

- Genotip tanımlama
- Çeşit tescili
- Islah hatlarının tanımlanması ve tohum saflık testleri
- Hibrit çeşit saflık testleri
- Genetik çeşitliliğin belirlenmesi
- Gen kaynaklarının genetik kökeni
- Tarımsal performansın ve adaptasyon yeteneğinin tahmini olarak sıralanabilir (Güleç vd 2010)

DNA belirteç teknikleri ikiye ayrılmaktadır.

2.4.3. DNA hibridizasyonuna dayalı

2.4.3.a. RFLP (Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi)

RFLP ilk geliştirilen DNA belirteç tekniği olup, insan genom haritalamasında kullanılmak amacıyla üretilmiştir (Botstein *et al.* 1980). RFLP tekniği ile iki restriksiyon bölgesi arasındaki DNA parçacıklarının insersiyon veya delesyonu ile ortaya çıkan değişim belirlenmektedir. Bu belirteç tekniği, araştırılacak olan bireylerden izole edilmiş DNA'lara restriksiyon endonükleaz enzimi ile muamele edilir. DNA'ların parçalarına ayrılmalarından sonra önce agaroz jel elektroforezinde yürütülme, blotlama yapılması daha sonra DNA probu ile hibridizasyona tabi tutulma ve görüntülenerek değerlendirilme aşamalarından oluşmaktadır. Oldukça zaman alması, çok iş gücü gerektirmesi ve çok kaliteli DNA'ya ihtiyaç duyulması bu tekniğin dezavantajları arasındadır. Fakat RFLP tekrarlanabilen ve harika sonuçlar veren bir tekniktir. RFLP ile pek çok bitki ve hayvan türünün genomik tanılanması yapılmıştır.

Guo *et al.* 1991 yılında fasulye bitkisinde RFLP belirteci ile 19 adet prob kullanarak yapmış oldukları çalışmada türler arasında yüksek (%70-86), genotipler arasında düşük

(%22-26) polimorfizm olduğunu belirlemişlerdir.

2.4.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) temeline dayalı

PCR, canlı organizma kullanmadan az miktarda DNA ve enzim kullanılarak gerekli kimyasalların yardımıyla istenilen dizilişte DNA çoğaltma işlemidir (Anne *et al.* 2005).

PCR temelli moleküler belirteçler SSR (basit tekrar dizileri), AFLP (çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi), RAPD (tesadüfi çoğaltılmış polimorfik DNA) ve ISSR (Basit Dizi Tekrar Arası), SRAP (Sekansa Bağlı Çoğaltılmış Polimorfizmi), TRAP (Hedef Bölge Çoğaltım Polimorfizmi) gibi birçok çeşiti bulunmaktadır (Semagn *et al.* 2006; Immaculee *et al.* 2015). Moleküler belirteçler, bireysel genotiplerin karakterizasyonu ve başarılı melezleme için ebeveynlerin seçimi hususunda oldukça önemlidir (Mignouna *et al.* 1998).

2.4.4.a. RAPD (Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA)

RAPD, PCR tekniği kullanarak sentetik primerlerin yardımıyla (genelde 10 baz uzunluğunda) yapılan tesadüfi DNA parçası çoğaltımına dayanan bir belirteç yöntemidir. Polimorfizm, primerlerin bağlanma bölgelerinin çeşitliliği ve buna bağlı olarak oluşan farklı uzunluktaki DNA parçacıklarından kaynaklanmaktadır (Williams *et al.* 1990; Welsh and McClelland 1991). Fasulyede ve birçok bitkide biyoçeşitlilik çalışmalarında kullanılmıştır (Zargar *et al.* 2016).

RAPD moleküler belirteç sisteminin avantajları arasında düşük miktarda DNA ihtiyacı, zaman tüketiminin az olması, primer tasarımının kolay olması, RAPD moleküler belirteçlerin genomik dağılımının bol ve bütün genoma dağılmış olması sayılabilir (Yıldırım ve Kandemir 2001). Buna karşın RAPD moleküler belirteç sisteminin dezavantajı ise tekrarlanabilirliğinin az olması ve dominant olmasından dolayı bilgilendirme gücünün düşük olmasıdır (Dos Santos *et al.* 1994).

2.4.4.b. AFLP (Çoğaltılan parça uzunluk polimorfizmi)

AFLP belirteci, RFLP tekniğinin kesme-tanıma kısımlarının PCR ile çoğaltılmasına dayalı bir DNA moleküler belirteç tekniğidir. DNA'nın spesifik restriksiyon enzimleri ile (EcoR1/Mse I) kesimi ve bu enzim sistemlerine uygun adaptörlerin (primerlerin) kesim bölgelerine DNA ligaz enzimi ile birleştirilir. En son basamakta PCR ile seçici çoğaltım uygulanarak jelde görüntülenir. Vos *et al.* (1995)'nın ilk çalışmalarından itibaren AFLP belirteçleri, çeşitli bitkilerde genetik çeşitliliği değerlendirmek amacıyla başarılı bir şekilde kullanmışlardır (Mueller and Wolfenbarger 1999; Ridout and Donini 1999). AFLP belirteçleri, *P. vulgaris* ve *P. lunatus* türlerinde genetik çeşitlilik ve evrimsel yönlerin değerlendirilmesini amaçlayan çalışmada başarı ile uygulanmıştır (Tohme *et al.* 1996; Caicedo *et al.* 1999).

Yüksek tekrarlanabilirlik, tür içi ve türler arası farklılıkları belirlemede kullanılabilir moleküler belirteç tekniğidir (Powell *et al.* 1996). Fakat dominant belirteç olması dezavantajdır.

2.4.4.c. SSR (Basit dizi tekrarları)

Hamada *et al.* (1982) tarafından basit dizi tekrarları (SSR), ilk önce tüm prokaryotik ve ökaryotik genomlarda sıklıkla meydana gelen kısa tandem tekrar motifleri olduğu tanımlanmıştır. SSR, aynı zamanda, mikrosatellit veya STR (Kısa Bitişik Tekrarlar) olarak bilinen çok tekrarlanan iki-, üç-, dört-, veya beş- nükleotitlik motifler ile (örneğin, CACACACA..., CATCATCAT..., ACGTACGTACGT..., ya da TAAAATAAAAATAAAA) DNA'da bulunan, 1-6 baz çifti uzunluğundaki tekrar eden dizilerdir. SSR hem kodlanan hem de kodlamayan bölgelerde bulunur ve RAPD, RFLP ve AFLP gibi belirteçlerden daha bilgilendirici ve değişkendir (Abuzayed *et al.* 2016). SSR çok alleli ve kodominanttır (heterozigotluk veya homozigotluk durumunu saptanmasına olanak tanır). Bu özelliklerden dolayı en çok kullanılan moleküler belirteçler arasındadır (Akash and Mayers 2012; Zalapa *et al.* 2012). Dahası, SSR türler arası polimorfizmin ortaya çıkması, tüm genom analizi ve kıyaslamalı haritalarını ortaya

çıkarma gibi geniş bir yelpazeye sahiptir (Abuzayed *et al.* 2016). Ayrıca, biyoçeşitlilik araştırmalarında bu belirteçler başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Blair *et al.* 2012). Bu amaçla kullanılan mikrosatellitler, fasulye, börülce, soya fasulyesi, mısır, buğday, pirinç ve sorgum vb. kültür bitkileri ve yabancı türleri arasında akrabalık derecelerini göstermek amacıyla kullanılmaktadır (Abuzayed *et al.* 2016).

Ayrıca DNA seviyesinde genotipler arasındaki farklılıkları ortaya çıkararak, germplazm karakterizasyonu için daha doğrudan, güvenilir ve etkili bir araçtır (Mall and Chawla 2014).

2.4.4.d. SNP (Tek nükleotid polimorfizmi)

Tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler), genom varyasyonunun en yaygın formunu oluşturur ve tüm genom boyunca bolca bulunur (Müller *et al.* 2015). SNP, insan genetiğinde, *Drosophila melanogaster* ve *Arabidopsis thaliana* gibi model organizmalarda standart olarak kullanılmaya başlanmıştır (Loridon *et al.* 2013). Çok-allelik basit sekans tekrarlarının aksine, SNP'ler doğada bi-alleliktir. Bununla birlikte, çok sayıda haplotip, yakından bağlantılı SNP allellerinin analizlerini birleştirerek ayırt edilebilir (Gaitán-Solís *et al.* 2008). SNP'ler bi-allelik olarak polimorfiktir. Üçlü veya dörtlü allel polimorfizmi ortaya çıkabilir fakat sıklığı azdır (Müller *et al.* 2015). Genomdaki SNP'lerin fazlalığı, genetik haritaların ve genetik bağlantı çalışmalarının geliştirilmesinde ilgili genlerin tanımlanmasını sağlar (Galeano *et al.* 2012). Örneğin, soya fasulyesinde, ifade olan ve olmayan bölgelerde tahmini her 2038 ve 191 bç için bir SNP oluşur (Van *et al.* 2005).

Yeni nesil dizileme teknolojileri, tek bir deneyde binlerce SNP'nin tanımlanmasına olanak tanıyan genetik çalışmaların verimliliğini önemli ölçüde arttırmıştır. Dizileme ile genotiplendirme (GBS), mevcut bir referans genomu bulunan veya bulunmayan türler için basit, uygun maliyetli ve çok yönlü bir alternatifi temsil eder. GBS, bir numune havuzunda çok sayıda SNP keşfetmek için kullanılan yeni nesil dizileme teknolojisi içerisinde yer alan bir tekniktir. Yine bu teknik genetik analizleri geliştirmek için

kullanılan yeni bir araçtır (Schroder *et al.* 2016). Özellikle kullanılan kısıtlayıcı enzim (RE) açısından, her tür için özel optimizasyon gereksiniminin varlığı bu teknik için dezavantaj sayılmaktadır (Ariani *et al.* 2016).

2.4.4.e. iPBS (Primerler arası bağlanma bölgesi)

Retrotranspozonlar özellikle bitki türlerinde tüm ökaryotların genomlarında bol miktarda bulunur (Finnegan 1989). Bitki türlerinin genomları retrotranspozon içeriği bakımından farklılık göstermektedir. Genellikle bitki genomunun %50'sini oluştururlar ve %90'a kadar oranları artabilir (SanMiguel *et al.* 1996). Retrotranspozonlar genom yapısı üzerinde yüksek etkiye sahiptir ve kopyalama sayılarındaki artış, bitki genom boyutunda esnekliğe yol açar. iPBS metodunda, bütün canlılarda bulunan tRNA tamamlayıcı bölgelerini temel alarak ters transkriptaz primer bağlanma bölgeleri kullanılırlar. iPBS moleküler belirteci 2 retrotranspozon birbirine ters konumlanmış olmalı ve etkili bir amplifikasyon için birbirine yeterince yakın olması gerekir (Kalender *et al.* 2010).

PCR'da LTR bölgeleri, LTR'ler arası ve PBS dizilimleri çoğaltılmaktadır. (Kalender *et al.* 2010). iPBS bitkilerde pek çok genetik çeşitlilik çalışmalarında başarıyla kullanılmaktadır. Bu kapsamda kayısıda, nohut türlerinde ve asmada, aynı zamanda fasulyede de çalışmalar yapılmıştır (Kalender *et al.* 2010; Nemli *et al.* 2015). Yeni bir tür için retrotranspozon belirteçlerinin gelişimindeki sınırlayıcı faktörler, ürün boyut varyasyonuna dayanır ve her spesifik bölgede çevreleyen genomik DNA ile eşleşen belirteçler tasarlamak için klonlama ve dizi bilgisi gerektirir (Baloch *et al.* 2015).

Genetik Mesafe

Genetik mesafe, allel çeşitliliği açısından bireyler arasındaki varyasyon şeklinde ifade edilebilir. Nei (1983) popülasyon ya da tür arasındaki genetiksel varyasyonu sayısal verilerle ifade etmiştir.

Genetik eşitlilik seviyesinin bilinmesi, genetik değişkenlik analizinin yapılmasına, çeşitlerde farklı ebeveyn kombinasyonlarının seçilimine ve çeşitli genetik kaynaklardan istenen genlerin kullanılabilir genetik tabana dahil edilmesine katkı sağlayabilmektedir (Mohammadi and Prasanna 2003).

Genetik mesafenin ölçümü için en yaygın kullanılan araçlardan biri Nei'in genetik mesafesidir (Nei 1972; Nei 1978). Bu mesafe ile belirlenen genetik varyasyonların kaynağını mutasyonlar ve genetik sürüklenme oluşturmaktadır.

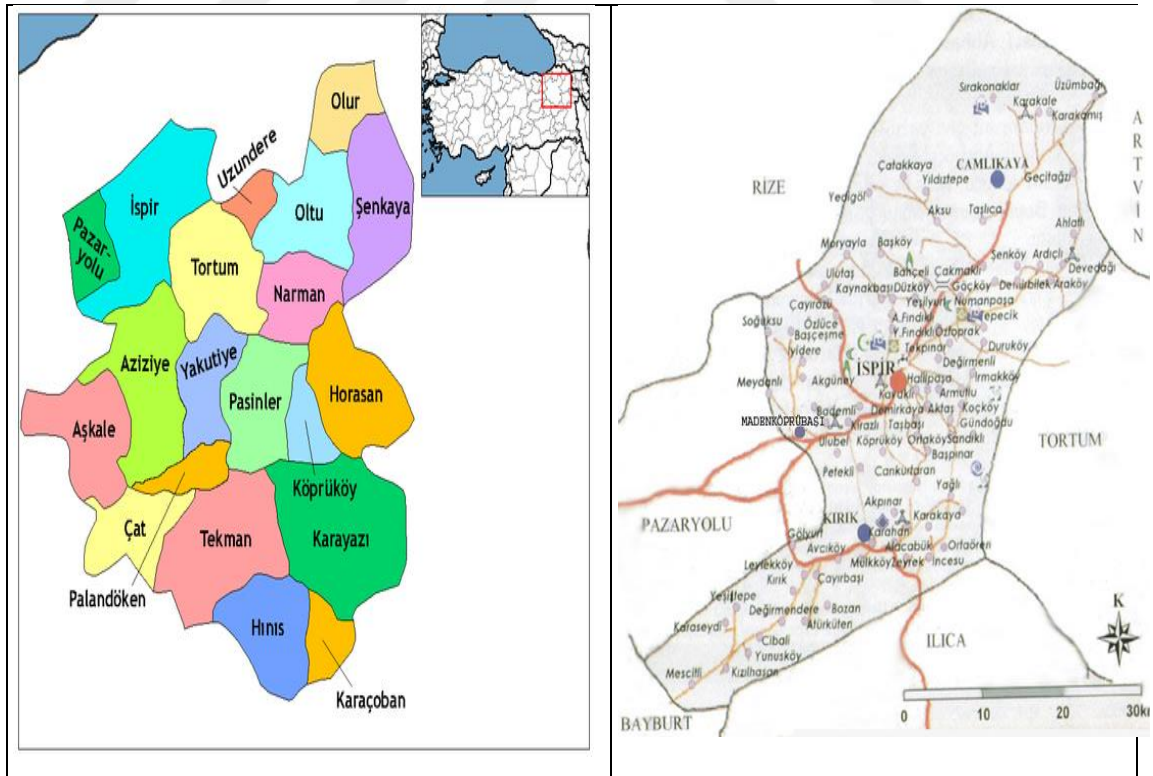


3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Bu araştırmada bitki materyali olarak kullanılan fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) tohumları, İspir ilçesi'nin köylerinde kuru fasulye yetiştiriciliği yapılan tarlalardan tek bitki seleksiyonuyla seçilen 40 adet hat toplanarak elde edilmiştir. Ayrıca Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden Aras-98, Elkoca-05, Göynük-98, Karacaşehir-90 ve Yakutiye-98 çeşitleri temin edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan hatların isimleri, toplandığı bölgelerin isimleri ve coğrafik özellikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Yine fasulyelerin toplandığı ilçe haritası Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Fasulye çeşitlerinin toplandığı İspir İlçesi haritası

Çizelge 3.1. Fasulye genotipleri, toplandığı yerler ve coğrafik özellikleri

Sıra	Genotiplerin kodu	Toplandığı bölge	Lokasyon		
			Enlem	Boylam	Rakım (m)
1	HAT-2	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
2	HAT-3	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
3	HAT-4	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
4	HAT-5	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
5	HAT-6	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
6	HAT-10	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
7	HAT-12	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
8	HAT-14	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
9	HAT-15	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
10	HAT-16	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
11	HAT-17	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
12	HAT-19	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
13	HAT-20	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
14	HAT-21	Öztoprak Köyü	40° 31' 4.8"	41° 3' 7.1994"	1431
15	HAT-26	İspir Merkez Menevşe Mahallesi	40° 29' 5.9994"	41° 0' 7.2"	1264
16	HAT-27	İspir Merkez Gaziler Mahallesi	40° 28' 4.8"	40° 58' 58.7994"	1168
17	HAT-28	İspir Merkez Gaziler Mahallesi	40° 28' 4.8"	40° 58' 58.7994"	1168
18	HAT-32	Yeşilyurt Köyü	40° 31' 4.8"	41° 4' 8.4"	1549
19	HAT-33	Yeşilyurt Köyü	40° 31' 4.8"	41° 4' 8.4"	1549
20	HAT-35	Yeşilyurt Köyü	40° 31' 4.8"	41° 4' 8.4"	1549
21	HAT-39	Maden Köyü	40° 26' 6"	40° 51' 3.5994"	1226
22	HAT-40	Maden Köyü	40° 26' 6"	40° 51' 3.5994"	1226
23	HAT-41	Maden Köyü	40° 26' 6"	40° 51' 3.5994"	1226
24	HAT-42	Maden Köyü	40° 26' 6"	40° 51' 3.5994"	1226
25	HAT-45	Elmalı Beldesi Ağıldere Köyü	40° 24' 3.6"	40° 50' 2.4"	1470
26	HAT-47	Elmalı Beldesi Ağıldere Köyü	40° 24' 3.6"	40° 50' 2.4"	1470
27	HAT-49	Elmalı Beldesi Ağıldere Köyü	40° 24' 3.6"	40° 50' 2.4"	1470
28	HAT-50	Elmalı Beldesi Ağıldere Köyü	40° 24' 3.6"	40° 50' 2.4"	1470
29	HAT-53	Elmalı Beldesi Ağıldere Köyü	40° 24' 3.6"	40° 50' 2.4"	1470
30	HAT-54	Elmalı Beldesi Ağıldere Köyü	40° 24' 3.6"	40° 50' 2.4"	1470
31	HAT-57	Ulubel Köyü	40° 25' 4.7994"	40° 52' 4.8"	1424
32	HAT-59	Ulubel Köyü	40° 25' 4.7994"	40° 52' 4.8"	1424
33	HAT-60	Ulubel Köyü	40° 25' 4.7994"	40° 52' 4.8"	1424

Çizelge 3.1. (devam)

34	HAT-61	Ulubel Köyü	40° 25' 4.7994"	40° 52' 4.8"	1424
35	HAT-62	Ulubel Köyü	40° 25' 4.7994"	40° 52' 4.8"	1424
36	HAT-63	Ulubel Köyü	40° 25' 4.7994"	40° 52' 4.8"	1424
37	HAT-64	Kirazlı Köyü	40° 26' 9.5994"	40° 53' 13.2"	1220
38	HAT-65	Kirazlı Köyü	40° 26' 9.5994"	40° 53' 13.2"	1220
39	HAT-67	Maden Köprübaşı Beldesi Akbağ Mahallesi	40° 26' 2.3994"	40° 49' 8.4"	1286
40	HAT-69	Maden Köprübaşı Beldesi Akbağ Mahallesi	40° 26' 2.3994"	40° 49' 8.4"	1286
	Ticari çeşitler	İslahçı kuruluş			
41	Aras-98	Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Erzurum			
42	Elkoca-05	Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi/Erzurum			
43	Göynük-98	Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Eskişehir			
44	Karacaşehir-90	Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Eskişehir			
45	Yakutiye-98	Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Erzurum			

3.1.2. Çalışmada kullanılan primerler

Çalışmada Yu *et al.* (2000), Blair *et al.* (2003 and 2006) , Gaitan-Solis *et al.* (2002) ve Buso *et al.* (2006)'ın geliştirdiği SSR belirteçlerden birçok araştırmada kullanılan ve yüksek PIC değerine sahip moleküler belirteçlerden 29 çift seçilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan SSR moleküler belirteçlerin bilgileri

	İşaretçi ismi	İleri(5' – 3')	Geri (5' – 3')	Kaynak; Yıl
1	BMd-1	CAAATCGCAACACCTCACAA	GTCGGAGCCATCATCTGTTT	Yu <i>et al.</i> 2000
2	BMd-15	TTGCCATCGTTGCTTAATTG	TTGGAGGAAGCCATGTATGC	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
3	BMd18	AAAGTTGGACGCACTGTGATT	TCGTGAGGTAGGAGTTTGGTG	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
4	BM053	TGCTGACCAAGGAAATTCAG	GGAGGAGGCTTAAGCACAAA	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
5	BM114	AGCCTGGTGAAATGCTCATAG	CATGCTTGTTGCCTAACTCTCT	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
6	BM137	CGCTTACTACTGTACGCACG	CCGTATCCGAGCACCGTAAC	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
7	BM141	TGAGGAGGAACAATGGTGCC	CTCACAAACCACAACGCACC	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
8	BM143	GGGAAATGAACAGAGGAAA	ATGTTGGGAACCTTTAGTGTG	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
9	BM152	AAGAGGAGGTGAAACCTTAAATCG	CCGGGACTTGCCAGAAGAAC	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
10	BM153	CCGTTAGGGAGTTGTTGAGG	TGACAAACCATGAATATGC	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006

Çizelge 3.2. (devam)

11	BM154	TCTTGCGACCGAGCTTCTCC	CTGAATCTGAGGAACGATGACCAG	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
12	BM156	CTTGTTCCACCTCCCATCATAGC	TGCTTGCATCTCAGCCAGAATC	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
13	BM160	CGTGCTTGGCGAATAGCTTTG	CGCGGTTCTGATCGTGACTTC	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
14	BM161	TGCAAAGGGTTGAAAGTTGAGAG	TTCCAATGCACCAGACATTCC	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
15	BM167	TCCTCAATACTACATCGTGTGACC	CCTGGTGTAACCCTCGTAACAG	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
16	BM175	CAACAGTTAAAGGTCGTCAAATT	CCACTCTTAGCATCAACTGGA	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
17	PV-AT001	GGGAGGGTAGGGAAGCAGTG	GCGAACCACGTTTCATGAATGA	Yu <i>et al.</i> 1999
18	PV-AG004	TTGATGACGTGGATGCATTGC	AAAGGGCTAGGGAGAGTAAGTTGG	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
19	PVBR14	ACGCCATCCACCATCCTT	TGAGAAAAGTTGATGGGATTG	Buso <i>et al.</i> 2006
20	BM183	CTCAAATCTATTCACTGGTCAGC	TCTTACAGCCTTGCAGACATC	Gaitan-Solis <i>et al.</i> 2002
21	BM188	TCGCCTTGAACTTCTTGTATC	CCCTTCCAGTTAAATCAGTCG	Gaitan-Solis <i>et al.</i> 2002
22	BM199	AAGGAGAATCAGAGAAGCCAAAAG	TGAGGAATGGATGTAGCTCAGG	Gaitan-Solis <i>et al.</i> 2002
23	BM200	TGGTGGTTGTTATGGGAGAAG	ATTGTCTCTGTCTATTCTTCCAC	Gaitan-Solis <i>et al.</i> 2002
24	BM210	ACCACTGCAATCCTCATCTTTG	CCCTCATCCTCCATTCTTATCG	Gaitan-Solis <i>et al.</i> 2002
25	BM211	ATACCCACATGCACAAGTTTGG	CCACCATGTGCTCATGAAGAT	Gaitan-Solis <i>et al.</i> 2002
26	GATS91	GAGTGCGGAAGCGAGTAGAG	TGTCACCTCTCTCCTCCAAT	Blair <i>et al.</i> 2003 and 2006
27	PVTTTC001	TTTAGCCACCGCAGCACCAC	TGGACTCTAAGAGGCGCAGAAAG	González <i>et al.</i> 2014

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları

0,5 M EDTA, (500 ml stok, pH 8,0)

400 ml ultra saf su içerisine 93 g EDTA (disodyum etilenediaminetetra-asetat·2H₂O) eritilmiş ve pH'sı 8'e ayarlanmıştır. Toplam hacim ultra saf ile 500 ml'ye tamamlanmıştır.

Kloroform:İzoamil alkol

Hazır olarak 24:1 oranında kullanılmıştır.

6X Loading Dye (10 ml)

10 mM Tris-HCL (pH 7,5); 50 mM EDTA; %10 ficol 400; %0,25 bromofenol blue; %0,25 zaylen siyanol FF

1X TE Tampon çözeltisi

Ortamda 10 mM Tris-HCl (pH 8,0) ve 1 mM EDTA (pH 8,0) olacak şekilde hazırlanmıştır. Her 500 ml için: 5 ml 1 M Tris-HCl (pH=7,5), 1 ml 0,5 M EDTA (pH=8,0) olarak toplam hacim 500 ml'ye tamamlanmıştır.

%3'lik Agaroze Jelin Hazırlanışı

Bu araştırmada kullanılan elektroforez tank hacmi 280 ml olup 8.4 g agaroz 280 ml 1X SB bufferda karıştırılıp mikrodalga fırında eritilmiştir. 14 µl etidiyum bromit (10 ng/ml) eklenip tanka dökülmüş, 40-60 dk bekletilmiştir. Daha sonra taraklar yavaşça çıkartılmıştır.

5 M NaCl

1 litre ultra saf suda 292 g NaCl eritilmiştir.

3 M Sodyum Asetat (pH=5)

800 ml ddH₂O içerisinde 408 g sodyum asetat trihidrat (NaC₂H₃O₂·3H₂O) eritilerek 3 M asetik asit ile pH'sı 5'e ayarlanmıştır. Ultra saf su ile toplam hacim 1 litreye

tamamlanmış ve filtreden geçirilerek steril edilmiştir.

10 M Amonyum Asetat (CH_3COONH)

Amonyum asetat 192,70 g tartılıp 250 ml saf suda ısıtılarak eritilmiştir. Sterilizasyon amacıyla filtreden geçirilmiştir.

1 M Tris-HCl (pH 7,5)

TrisBase 121,1 g tartılmış, 120-125 ml HCl ile 1 litre saf suda karıştırılarak otoklavlanmıştır.

20X Sodyum Borat (SB)

500 ml ultra saf suda 45 g borik asit, 8 g NaOH iyice karıştırılmış ve toplam hacmi ultra saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır.

%70'lik Etil Alkol

70 ml %100'lük etil alkolden alınarak, toplam hacmi steril distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

3.2.2. Bitki materyalinin elde edilmesi

Bitki materyali eldesi için tohumlar, serada saksılara (torf-toprak karışımı) ekilmiş ve 15-20 günlük fidelerin taze yapraklarından 7-10 adet her bitkiden alınıp buz içerisinde muhafaza edilmiş, DNA izolasyonu yapılacağı zamana kadar -80°C 'de saklanmıştır.

3.2.3. DNA izolasyonu

DNA izolasyonu için kullanılan materyal yapraklar olup, CTAB yöntemi (Doyle ve Doyle 1987) ile aşağıda verilen şekilde yapılmıştır.

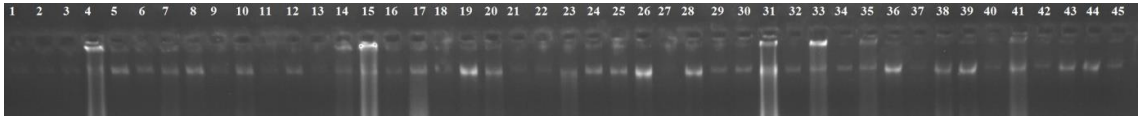
- 1- Yaprak örnekleri seradan alınmıştır.
- 2- Örnekler havan içerisinde sıvı nitrojen ile öğütülmüştür.
- 3- Öğütülmüş haldeki bu örneklerden 300-400 mg tartılarak, 2 ml'lik eppendorf tüplerine alınmıştır.
- 4- Tüplere 1ml önceden ısıtılmış CTAB buffer (%2 CTAB (w/v); 1,42 M NaCl; 200 mM EDTA; 100 mM Tris-HCl, pH 8,0; %1 Na₂S₂O₃; %0,2'lik 2-merkaptoetanol) eklenmiştir. Tüpler yavaşça alt-üst edilerek karıştırılmıştır.
- 5- CTAB buffer eklenmiş tüpler, 65°C'lik su banyosunda 1 saat süre ile bekletilmiştir.
- 6- Bu 1 saatlik süre içerisinde tüpler her 10 dakikada bir yavaşça alt-üst edilerek karıştırılmıştır.
- 7- Bu süre sonunda tüpler 5 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- 8- Daha sonra tüpler 10 dk süre ile 24°C'de 14000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- 9- Bu işleminden sonra üst fazdan yaklaşık 750 µl alınarak yeni tüplere aktarılmıştır.
- 10- Üzerine kloroform-izoamil alkol (24:1)'den 750 µl eklenmiş ve 1 dk süre ile yavaşça alt-üst edilmiştir.
- 11- Tüpler 4°C 14000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra üst fazdan 600 µl alınarak yeni tüplere aktarılmış ve üzerine 600 µl kloroform-izoamil-alkol (24:1) eklenmiştir.
- 12- Tüpler tekrar 4°C 14000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
- 13- Buz içerisinde olan yeni tüplere üst fazdan 500 µl aktarılmış, üzerine 100 µl amonyum asetat (10 M), 100 µl sodyum asetat (3 M PH=5,5) ve 500 µl (-20°C'de önceden soğutulmuş) izopropanol ilave edilmiştir. (Tüpler bu aşamada yavaşça alt-üst edilmiş ve DNA'nın sarmal yapısının görülmesi sağlanmıştır)
- 14- Daha sonra tüpler 4°C 14000 rpm'de 10 dk süre ile santrifüj edilmiş ve üst faz dökülerek uzaklaştırılmıştır. Böylece DNA pelletinin görülmesi sağlanmıştır.
- 15- DNA'nın bulunduğu her tüpe 200 µl %70'lik etanol eklenerek yıkanması sağlanmıştır.

- 16- Tüpler 14000 rpm’de 3 dakika santrifüj edilmiş ve üst faz dökülmüştür.
- 17- DNA’lar oda koşullarında bekletilerek kurutulması sağlanmıştır.
- 18- Kurutulan DNA örnekleri üzerine 150 µl TE buffer eklenerek çözündürülmüş ve -20°C’de saklanmıştır.

3.2.4. DNA konsantrasyonu ve kalitesinin belirlenmesi

DNA örneklerinin kantitatif tayini için her örnekten 2 µl alınmış NanoDrop® ND-1000 (NanoDrop Technologies, USA) spektrofotometre cihazı kullanılarak 260/280 oranı ile protein kontaminasyonu ve A260/230 oranı ile polifenol ve polisakaritler kontaminasyonu belirlenmiştir. Bu oranlar 1,7- 2,2 ve 2-2,2 arasında olması gerekir. En uygun değer A260/280 oranının 1,8’dir.

DNA örneklerinin kalitatif tayini için 1X SB buffer ile hazırlanan %0,8’lik agaroz jelle 5 µl DNA örneği, 5 µl ultra saf su ve 3 µl 6X loading buffer yani toplamda 13 µl olacak şekilde hazırlanıp kuyucuklara yüklenmiştir. 60 V’da 30 dk süre ile yürütülmüştür. UV ışığında DNA bantları görüntülenmiştir (Şekil 3.2). Daha sonra DNA konsantrasyonu PCR analizinde kullanılmak üzere 30 ng/µl olacak şekilde hazırlanmış ve -20°C’de saklanmıştır.



Şekil 3.2. CTAB metodu ile elde edilen DNA’nın %0.8’lik agaroz jel görüntüsü

3.2.5. SSR Primerlerinin sulandırılması

Firmanın belirttiği kullanma talimatına göre 29 çift SSR primeri ultra saf su ile sulandırılmıştır. Primerlerin yoğunlukları 100 pmol veya 1 µM olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.2.6. SSR Moleküler işaretçisi ile PCR analizi

3.2.6.a. PCR içeriği ve şartları

SSR moleküler belirteçlerde bulunan diziyi çoğaltmak amacıyla yapılan PCR işlemi SensoQuest LabCycler (SensoQuest GmbH, Goettingen, Germany) cihazı ile yapılmıştır. SSR moleküler belirteçlerin taramasında kullanılan PCR şartları Çizelge 3.3'te belirtilmiş ve PCR içeriği ise Çizelge 3.4'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. SSR moleküler belirteçlerin taramasında kullanılan PCR şartları

Reaksiyon basamağı	Reaksiyon sıcaklığı	Reaksiyon süresi
1. Başlangıç denatürasyonu	95°C	2 dk
2. Denatürasyon	95°C	30 sn
3. Yapışma	47-58°C	1 dk
4. Uzama	72°C	1 dk
5. Döngü	2'den 4'e kadar	37 kez
6. Son uzama	72°C	5 dk

Çizelge 3.4. Bir örnek için kullanılan PCR içeriği

Bileşen	Miktar (µl)
10X PCR Buffer	2
MgCl ₂ (25mM)	2
dNTP (10mM)	0.5
Primer (10 pmol)	2
Taq DNA polimeraz (1U)	0.5
Ultra saf su	11
DNA (50 ng/µl)	2
Toplam Hacim	20

3.2.6.b. PCR ürünlerinin yürütülmesi ve görüntülenmesi

%3'lük hazırlanan agaroz jelde yüklenen PCR ürünleri 150 voltta 2 saat yürütülmüş, etidyum bromit ile boyanmıştır. UV ışık cihazı (Vilber Lourmat, France) altında Nikon Coolpix500 makinesi ile fotoğrafı çekilerek görüntülenmiştir.

3.2.7. Verilerin analizi

Jel üzerinde görüntülenen bantlar Total Lab TL120 (Non-linear Dynamics, Total Lab Ltd., Newcastle Upon Tyne, United Kingdom) programı ile işaretlenmiş, polimorfik olup olmamasına göre 0 (yok) veya 1 (var) olarak skorlanmıştır.

3.2.7.a. SSR belirteçlerinin PIC (Polimorfik Bilgi İçeriği) değerlerinin hesaplanması

Her SSR belirtecin PIC değerleri aşağıda belirtilen formüller kullanılarak hesaplanmıştır. Kodominant moleküler belirteç sisteminde olan SSR, allel kodlamasıyla ve Power Marker (Liu and Muse 2005) programını kullanarak PIC değerleri hesaplanmıştır.

$$PIC: 1 - \sum p_i^2 \text{ (Anderson et al. 1993)}$$

Formülde p ve q mevcut ve kayıp bantın frekansı; p_i = i'inci allelin frekansı

3.2.7.b. Genotipler içindeki genetik çeşitliliğin tahmini

Genotipler içindeki genetik çeşitliliği Nei'in gen çeşitlilik indeksi (Nei et al. 1983) ve Shannon bilgi indeksi (Lewontin 1995) kullanarak aşağıdaki eşitliklerden ve Popgen programıyla (Yeh et al. 1997) hesaplanmıştır.

$$D = 1 - \sum p_i^2$$

$$H = - \sum p_i \log_2 p_i$$

P_i= i'inci allel için allel frekansı

3.2.7.c. Genotipler arasındaki genetik mesafenin tahmini

Genotipler arasındaki genetik mesafe Nei'in katsayısını (Nei *et al.* 1983) kullanarak Popgen programıyla (Yeh *et al.* 1997) hesaplanmıştır.

$$D = \frac{-\ln[\sum X_i Y_j]}{\sqrt{X_i Y_j}}$$

X_i=i allel frekansı X popülasyonunda

Y_j= j allel frekansı Y popülasyonunda

3.2.7.d. Kümeleme analizi

SSR belirtecinden elde edilen verilerin kümeleme analizi için NTSYS-pc versiyon 2.11f (Rohlf 1992) kullanılmıştır. Gruplandırma SAHN alt programı ve aritmetik ortalamaları ile tartılı olmayan çift grup metot analizi (UPGMA) metodu kullanılarak yapılmıştır. Kümeleme analizlerinin uyum iyiliğini sağlamak amacıyla, kofenetik katsayıları NTSYS-pc kullanarak hesaplanmıştır.

3.2.7.e. Genetik yapı analizi

Genotiplerin genetik yapılarının belirlenmesi için STRUCTURE 2.2 programı kullanılmıştır (Pritchard *et al.* 2000). Fasulye ile yapılan birçok genetik çeşitlilik çalışmasında STRUCTURE programı kullanılarak genotipler başarılı bir şekilde gruplara ayrılmaktadır (Blair *et al.* 2012; Hegay *et al.* 2012). F-istatistik (F_{ST}) değeri alt-popülasyonlar arasında görülen farklılaşmayı yansıtmaktadır (Zargar *et al.* 2016).

3.2.7.f. Temel koordinat analizi (PCoA)

GenAlex programı kullanarak, genotipler arasındaki çeşitliliği daha iyi anlamak amacıyla temel koordinat analizi yapılmıştır. İlk iki koordinatın toplam varyansı kapsayarak elde edilen 2 boyutlu diyagram üzerinde gruplar belirlenmiştir ve kümeleme analiziyle karşılaştırılmıştır.

3.2.7.g. Moleküler varyans analizi

Popülasyonlar içi ve arası genetik varyans, AMOVA yöntemi kullanarak GenAlex programıyla (Peakall and Smouse 2006) incelenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

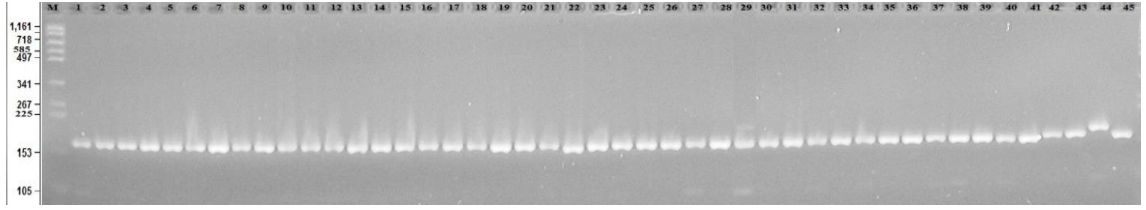
PCR çalışmasında 29 çift SSR belirtecinden 27 çifti değerlendirilebilir sonuç vermiştir. BM210 belirteci ile yapılan PCR sonucunda agaroz jel elektroforezi ile yapılan yürütme sonucunda oluşan bantların görüntüsü Şekil 4.1’de ve BM143 belirteci ile oluşan bantların görüntüsü Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

4.1. SSR Belirteç Bilgileri

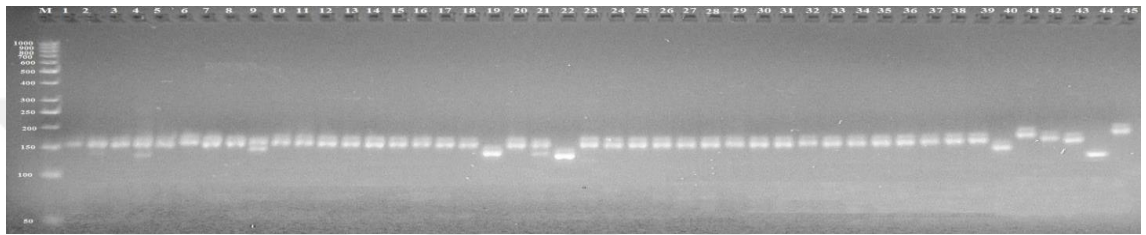
Çalışmamızda 27 SSR belirteci, toplamda 142 bant üretmiştir. Allel sayısının 2 (PVT001) ile 12 (BM153) arasında değiştiği gözlemlenirken, ortalaması 5.26 olmuştur (Çizelge 4.1). Dutta *et al.* (2016) 52 kuru fasulye genotipinde 30 SSR belirteci kullanılarak yaptıkları araştırmada toplam 150 allel elde etmişlerdir. Allel sayısının 1 ile 19 arasında değiştiğini ve lokus başına allel sayısının 5 olduğunu bulmuşlardır.

Polimorfik bant sayısı 142, her lokus için allel sayısı ise 5.26 olarak belirlenmiştir. Her SSR belirteci için polimorfizm oranı %100 bulunmuştur.

SSR belirteci ile yapılan analiz sonucunda elde edilen polimorfik bilgi içeriği (PIC) ortalama değeri 0.63 olurken, en düşük değer BM053 lokusunda 0.33 ve en yüksek değer BM153 lokusunda 0.86 olduğu gözlemlenmiştir. BM141 (0.81), BMd1 (0.81), BM153 (0.81) ve PVAT001 (0.81) gibi belirteçlerin PIC değerlerinin yüksek olması nedeniyle fasulye genetik çeşitlilik çalışmalarında tercih edilebilirler (Çizelge 4.1). PIC değeri bir belirtecin ayırım gücünü göstermektedir. Çalışmamızda 0,33 ile 0,86 arasında değişmiştir. Fasulyede SSR belirteçleri ile yapılan çalışmalarda PIC değerinin, Mall and Chawla (2014) 0 ile 0,79 arasında (ortalama 0,37), Rebaa *et al.* (2017) 0,31 ile 0,81 arasında (ortalama 0,61), Dutta *et al.* (2016) 0,38 ile 0,94 arasında (ortalama 0,72) olduğunu gözlemlemişlerdir.



Şekil 4.1. BM210 SSR belirteci ile oluşan bantların jel fotoğrafı (M=Vivantis MilliMark PCR Marker)



Şekil 4.2. BM143 SSR belirteci ile oluşan bantların jel fotoğrafı (M=Thermo Scientific GeneRuler 50 bp DNA Ladder)

Çizelge 4.1. SSR belirtecinden elde edilen bilgiler

Lokus	Allel sayısı	Polimorfik bant sayısı	Allel frekansı	Gen çeşitliliği	Heterozigotluk	PIC	Polimorfizm yüzdesi
BM053	3	3	0.78	0.37	0.00	0.33	%100
BM114	6	6	0.36	0.74	0.93	0.69	%100
BM137	6	6	0.29	0.78	0.00	0.75	%100
BM141	7	7	0.22	0.83	0.98	0.81	%100
BM143	11	11	0.29	0.78	0.96	0.75	%100
BM152	6	6	0.33	0.75	1.00	0.71	%100
BM153	12	12	0.20	0.87	0.51	0.86	%100
BM154	4	4	0.67	0.48	0.00	0.42	%100
BM156	5	5	0.30	0.77	1.00	0.73	%100
BM160	7	7	0.32	0.77	0.96	0.73	%100
BM161	3	3	0.49	0.57	0.00	0.48	%100
BM167	6	6	0.28	0.80	0.00	0.77	%100
BM175	3	3	0.38	0.66	0.00	0.59	%100
BM183	3	3	0.59	0.50	0.00	0.40	%100
BM188	5	5	0.44	0.67	0.00	0.61	%100
BM199	3	3	0.42	0.64	0.00	0.56	%100
BM200	4	4	0.42	0.68	0.87	0.62	%100
BM210	6	6	0.47	0.71	0.00	0.67	%100
BM211	6	6	0.31	0.79	0.00	0.76	%100

Çizelge 4.1. (devam)

BMd1	7	7	0.22	0.83	1.00	0.81	%100
BMd15	4	4	0.36	0.73	0.00	0.68	%100
BMd18	3	3	0.58	0.56	0.00	0.49	%100
GATS91	2	2	0.62	0.47	0.00	0.36	%100
PVAG004	6	6	0.49	0.69	0.00	0.65	%100
PVAT001	8	8	0.24	0.83	0.00	0.81	%100
PVBR14	4	4	0.31	0.74	0.00	0.69	%100
PVTT001	2	2	0.60	0.48	0.00	0.36	%100
Ortalama	5.26	5.26	0.41	0.69	0.30	0.63	100

Çalışmamızda en düşük beklenen heterozigotluk 0.370 ile BM053 lokusunda, en yüksek beklenen heterozigotluk ise 0.882 ile BM153 lokusunda ve ortalama 0.693 olduğu gözlemlenmiştir. Blair *et al.* (2012)'nin yapmış olduğu bir çalışmada, 104 yabani fasulye genotipinde 36 adet SSR belirteci ile yaptıkları analiz sonucunda en yüksek beklenen heterozigotluk değeri PVAT001 belirteci ile 0.96, ortalama beklenen heterozigotluk değerinin ise 0.660 olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmadaki bulgular ile araştırmamızın bulguları benzerlik göstermektedir (Çizelge 4.2). Zargar *et al.* (2016) 51 fasulye genotipinde 15 RAPD ve 23 SSR belirteci kullanarak yapmış olduğu analiz sonucunda beklenen heterozigotluk değerleri, ilk alt popülasyonda 0.2192, ikinci alt popülasyonda 0.2124 ve üçüncü alt popülasyonda 0.2821 olarak bulmuşlardır.

Araştırmamızda, Shanon bilgi indeksi 0.663-2.202 (GATS91-BM153) arasında değişirken, ortalama 1.343 olarak tespit edilmiştir. Baloch *et al.* (2015) 138 bezelye genotipinde 12 iPBS belirteçleri ile yapmış oldukları çalışmada Shanon bilgi indeksini 0.24-0.58 arasında değiştiğini ve ortalamanın 0.39 olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada 65 *Vigna umbellata* genotipinde 28 SSR belirteci ile yapılan analiz sonucunda 6 coğrafik grup oluşturmuşlar ve Shanon bilgi indeksinin 0.845-1.019 arasında değiştiğini gözlemlemişleridir (Iangrai *et al.* 2017).

Bu araştırmamızda etkili allellerin sayısı 1.578-7.864 (BM053-BM153) arasında ve ortalamasının 3.749 olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. SSR belirteçlerinden elde edilen bilgiler

Sıra numarası	İşaretçi adı	BH	EAS	I
1	BM053	0.370	1.578	0.665
2	BM114	0.746	3.824	1.472
3	BM137	0.793	4.633	1.614
4	BM141	0.84	5.921	1.832
5	BM143	0.790	4.581	1.752
6	BM152	0.763	4.074	1.515
7	BM153	0.882	7.864	2.202
8	BM154	0.487	1.930	0.846
9	BM156	0.778	4.336	1.529
10	BM160	0.775	4.281	1.619
11	BM161	0.581	2.351	0.9291
12	BM167	0.806	4.930	1.6542
13	BM175	0.667	2.939	1.088
14	BM183	0.506	2.004	0.764
15	BM188	0.676	3.017	1.223
16	BM199	0.646	2.770	1.054
17	BM200	0.688	3.129	1.243
18	BM210	0.714	3.403	1.450
19	BM211	0.803	4.856	1.668
20	BMd1	0.843	6.026	1.841
21	BMd15	0.738	3.708	1.349
22	BMd18	0.571	2.298	0.944
23	GATS91	0.475	1.887	0.663
24	PVAG004	0.695	3.199	1.420
25	PVAT001	0.841	5.973	1.895
26	PVBR14	0.744	3.785	1.356
27	PVTT001	0.483	1.916	0.671
	Ortalama	0.693	3.749	1.343

BH: Beklenen heterozigotluk, EAS: Etkili allel sayısı, I: Shanon bilgi indeksi

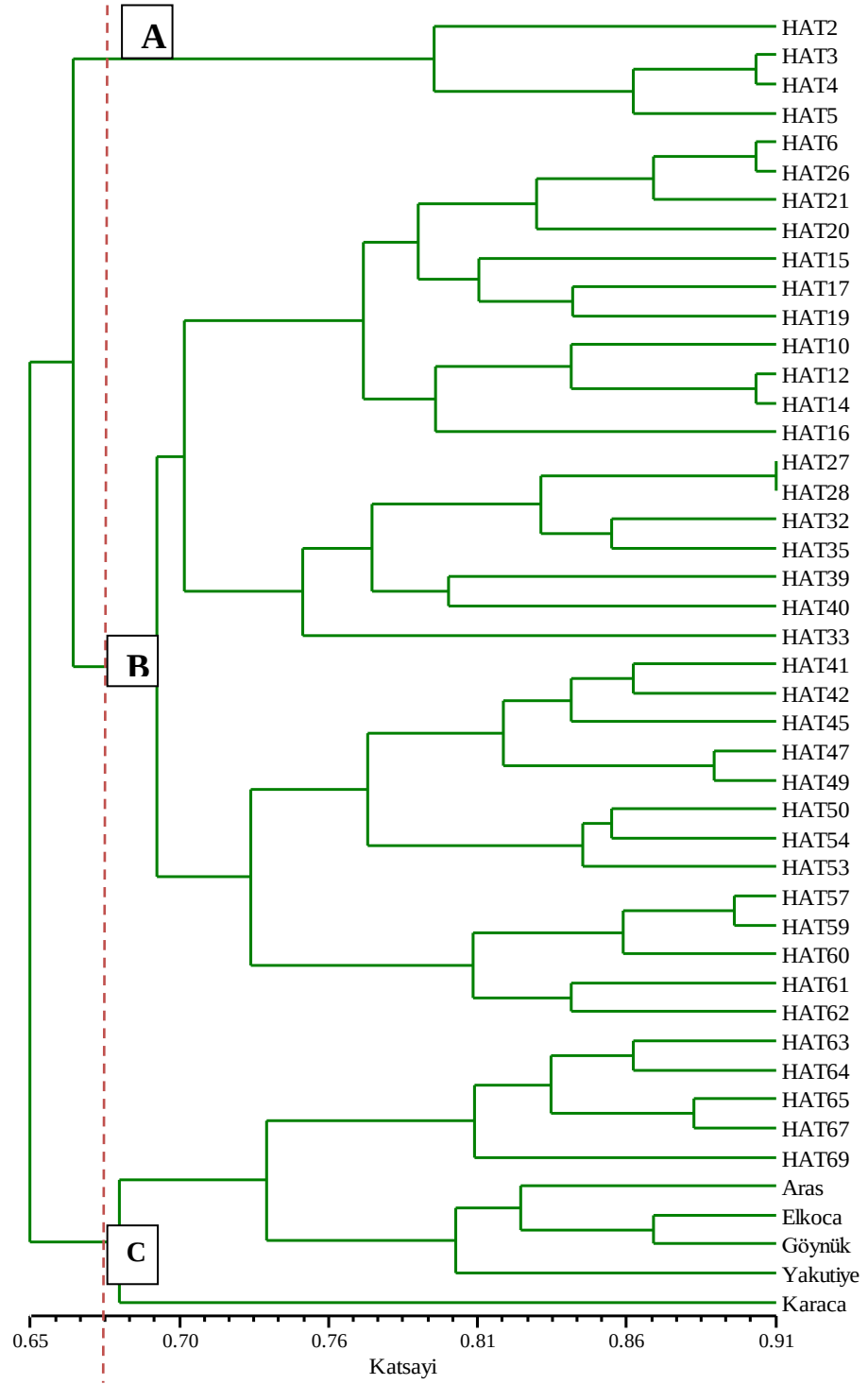
4.2. Kümeleme Analizi

Moleküler dizi verilerinin kıyaslamalı analizi genotipler arasında yakınlık veya uzaklığın belirlenmesi sağlar ve bununla birlikte filogenetik ağaç oluşturarak genotiplerin kümelerini gösterir. Bu amaçla Nei'nin genetik mesafesi ve aritmetik ortalamaları ile tartılı olmayan çift grup metot analizi (UPGMA) yöntemi kullanılarak fasulyeler arasında küme analizi yapılmıştır. Bu analiz sonucuna göre üç büyük küme

(A, B ve C) meydana gelmiştir. A kümesinde Hat2, Hat3, Hat4 ve Hat5 yerel çeşitleri yer almıştır. B kümesinde Hat6, Hat10, Hat12, Hat14, Hat15, Hat16, Hat17, Hat19, Hat20, Hat21, Hat26, Hat27, Hat28, Hat32, Hat33, Hat35, Hat39, Hat40, Hat41, Hat42, Hat45, Hat47, Hat49, Hat50, Hat53, Hat54, Hat57, Hat59, Hat60, Hat61 ve Hat62 yerel çeşitlerinin bulunduğu gözlemlenmiştir. C kümesinde ise Hat63, Hat64, Hat65, Hat67 ve Hat69 yerel çeşitleri ile Aras-98, Elkoca-05, Göynük-98, Yakutiye-98 ve Karacaşehir-90 ticari çeşitleri bulunmaktadır. Bu kümede Karacaşehir-90 ticari çeşiti diğerlerinden farklı bir alt kümede yer almıştır (Şekil 4.3).

Çizelge 4.3'te Nei'nin genetik mesafesi verilmiştir. En yüksek genetik uzaklık oranı 0.83 ile Karacaşehir-90 ticari çeşiti ile sırasıyla Hat49, Hat50 ve Hat53 yerel çeşitleri arasında olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın en düşük genetik uzaklık ise Hat6 ile Hat26 arasında ve oranın ise 0.08, bu takiben 0.09 ile Hat27 ve Hat28 yerel çeşitleri arasında olduğu gözlenmiştir.

Perseguini *et al.* (2011)'nin yapmış oldukları bir araştırmada 60 kuru fasulye genotipinde 85 adet SSR belirteci kullanmışlar ve oluşan UPGMA dendrogramı sonucunda genetik uzaklıkları 0.37 ve 0.63 arasında değiştiğini ve bu değerlerin yüksek genetik varyasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Yine 2012 yılında yapılan bir araştırmada 30 SSR belirteci kullanılarak 50 kuru fasulye genotipinde genetik çeşitliliğin belirlenmesini amaçlamışlar ve kümeleme analizi sonucunda iki büyük kümenin oluştuğunu bulmuşlardır. Ticari çeşitlerin (%66.6) ve yerel çeşitlerin (%84.2) çoğu ikinci grupta toplanırken, ticari çeşitlerin (%33.4) ve yerel çeşitlerin (%15.7) küçük bir kısmı ise ilk grupta toplandığını belirtmişlerdir (Khaidizar *et al.* 2012).



Şekil 4.3. SSR belirteci kullanarak UPGMA metoduyla oluşturulan kümeleme analizi

Çizelge 4.3. SSR belirteci verilerine dayalı 45 kuru fasulye genotipinde uzaklık tablosu

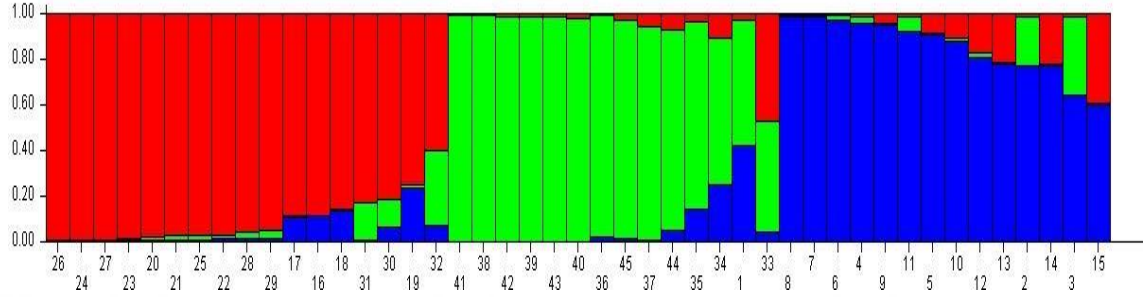
	HAT2	HAT3	HAT4	HAT5	HAT6	HAT10	HAT12	HAT14	HAT15	HAT16	HAT17	HAT19	HAT20	HAT21	HAT26	HAT27	HAT28	HAT32	HAT33	HAT35	HAT39	HAT40	HAT41	HAT42	HAT45	HAT47	HAT49	HAT50	HAT53	HAT54	HAT57	HAT59	HAT60	HAT61	HAT62	HAT63	HAT64	HAT65	HAT67	HAT69	Aras	Elkoca	Göynük	Karaca	Yakutiye					
HAT2	0,00																																																	
HAT3	0,26	0,00																																																
HAT4	0,26	0,12	0,00																																															
HAT5	0,31	0,17	0,17	0,00																																														
HAT6	0,47	0,40	0,50	0,30	0,00																																													
HAT10	0,32	0,23	0,25	0,20	0,28	0,00																																												
HAT12	0,36	0,33	0,33	0,19	0,20	0,20	0,00																																											
HAT14	0,39	0,33	0,42	0,22	0,20	0,18	0,10	0,00																																										
HAT15	0,48	0,48	0,42	0,31	0,23	0,32	0,22	0,19	0,00																																									
HAT16	0,52	0,45	0,60	0,39	0,27	0,32	0,26	0,22	0,26	0,00																																								
HAT17	0,40	0,40	0,40	0,35	0,26	0,31	0,25	0,25	0,23	0,20	0,00																																							
HAT19	0,54	0,47	0,50	0,43	0,22	0,31	0,30	0,27	0,25	0,30	0,17	0,00																																						
HAT20	0,56	0,42	0,52	0,39	0,20	0,32	0,28	0,26	0,31	0,31	0,32	0,25	0,00																																					
HAT21	0,54	0,47	0,56	0,43	0,14	0,42	0,25	0,25	0,23	0,27	0,33	0,26	0,20	0,00																																				
HAT26	0,62	0,43	0,50	0,35	0,08	0,31	0,25	0,27	0,25	0,27	0,39	0,19	0,20	0,15	0,00																																			
HAT27	0,50	0,47	0,50	0,37	0,24	0,31	0,32	0,30	0,37	0,27	0,36	0,31	0,30	0,22	0,22	0,00																																		
HAT28	0,52	0,45	0,48	0,38	0,27	0,43	0,33	0,31	0,36	0,38	0,43	0,37	0,33	0,25	0,25	0,09	0,00																																	
HAT32	0,54	0,43	0,50	0,40	0,31	0,48	0,40	0,35	0,40	0,35	0,48	0,42	0,35	0,24	0,28	0,24	0,16	0,00																																
HAT33	0,62	0,50	0,50	0,50	0,39	0,52	0,47	0,47	0,47	0,40	0,42	0,33	0,50	0,36	0,33	0,39	0,37	0,22	0,00																															
HAT35	0,56	0,56	0,56	0,48	0,35	0,50	0,52	0,48	0,36	0,45	0,54	0,40	0,31	0,27	0,25	0,25	0,19	0,18	0,30	0,00																														
HAT39	0,52	0,65	0,65	0,56	0,37	0,50	0,52	0,56	0,52	0,45	0,47	0,35	0,42	0,35	0,35	0,32	0,33	0,25	0,30	0,19	0,00																													
HAT40	0,67	0,62	0,62	0,58	0,39	0,60	0,50	0,58	0,43	0,50	0,52	0,45	0,43	0,33	0,33	0,35	0,39	0,33	0,27	0,25	0,00																													
HAT41	0,48	0,56	0,52	0,52	0,25	0,43	0,39	0,36	0,39	0,42	0,40	0,37	0,36	0,32	0,27	0,30	0,26	0,27	0,35	0,19	0,22	0,23	0,00																											
HAT42	0,52	0,56	0,56	0,56	0,30	0,43	0,45	0,36	0,42	0,42	0,43	0,40	0,45	0,35	0,32	0,30	0,28	0,30	0,37	0,22	0,31	0,35	0,15	0,00																										
HAT45	0,65	0,76	0,80	0,52	0,35	0,43	0,48	0,39	0,39	0,52	0,50	0,37	0,52	0,40	0,32	0,30	0,39	0,43	0,40	0,31	0,42	0,32	0,22	0,17	0,00																									
HAT47	0,58	0,58	0,62	0,67	0,36	0,48	0,54	0,50	0,47	0,47	0,45	0,39	0,43	0,39	0,36	0,31	0,37	0,36	0,36	0,25	0,30	0,26	0,18	0,14	0,18	0,00																								
HAT49	0,47	0,54	0,58	0,58	0,36	0,45	0,43	0,40	0,36	0,36	0,47	0,36	0,38	0,26	0,32	0,33	0,33	0,32	0,30	0,36	0,20	0,20	0,27	0,14	0,00																									
HAT50	0,54	0,50	0,54	0,62	0,39	0,52	0,54	0,54	0,50	0,40	0,45	0,45	0,62	0,52	0,39	0,39	0,37	0,39	0,39	0,40	0,37	0,45	0,27	0,27	0,32	0,19	0,14	0,00																						
HAT53	0,62	0,50	0,54	0,67	0,39	0,52	0,58	0,54	0,50	0,54	0,60	0,48	0,43	0,42	0,39	0,36	0,35	0,52	0,48	0,35	0,50	0,48	0,27	0,27	0,27	0,24	0,31	0,19	0,00																					
HAT54	0,36	0,39	0,48	0,48	0,32	0,40	0,42	0,42	0,45	0,36	0,37	0,43	0,60	0,43	0,35	0,40	0,39	0,50	0,43	0,42	0,45	0,47	0,31	0,31	0,36	0,25	0,25	0,18	0,18	0,00																				
HAT57	0,45	0,48	0,48	0,52	0,40	0,47	0,45	0,39	0,42	0,39	0,40	0,47	0,42	0,47	0,43	0,37	0,28	0,40	0,43	0,31	0,48	0,40	0,26	0,26	0,36	0,27	0,27	0,25	0,18	0,17	0,00																			
HAT59	0,43	0,43	0,43	0,43	0,39	0,45	0,37	0,32	0,32	0,35	0,33	0,33	0,32	0,36	0,39	0,36	0,27	0,42	0,48	0,40	0,50	0,45	0,35	0,35	0,40	0,42	0,31	0,36	0,26	0,23	0,13	0,00																		
HAT60	0,43	0,50	0,47	0,43	0,36	0,48	0,40	0,35	0,30	0,37	0,33	0,48	0,40	0,42	0,38	0,42	0,32	0,42	0,52	0,40	0,58	0,60	0,35	0,30	0,40	0,45	0,39	0,33	0,26	0,25	0,18	0,17	0,00																	
HAT61	0,31	0,36	0,39	0,39	0,50	0,40	0,36	0,31	0,33	0,45	0,40	0,43	0,39	0,54	0,47	0,62	0,48	0,62	0,62	0,52	0,65	0,67	0,48	0,48	0,52	0,62	0,47	0,40	0,35	0,28	0,26	0,16	0,16	0,00																
HAT62	0,35	0,35	0,40	0,40	0,42	0,42	0,32	0,32	0,35	0,35	0,33	0,42	0,47	0,45	0,39	0,48	0,40	0,45	0,56	0,43	0,47	0,65	0,40	0,43	0,62	0,48	0,39	0,39	0,25	0,32	0,26	0,19	0,18	0,00																
HAT63	0,31	0,33	0,28	0,42	0,40	0,37	0,28	0,36	0,39	0,45	0,37	0,40	0,60	0,43	0,47	0,58	0,52	0,54	0,54	0,58	0,67	0,45	0,45	0,60	0,54	0,50	0,47	0,43	0,31	0,31	0,30	0,32	0,26	0,18	0,00															
HAT64	0,45	0,42	0,36	0,48	0,50	0,47	0,42	0,45	0,48	0,48	0,40	0,47	0,70	0,47	0,54	0,50	0,42	0,47	0,62	0,52	0,56	0,67	0,48	0,33	0,48	0,47	0,47	0,47	0,43	0,36	0,31	0,30	0,27	0,39	0,23	0,14	0,00													
HAT65	0,48	0,45	0,42	0,56	0,54	0,47	0,45	0,48	0,52	0,42	0,43	0,50	0,70	0,58	0,50	0,58	0,52	0,58	0,67	0,65	0,52	0,73	0,52	0,48	0,65	0,58	0,58	0,43	0,47	0,36	0,42	0,40	0,30	0,33	0,20	0,14	0,19	0,00												
HAT67	0,47	0,50	0,43	0,62	0,45	0,52	0,50	0,62	0,40	0,47	0,36	0,42	0,47	0,39	0,45	0,56	0,58	0,48	0,56	0,43	0,43	0,65	0,54	0,50	0,62	0,52	0,52	0,42	0,48	0,43	0,47	0,45</																		

4.3. Genetik Yapı Analizi

Bu araştırmada, 45 fasulye genotipinde katılımın popülasyon yapısı, STRUCTURE 2.2 sürümü ile SSR verilerine göre sınıflandırılmıştır (Şekil 4.4). Şekil 4.4'te gösterildiği gibi genotiplerin az karışımı ile üç alt popülasyon elde edilmiştir. Örneklerin toplandığı yerlerin birbirine bağlı olması, bu üç popülasyonun karışma sebebi olarak sayılabilir.

Genetik yapı analizi sonuçlarına bakıldığında fasulye genotipleri üç alt-popülasyona ayrılmıştır ($K=3$). Çalışmamızda popülasyon sayısının (K değerinin) düşük olması, örneklerin alındığı bölgeler arasındaki gen akış oranının yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Bu verilere göre ilk alt-popülasyonda yerel çeşitler; 17 (Hat28), 18 (Hat32), 19 (Hat33), 20 (Hat35), 21 (Hat39), 22 (Hat40), 23 (Hat41), 24 (Hat42), 25 (Hat45), 26 (Hat47), 27 (Hat49), 28 (Hat50), 29 (Hat53), 30 (Hat54), 31 (Hat57) ve 32 (Hat59), ikinci alt-popülasyonda ticari çeşitler 41 (Aras-98), 42 (Elkoca-05), 43 (Göynük-98), 44 (Karacaşehir-90) ve 45 (Yakutiye-98) ile birlikte 5 tane yerel çeşitler 36 (Hat63), 37 (Hat64), 38 (Hat65) ve 39 (Hat67) yer alırken, üçüncü alt-popülasyonda ise yine yerel çeşitler 1 (Hat2), 2 (Hat3), 3 (Hat4), 4 (Hat5), 5 (Hat6), 6 (Hat10), 7 (Hat12), 8 (Hat14), 9 (Hat15), 10 (Hat16), 11 (Hat17), 12 (Hat19), 13 (Hat20), 14 (Hat21), 15 (Hat26), 33 (Hat60), 34 (Hat61) ve 35 (Hat62) yer almaktadır. F_{ST} (F -istatistik) değeri birinci, ikinci ve üçüncü alt-popülasyonlarda sırasıyla 0.34, 0.26 ve 0.41 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5). Fakat üçüncü alt-popülasyona ait genetik varyasyon değeri diğer iki alt-popülasyona kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca genetik yapı analizi, UPGMA kümeleme analizi ile aynı sayıda grup elde edildiği gözlenmiştir. Sharma *et al.* (2013)'ün yapmış oldukları 149 kuru fasulye genotipinde 24 SSR belirteci kullanmışlardır. Çeşitliliği değerlendirdikleri analiz sonucunda $K=3$ alt grup bulmuşlardır. Yine diğer bir çalışmada Zargar *et al.* (2016) 15 RAPD ve 23 SSR belirteci kullanarak 51 fasulye genotipinde genetik yapı analizi ve UPGMA kümeleme analizi yapmışlardır. Genetik yapı analizi sonucuna göre $K=3$ alt grup bulmuşlar ve UPGMA analiz sonucuna göre yine aynı sayıda grup meydana geldiğini belirtmişlerdir. Genetik yapı analizi sonucuna göre F_{ST} değerleri 1. alt grupta 0.4047, 2. alt grupta 0.3799 ve 3. alt grupta 0.2059 olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmalarında yüksek bir F_{ST} değeri elde ettiklerini ve bunun nedenin, farklı belirteçlerin kullanılması olabileceğini belirtmişlerdir.



Şekil 4.4. SSR verilerine göre popülasyon yapısının grafiksel gösterimi

[Her fasulye genotipi için alt grup 1 (kırmızı), alt grup 2 (yeşil) ve alt grup 3 (mavi) genotipleri temsil eden dikey bir çizgi ile gösterilir (K=3)]

Çizelge 4.4. Fasulye genotiplerin üç alt-popülasyonda üyelik katsayısı

Sıra numarası	Genotip	Alt popülasyon sayısı		
		I	II	III
1	HAT-2	0.026	0.551	0.422
2	HAT-3	0.009	0.216	0.775
3	HAT-4	0.008	0.349	0.643
4	HAT-5	0.01	0.027	0.963
5	HAT-6	0.085	0.005	0.91
6	HAT-10	0.007	0.017	0.975
7	HAT-12	0.006	0.006	0.988
8	HAT-14	0.005	0.004	0.99
9	HAT-15	0.04	0.01	0.95
10	HAT-16	0.102	0.018	0.88
11	HAT-17	0.014	0.064	0.922
12	HAT-19	0.167	0.025	0.808
13	HAT-20	0.208	0.007	0.785
14	HAT-21	0.218	0.009	0.773
15	HAT-26	0.387	0.006	0.607
16	HAT-27	0.88	0.005	0.115
17	HAT-28	0.885	0.006	0.108
18	HAT-32	0.853	0.01	0.137
19	HAT-33	0.746	0.016	0.238
20	HAT-35	0.977	0.01	0.013
21	HAT-39	0.971	0.018	0.012
22	HAT-40	0.969	0.015	0.016
23	HAT-41	0.98	0.007	0.014
24	HAT-42	0.987	0.007	0.006
25	HAT-45	0.97	0.016	0.015

Çizelge 4.4. (devam)

26	HAT-47	0.991	0.005	0.004
27	HAT-49	0.987	0.006	0.007
28	HAT-50	0.951	0.029	0.02
29	HAT-53	0.947	0.034	0.019
30	HAT-54	0.808	0.124	0.068
31	HAT-57	0.826	0.161	0.013
32	HAT-59	0.599	0.323	0.078
33	HAT-60	0.466	0.488	0.046
34	HAT-61	0.102	0.644	0.254
35	HAT-62	0.035	0.82	0.145
36	HAT-63	0.006	0.97	0.024
37	HAT-64	0.057	0.931	0.013
38	HAT-65	0.006	0.989	0.005
39	HAT-67	0.01	0.983	0.007
40	HAT-69	0.02	0.974	0.006
41	Aras-98	0.005	0.99	0.004
42	Elkoca-05	0.01	0.984	0.006
43	Göynük-98	0.012	0.982	0.007
44	Karacaşehir-90	0.069	0.879	0.053
45	Yakutiye-98	0.028	0.957	0.015

Çizelge 4.5. 3 fasulye alt-popülasyonlarında beklenen heterozigotluk ve F_{ST} değerleri

Alt-popülasyon (K)	Beklenen heterozigotluk	F_{ST}
1	0.243	0.34
2	0.269	0.26
3	0.228	0.41
Ortalama	0.247	0.34

4.4. Temel Koordinat Analizine Göre Genetik Çeşitliliğin Belirlenmesi

Temel koordinat analizi (PCoA), birden fazla lokus ve birden fazla örnek içindeki ana kalıpları bulup arşivleyebilmenizi sağlayan çok değişkenli bir veri kümesidir. Bu teknik ile bireyler arasında benzerlik veya uzaklık matrisi ile oluşan iki boyutlu diyagram sayesinde meydana gelen gruplar arasındaki mesafeler, gerçek uzaklıkları yansıtmaktadır (Mohammadi and Prasanna 2003). Rohlf (1972) bu gibi durumlarda yani verilerde birçok kaybın olduğu veya az sayıda karakterin bağlı olduğu durumlarda temel

koordinat analizi, temel bileşenler analizine göre tercih edilmesinin uygun olduğunu belirtmiştir. Temel koordinat analizi (PCoA), popülasyonlar arasındaki nispi genetik mesafelerin mekansal gösterimini sağlamak için kullanılmaktadır (Klaedtke *et al.* 2017).

Bu analiz Nei'nin tarafsız genetik mesafesinden faydalanılarak yapılmıştır. İlk üç bileşen çeşitliliğin %50.85'ini açıklamaktadır. Temel koordinat analizinin üç ana koordinatının her biri tarafından açıklanan genetik çeşitlilik yüzdeleri (1, 2 ve 3) sırasıyla 20.57, 16.96 ve 13.33 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6).

İlk iki bileşenin üzerinde elde edilen 2 boyutlu diyagramda gruplar tam olarak ayrılmamışlardır. Ticari çeşitler (Aras-98, Göynük-98, Yakutiye-98 ve Karacaşehir-90), Maden Köprübaşı Beldesi Akbağ Mahallesi'nden (Hat67 ve Hat69), Ulubel Köyü'nden (Hat60, Hat62 ve Hat63) ve Kirazlı Köyü'nden (Hat64 ve Hat65) toplanan yerel çeşitler Eksen 1'in sağ alt köşesinde yer almıştır. Eksen 1'e bakıldığında sağ üst tarafında ise Ulubel Köyü (Hat61) ve Öztoprak Köyü (Hat2, Hat3, Hat4, Hat5, Hat10, Hat12, Hat14, Hat15 ve Hat17)'ünden toplanan yerel çeşitlerin bulunduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5).

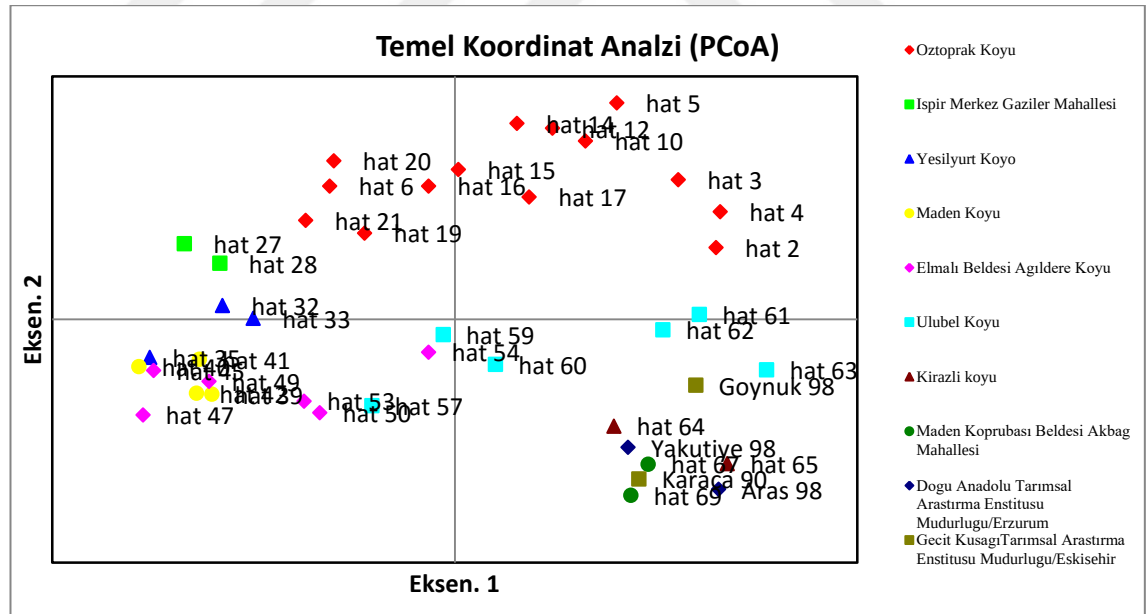
Elmalı Beldesi Ağıldere Köyü (Hat45, Hat47, Hat49, Hat50 ve Hat53), Maden Köyü (Hat39, Hat40, Hat41 ve Hat42), Ulubel Köyü (Hat57) ve Yeşilyurt Köyü'nden (Hat35) toplanan bazı yerel çeşitler Eksen 1'in sol alt tarafında iç içe geçmiş şekilde yer almaktadır. Yine sol alt tarafta Elmalı Beldesi Ağıldere Köyü (Hat54), Ulubel Köyü (Hat59) ve Yeşilyurt Köyü (Hat33)'ünde bulunan bazı yerel çeşitler dağınık bir şekilde bulunmaktadır. Eksen 1'in sol üst tarafında ise Öztoprak Köyü (Hat6, Hat16, Hat19, Hat20 ve Hat21), İspir Merkez Gaziler Mahallesi (Hat27 ve Hat28) ve Yeşilyurt Köyü'nden (Hat32) alınan bazı yerel çeşitler dağınık halde yer aldığı gözlenmiştir (Şekil 4.5).

Klaedtke *et al.* (2017)'ın çalışmalarında SSR belirteci kullanarak 15 fasulye çeşidinde temel koordinat analizi yapmışlar ve çeşitliliğin toplamı %77.7, ilk iki ekseninde açıklanmaktadır; birincisi %56.6, ikinci sıra %21.1 olduğunu tespit etmişlerdir. Temel koordinat analizi sonuçlarına göre popülasyonlar çeşitliliğe göre açıkça gruplandırıldığını belirtmişlerdir.

Kwak and Gepts (2009) Andean ve Mesoamerican gen havuzlarından toplamda 349 yabani ve kültür kuru fasulye genotipinde SSR belirteci kullanılarak genetik çeşitliliğinin yapısını ve seviyesini nasıl değiştirdiğini değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmalarında Eksen 1’de %53 ve Eksen 2’de %13 olarak bulmuşlardır. Temel koordinat analizi ile genetik yapı analizi sonucu birbirine yakın olduğunu bildirmişleridir.

Çizelge 4.6. SSR belirteci kullanarak ilk 3 bileşen tarafından varyasyon yüzdesinin gösterimi

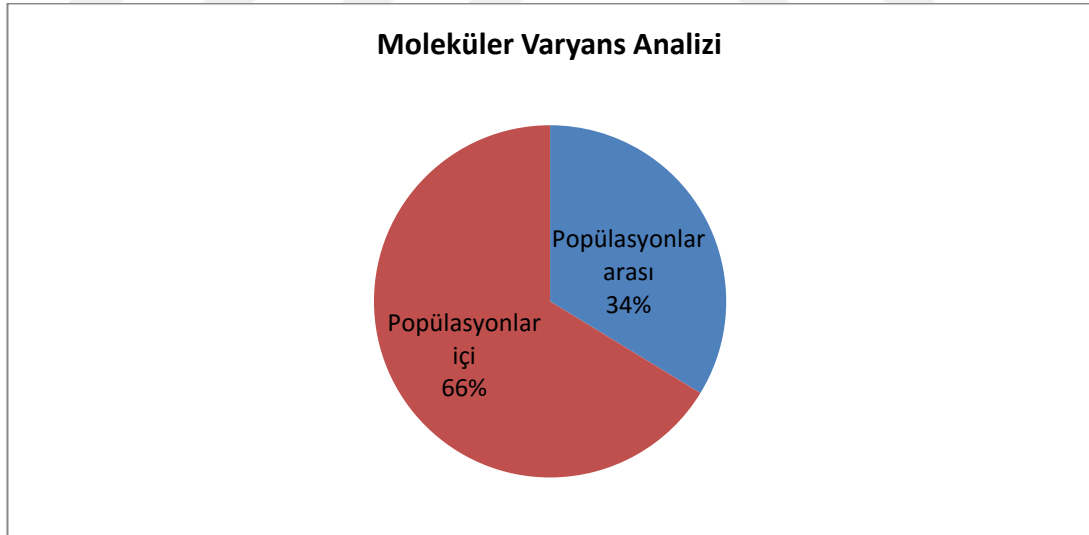
Bileşenler	1	2	3
Varyasyon Yüzdesi %	20,57	16,96	13,33
Kümülatif varyasyon yüzdesi %	20,57	37,52	50,85



Şekil 4.5. SSR belirteci kullanarak yapılan temel koordinat analizi ve iki boyutlu diyagram üzerinde ayrımı

4.5. Moleküler Varyans Analizi

Popülasyonlardaki varyasyonu değerlendirmek amacıyla yapılan moleküler varyans analizi (AMOVA) popülasyonlar arası %34 ve popülasyonlar içi ise %66 olduğu gözlenmiştir. Blair *et al.* (2012) 104 yabancı fasulye genotipinde 36 adet SSR belirteci ile yaptıkları çalışmada AMOVA, popülasyonlar içi varyansı %98 olduğunu belirlemişlerdir. Diğer bir araştırmada 21 bakla genotipinde 8 SSR belirteci kullanmışlardır. Yaptıkları AMOVA analizi sonucunda, genetik varyansın büyük çoğunluğu popülasyonlar içi %83 olarak ve popülasyonlar arası %17 olarak bulmuşlardır (Rebaa *et al.* 2017). SSR verilerini kullanarak yapılan AMOVA, popülasyonlar içi genetik varyasyonun önemli ölçüde belirlediğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmalar sonucu ile kıyaslandığında bizim çalışmamız genetik varyas değerinin biraz daha düşük olduğunu fakat popülasyonlar içi varyansın popülasyonlar arası varyansa kıyasla yüksek olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.6. SSR belirteci kullanarak yapılan moleküler varyans analizi (AMOVA)

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Fasulye genotiplerinde 27 SSR belirteci kullanılmış, toplamda 142 bant ürettiği ve lokus başına allel sayısının 5.6 olduğu gözlemlenmiştir. Allel sayısının 2 ile 12 arasında değiştiği bulunmuştur. SSR verilerine göre tüm belirteçlerde polimorfizm oranı %100 olmuştur.

Genetik yapı analizine ve UPGMA analizine göre 3 grup oluşmuştur.

Çeşitli stres koşullarına dayanıklı hatların veya daha verimli türlerin elde edilmesinde kullanılan melezleme çalışmaları için genotiplerin genetik varyasyonu hakkında bilgi oldukça önemlidir. Bu nedenle, gen kaynağındaki genetik değişkenliğinin değerlendirilmesi, üstün çeşitlerin iyileştirilmesi ve geliştirilmesi için ıslah öncesi olarak adlandırılan ilk adımdır. Yüksek polimorfizm bilgi içeriğine dayanan SSR'ler, bu çalışmada genotiplerin ayırımına başarılı bir şekilde yardımcı olmuştur.

Bu çalışmanın sonuçları, SSR analizinin, fasulye genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin tahmini için başarılı bir şekilde kullanılabileceğini ve çeşitli bölgelerdeki fasulye genotiplerinin daha büyük bir koleksiyonundaki çeşitliliğin inceleneceği ileride yapılacak çalışmalara potansiyel olarak dahil edilebileceğini göstermektedir.

Bu çalışma sonuçlarının, Türkiye'de mevcut fasulye yetiştiriciliğine ve genetik kaynakların korunmasına yardımcı olacağını umuyoruz.

Bu çalışmada yapılan tüm gözlemler, ileride yapılacak belirteçlerin seçimi, genetik kaynağın karakterizasyonu, yetiştirme ve kuru fasulye genetik kaynak seçiminde karar vermede önemli bulgular sağlayacaktır.

Fasulye genetik kaynaklarının korunması için yerel çeşitlerin toplaması ve onların genetik çeşitliliğinin belirlenmesi önemli ve gereklidir. Bu genotiplerin çeşide

dönüştürülmesi ve standart çeşitlerle melezlemesi, sektör için yeni çeşitlerin ortaya çıkmasına yardımcı olabilecektir.



KAYNAKLAR

- Abuzayed, M.A., Goktay, M., Allmer, J., Doganlar, S. and Frary, A., 2016. Development of genomic simple sequence repeat markers in faba bean by next-generation sequencing. *Plant Molecular Biology Reporter*, 35 (1), 61-71.
- Akash, M.W. and Mayers, G.O., 2012. The development of faba bean expressed sequence tag-simple sequence repeats (EST-SSRs) and their validity in diversity analysis. *Plant Breed*, 131(4), 522-530.
- Akgün, İ., Tosun, M. ve Sağsöz, S., 1998. Bitkisel gen kaynaklarının önemi ve Erzurum'un bitkisel gen kaynakları yönünden değerlendirilmesi. Doğu Anadolu Tarım Kongresi, 14-18 Eylül, 1998 Erzurum, 363-372, Erzurum.
- Ammar, M.H., Alghamdi, S.S., Migdadi, H.M., Khan, M.A., El-Harty, E.H. and Al-Faifi, S.A., 2015. Assessment of genetic diversity among faba bean genotypes using agro-morphological and molecular markers. *Saudi J Biol Sci*, 22 (3), 340-50.
- Anderson, J.A., Churchill, G.A., Autrique, J.E., Tanksley S.D. and Sorrells, M.E., 1993, Optimizing parental selection for genetic linkage maps, *Genome*, 36, 181-186.
- Anne, F., Yimin, X., Jiping, L., Sharon M., Eloisa, T., and Steven, T., 2005. Development of a set of PCR-based anchor markers encompassing the tomato genome and evaluation of their usefulness for genetics and breeding experiments. *Theoretical and Applied Genetics*, 11 (2), 291-312.
- Aydoğan, C., 2017. İspir Kuru Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Hatlarında Verim ve Kalite Çalışmaları. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Baloch, F.S., Alsaleh, A., de Miera, L.E.S., Hatipoğlu, R., Çiftçi, V., Karaköy, T., Yıldız, M. and Özkan, H., 2015. DNA based iPBS-retrotransposon markers for investigating the population structure of pea (*Pisum sativum*) germplasm from Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 244-252.
- Beebe, S., Gonzalez, A.V. and Rengifo, J., 2000. Research on trace minerals in the common bean. *Food Nutrition Bulletin*, 21, 387-391.
- Bennett, E., 1965. Plant introduction and genetic conservation: Genecological aspects of an urgent world problem. Reprinted from Scottish Plant Breeding Station Record, William Blackwood & Sons Ltd., Edinburgh, pp. 27113.
- Bilgin, O., ve Korkut, K.Z., 2005. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşit ve Hatlarının Genetik Uzaklıklarının Belirlenmesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi 2(3)
- Biswas, M.S., Hassan, J. and Hossain, M.M., 2010. Assessment of genetic diversity in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on RAPD marker. *Afr J Biotechnol*, 9(32), 5073-5077.
- Bıyıklı, B., 2015. İspir Kuru Fasulye (*Paseolus vulgaris* L.) Populasyonunun Karakterizasyonu ve Seleksiyon Yoluyla Islahı. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Blair, M.W., Giraldo, M.C., Buendía, H.F., Tovar, E., Duque, M.C. and Beebe, S.E., 2006. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Theor Appl Genet*, 113, 100-109.

- Blair, M.W., Pedraza, F., Buendia, H.F., Gaitán-Solís, E. and Beebe, S.E., Gepts, P. and Tohme, J., 2003. Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Theor Appl Genet, 107, 1362-1374.
- Blair, M.W., Soler, A. and Cortes, A.J., 2012. Diversification and population structure in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). PLoS One, 7 (11), e49488.
- Botstein, D., White, R.L., Skolnick, M. and Davis, R.W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet 32, 314-331.
- Burkart, A. 1952. Las Leguminosas Argentinas, silvestres y cultivadas. 2da edic. Edit. Acme, Agency, Ciencias Biológicas y Agronómicas. Argentina, p.590.
- Buso, G.S.C., Amaral, Z.P.S., Brondani, R.P.V. and Ferreira, M.E., 2006. Microsatellite markers for the common bean *Phaseolus vulgaris*, Molecular Ecology Notes, 6, 252-254.
- Caicedo, A.L., Gaitan, E., Duque, M.C., Chica, O.T., Debouck, D.G. and Tohme, J. 1999. AFLP fingerprinting of *Phaseolus lunatus* L. And related wilds pecies from South America. Crop Sci, 39, 1497-1507.
- Cardoso, P.C.B., Brondani, C., Menezes, I.P.P., Valdisser, P.A.M.R., Borba, T.C.O., Peloso, Del M.J. and Vianello, R.P., 2014. Discrimination of common bean cultivars using multiplexed microsatellite markers, Genetics and Molecular Research, 13(1), 1964-1978.
- Coelho, R.C., Faria, M.A., Rocha, J., Reis A., Oliveira M.B.P.P., Nunes E., 2009. Assessing genetic variability in germplasm of *Phaseolus vulgaris* L. collected in Northern Portugal. Scientia Horticulturae, 122, 333-338
- Coors, J.G. and Pandey, S., 1999. Genetic diversity and heterosis. Genetics, 1, 99-118.
- dos Santos, J.B., Nienhuis, J., Skroch, P., Tivang, J. and Slocum, M.K., 1994. Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. Theor Appl Genet, 87, 909-915.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.E. 1990. Isolation of plant DNA from fresh plant tissue. Focus 12,13 15.
- Dreyer, S., Wielpütz, J., 1998. Cultivar trials with bush beans. Gemüse (München), 34(6), 359-361.
- Dutta, S.K., Singh, A.B., Chatterjee, D., Boopathi, T., Singh, A.R. and Saha, S., 2016. Morphological and genetic diversity of pole type common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces of Mizoram (India). Indian Journal of Biotechnology, 15, 550-559.
- Ellwood, S.R., Phan, H.T.T., Jordan, M., Hane, J., Torres, A.M., Avila, C.M., CruzIzquierdo, S., Oliver, R.P., 2008. Construction of a comparative genetic map in faba bean (*Vicia faba* L.); conservation of genome structure with *Lens culinaris*. BMC Genomics, 9, 380.
- FAO, 2017. <http://faostat.fao.org/> Erişim Tarihi: 20.12.2017
- Faure, B., Mila, J.A., Ponce, M., 1983. Comparative study of four white-seeded *Phaseolus vulgaris* cultivars. Ciencia y Técnica en la Agricultura, Hortalizas, Papa, Granos y Fibras, 2(2), 33-41.
- Finnegan, D.J., 1989. Eukaryotic transposable elements and genome evolution. Trends Genet, 5, 103-107.

- Francia, E., Rizza, F., Cattivelli, L., Stanca, A.M., Galiba, G., Toth, B., Hayes, P.M., Skinner, J.S. and Pecchioni, N., 2004. Two loci on chromosome 5H determine lowtemperature tolerance in a 'Nure' (winter) x 'Tremois' (spring) barley map. *Theor Appl Genet*, 108, 670-680.
- Gaitán-Solís, E., Choi, I.Y., Quigley, C., Cregan, P. and Tohme, J., 2008. Single Nucleotide Polymorphisms in Common Bean: Their Discovery and Genotyping Using a Multiplex Detection System. *The Plant Genome Journal*, 1 (2), 125.
- Gaitan-Solis, E., Duque, M.C., Edwards, K.J. and Tohme, J., 2002. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): isolation, characterization, and cross-species amplification in *Phaseolus* ssp. *Crop Science*, 42, 2128-2136.
- Galeano, C.H., Cortés, A.J., Fernández, A.C., Soler, Á., Franco-Herrera, N., Makunde, G., Vanderleyden, J., Blair, M.W., 2012. Gene-based single nucleotide polymorphism markers for genetic and association mapping in common bean. *BMC Genet*, 13, 48.
- González, A., Aliagas, C. and Valero, M., 2014. A data cache with multiple caching strategies tuned to different types of locality. 978-1-4503-2840-1
- Graham, P.H. and Vance, C.P., 2003. Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiol*, 131, 872-87
- Güleç, T.E., Yıldırım, A. ve Sönmezoğlu, Ö.A., 2010. Bitkilerde Markör Destekli Seleksiyon, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 3(2), 67-79.
- Guo, M., Lightfoot, D.A., Mok M.C. and Mok D.W.S., 1991. Analyses of *Phaseolus vulgaris* L. and *P. coccineus* Lam. hybrids by RFLP: preferential transmission of *P. vulgaris* alleles. *Theor Appl Genet*, 81, 703-709.
- Hamada, H., Petrino, M.G., Kakunaga, T., 1982. A novel repeated element with Z-DNA forming potential is widely found in evolutionarily diverse eukaryotic genomes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 79(21), 6465-6469.
- Hanai, L.R., Santini, L., Camargo, L.E.A., Fungaro, M.H.P., Gepts, P., Tsai, S.M. and Vieira, M.L.C., 2010. Extension of the core map of common bean with EST-SSR, RGA, AFLP and putative functional markers. *Mol Breed* 25(1), 25-45.
- Hawkes, J.G., 2008. 1. The importance of genetic resources in plant breeding. *Biological Journal of the Linnean Society*, 43, 310. 1991 yazıyor
- Hayman, D.S., 1983. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Can J Bot*, 61, 944-963.
- Hegay, S., Geleta, M., Bryngelsson, T., Gustavsson, L., Hovmalm, H.P. and 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.
- Hutchinson, J.B., 1940. The application of genetics to plant breeding. I. The genetic interpretation of plant breeding problems. *Journal of Genetics*, 40, 271-282.
- Iangrai, B., Pattanayak, A., Khongwir, D.E.A., Pale, G., Gatphoh, E.M., Das, A. And Chrungoo, N.K., 2017. Development and characterization of a new Set of genomic microsatellite markers in rice bean (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi and Ohashi) and their utilization in genetic Diversity analysis of collections from North East India.
- Immaculee, N., Uma, M.S., Hegde, N., Nagaraja, T.E. and Somashekahar, Y.M., 2015. Microsatellite DNA marker aided diversity analysis in frenchbean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Legume Research - An International Journal*, 38 (1), 16.

- Jain, H.K., 1982. Plant breeders' rights and genetic resources. *Indian Journal of Genetics*, 42, 121-128.
- Joshi, S.P., Ranjekar, P.K. and Gupta, V.S., 1999. Molecular markers in plant genome analysis. *Curr Sci*, 77(2), 230-240.
- Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P. and Schulman, A.H., 2010. iPBS: a universal method for DNA Wngerprinting and retrotransposon isolation. *Theor Appl Genet*, 121, 1419–1430.
- Khaidizar, M.I., Haliloglu, K., Elkoca, E., Aydin, M. and 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.
- Klaedtke, S.M., Caproni, L., Klauck, J., de la Grandville, P., Dutartre, M., Stassart, P.M., Chable, V., Negri, V. and Raggi, L., 2017. Short-Term Local Adaptation of Historical Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Varieties and Implications for In Situ Management of Bean Diversity. *Int J Mol Sci*, 18 (3).
- Kwak, M. and Gepts, P., 2009. Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae). *Theor Appl Genet*, 118, 979–992.
- Lewontin, R.C., 1995. The apportionment of human diversity. *Evolutionary biology*, Springer, 381-398.
- Liu, K. and Muse, S.V., 2005. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. *Bioinformatics*, 2(9), 2128-2129.
- Loridon, K., Burgarella, C., Chantret, N., Martins, F., Gouzy, J., Prosperi, J.M. and Ronfort, J., 2013. Single-nucleotide polymorphism discovery and diversity in the model legume *Medicago truncatula*. *Mol Ecol Resour*, 13 (1), 84-95.
- Mall, N. and Chawla, H.S., 2014. Suitability of SSR marker for establishing distinctiveness in french bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.). *Legume Research - An International Journal*, 37 (4), 353.
- Meza, N., Rosas, J.C., Martí 'n, J.P. and Ortiz, J.M., 2013. Biodiversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Honduras, evidenced by morphological characterization. *Genet Resour Crop Evol*, 60, 1329–1336
- Mignouna, H.D., Ikea J. and Thottappilly, G., 1998. Genetic diversity in cowpea as revealed by amplified polymorphic DNA. *J Genet Breed*, 52, 151-159.
- Mohammadi, S. and Prasanna, B., 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants- salient statistical tools and considerations. *Crop science*, 43(4), 1235-1248.
- Mueller, U.G. and Wolfenbarger, L.L., 1999. AFLP genotyping and fingerprinting. *Trends in Ecology and Evolution*, 14, 389–394
- Müller, B.S.F., Jr, G.J.P., Valdisser, P.A.M.R., Coelho, G.R.C., Menezes, I.P.P.d., Abreu, A.G., Borba, T.C.O., Sakamoto, T., Brondani, C., Barros, E.G. and Vianello, R.P., 2015. An Operational SNP Panel Integrated to SSR Marker for the Assessment of Genetic Diversity and Population Structure of the Common Bean. *Plant Molecular Biology Reporter*, 33, 1697–1711.
- Nei, M., 1972. Genetic distance between populations. *American naturalist*, 283-292.
- Nei, M., 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, 89(3), 583-590.
- Nei, M., Tajima, F. and Tatenno, Y., 1983. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution*, 19(2), 153-170.

- Nemli, S., Kianoosh, T. and TanyolaÇ, M.B., 2015. Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions through retrotransposon based interprimer binding sites (iPBSs) markers. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 39, 940-948.
- Nyombaire, G., Siddiq, M., Dolan, K., 2007. Effect of soaking and cooking on the oligosaccharides and lectins of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Bean Improv Coop Ann Rep, 50, 31-32.
- Panchbhैया, A., Singh, D.K. and Jain, S.K., 2017. Inter-characters association studies for morphological, yield and yield attributes in the germplasm of french bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Tarai region of Uttarakhand, India. Legume Research - An International Journal, 40 (1), 196-199.
- Peakall, R., Smouse, P.E., 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 6(1), 288-295.
- Persegui, J., Chioratto, A.F., Zucchi, M.I., Colombo, C.A., Carbonell, S.A.M., Mondego, J.M.C., Gazaffi, R., Garcia, A.A.F., de Campos, T., de Souza, A.P. and Rubiano, L.B., 2011. Genetic diversity in cultivated carioca common beans based on molecular marker analysis. Genet Mol Biol, 34, 88-102.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., Hanafey, M., Vogel, J., Tingey, S. and Rafalski, A., 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP, and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Mol Breed 2, 225-238.
- Rao, R. and Hodgkin, T., 2002. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 68, 119.
- Rebaa, F., Abid, G., Aouida, M., Abdelkarim, S., Aroua, I., Muhovski, Y., Baudoin, J.P., M'Hamdi, M., Sassi, K. and Jebara, M., 2017. Genetic variability in Tunisian populations of faba bean (*Vicia faba* L. var. major) assessed by morphological and SSR markers. Physiol Mol Biol Plants, 23 (2), 397-409.
- Ridout, C.J. and Donini P., 1999. Use of AFLP in cereals research. Trends in Plant Science, 4, 76-79.
- Rohlf, F.J., 1972. An empirical comparison of three ordination techniques in numerical Sanders, F.E., and Tinker, P.B., 1973. Phosphate flow into mycorrhizal roots. Pest Sci, 4, 385-395.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. And Donnelly, P., 2000. Inference of population STRUCTURE using multilocus genotype data. Genetics, 155, 945-959
- SanMiguel, P., Tikhonov, A., Jin, Y.K., Motchoulskaia, N., Zakharov, D., Melake-Berhan, A., Springer, P.S., Edwards, K.J., Lee, M., Avramova, Z. and Bennetzen, J.L., 1996. Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome. Science, 274, 765-768.
- Schmutz, J., McClean, P.E., Mamidi, S., Wu, G.A., Cannon, S.B., Grimwood, J., Jenkins, J., Shu, S., Song, Q., Chavarro, C., TorresTorres, M., Geffroy, V., Moghaddam, S.M., Gao, D., Abernathy, B., Barry, K., Blair, M., Brick, M.A., Chovatia, M., Gepts, P., Goodstein, D.M., Gonzales, M., Hellsten, U., Hyten, D.L., Jia, G., Kelly, J.D., Kudrna, D., Lee, R., Richard, M.M.S., Miklas, P.N., Osorno, J.M., Rodrigues, J., Thareau, V., Urrea, C.A., Wang, M., Yu, Y., Zhang, M., Wing, R.A., Cregan, P.B., Rokhsar, D.S., Jackson, S.A., 2014. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. Nat Genet, 46, 707-713.

- Şehirali, S. ve Özgen, M., 1988. Bitki Islahı, Genetik ve Sitogenetik İlkeleri. Bitki Islahı Ders Kitabı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 11-14.
- Semagn, K., Bjørnstad, A. and Ndjiondjop, M.N., 2006. "An over view of molecular marker methods for plants," African Journal of Biotechnology, vol. 5, no. 25, pp. 2540–2568.
- Sonnante, G., Stockton, T., Nodari, R.O., Becerra Velásquez, V.L. and Gepts, P., 1994. Evolution of genetic diversity during the domestication of common-bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Theor Appl Genet, 89, 629-635.
- Sprent, J.I. and Sprent, P., 1990. Nitrogen Fixing Organisms. Pure and Applied Aspects. Chapman and Hall, London, pp. 34
- Svetleva, D., Pereira, G., Carlier, J., Cabrita, L., Leitaño, J. and Genchev, D., 2006. Molecular characterization of *Phaseolus vulgaris* L. genotypes included in bulgarian collection by ISSR and AFLP analyses. Sci Horti, 109, 198-206.
- Tatum, L.A., 1971. The southern corn leaf blight epidemic. Science, 171, 1113-1116. taxonomy. Systematic Biology, 21(3), 271-280.
- Tohme, J., Gonzalez, D.O., Beebe S. and Duque, M.C. 1996. AFLP analysis of gene pools of a wildbean core collection. Crop Sci, 36, 1373-1384.
- Tosun, M., 2015. Bitki Islahı. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları No:250, 14 s, Erzurum.
- TÜİK, 2017. Bitkisel ürün istatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr>. Erişim Tarihi: 20.12.2017
- Ulukan, H., 2011. The use of plant genetic resources and biodiversity in classical plant breeding. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science, 61 (2), 97-104.
- Upadhyaya, H.D., Dwivedi, S.L., Ambrose, M., Ellis, N., Berger, J., Smýkal, P., Debouck, D., Duc, G., Dumet, D., Flavell, A., Sharma, S.K., Mallikarjuna, N. and Gowda, C.L.L., 2011. Legume genetic resources: management, diversity assessment, and utilization in crop improvement. Euphytica, 180 (1), 27-47.
- UPOV-BMT, 2002. BMT/36/10 Progress report of the 36 Thsession of the technical committee, the technical working parties and working group on biochemical and molecular techniques and DNA- profiling in particular, Geneva.
- Van, K., Hwang, E.Y., Kim, M.Y., Park, H.J., Lee, S.H. and Cregan, P.B., 2005. Discovery of SNPs in soybean genotypes frequently used as the parents of mapping populations in the United States and Korea. J Hered 96, 529-535.
- Vetelañinen, M., Negri, V., & Maxted, N., 2008. European landraces: onfarm conservation, management and use. Bioversity Technical Bulletin No. 15. Bioversity International, Rome, Italy. kitap
- Villand, J., Skroch, P.W., Lai, T.P., Hanson, C.G. and Nienhuis, J., 1998. Genetic variation among tomato accessions from primary and secondary centers of diversity. Crop Science, 38, 1339-1347.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., van De Lee, T., Hornes, M., Friters, A., Pot, J., Paleman, J., Kuiper, M., 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic acids research, 23(21), 4407-4414.
- Welsh, J., and McClelland, M., 1991. Genomic fingerprints produced by PCR with consensus tRNA gene primers. Nucleic acids research, 19, (4), 861-866.

- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic acids research*, 18, (22), 6531-6535.
- Yeh, F., Yang, R., Boyle, T., Ye, Z. and Mao, J., 1997. POPGEN Ver. 1.32. The userfriendly software for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Alberta, Canada.
- Yıldırım, A. ve Kandemir, N., 2001. Bitki Biyoteknolojisi (eds. Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S.). Bölüm 23, Genetik Markörler ve Analiz Metodları, 334-363. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 s, Konya.
- Yu, K., Park, J., Poysa, V. and Gepts, P., 2000. Integration of Simple Sequence Repeats (SSR) markers into a molecular linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris*), *J Hered*, 9, 429-434.
- Zalapa, J.E., Cuevas, H., Zhu, H., Steffan, S., Senalik, D., Zeldin, E., McCown, B., Harbut, R. and Simon, P., 2012. Using next-generation sequencing approaches to isolate simple sequence repeat (SSR) loci in the plant sciences. *Am J Bot*, 99(2), 193-208.
- Zargar, S.M., Farhat, S., Mahajan, R., Bhakhri, A. and Sharma, A., 2016. Unraveling the efficiency of RAPD and SSR markers in diversity analysis and population structure estimation in common bean. *Saudi J Biol Sci*, 23 (1), 139-49.

ÖZGEÇMİŞ

Güller ÖZKAN 1986 yılında Konya'nın Kulu İlçesi'nde doğdum. 2003 yılında Kulu Lisesi'nden mezun oldum. 2009 yılında başladığım Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü 2013 yılında bitirdim. 2014 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım.

