



SELÇUK
ÜNİVERSİTESİ

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI FASULYE GENOTİPLERİNİN
BCMV (BEAN COMMON MOSAIC VIRUS) VE
BCMNV (BEAN COMMON MOSAIC NECROSİS VIRUS)'YE
DAYANIM DÜZEYLERİNİN
MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ**

Ayşe Nur ÇETİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

**Ocak-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

Ayşe Nur ÇETİN tarafından hazırlanan “Bazı Fasulye Genotiplerinin BCMV (*Bean Common Mosaic Virus*) Ve BCMNV (*Bean Common Mosaic Necrosis Virus*)’Ye Dayanım Düzeylerinin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi” adlı tez çalışması 08/01/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Önder TÜRKMEN



Danışman

Prof. Dr. Önder TÜRKMEN



Üye

Prof. Dr. Fikret YAŞAR



Üye

Doç. Dr. Ertan Sait KURTAR



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

PROF.DR. MUSTAFA YILMAZ

FBE Müdürü

Bu tez çalışması BAP (bilimsel araştırma ..) tarafından 17201030 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza 

Ayşe Nur ÇETİN

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bazı Fasulye Genotiplerinin BCMV (*Bean Common Mosaic Virus*) Ve BCMNV (*Bean Common Mosaic Necrosis Virus*)'Ye Dayanım Düzeylerinin Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi

Ayşe Nur ÇETİN

**Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Önder TÜRKMEN
II. Danışman: Yard. Doç. Dr. Ali Tefik UNCU**

2018, 39 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Önder TÜRKMEN

Prof. Dr. Fikret YAŞAR

Doç. Dr. Ertan Sait KURTAR

Bu çalışma ıslah havuzunda var olan ve agronomik özellikleri yönü ile ümitvar bulunan 75 adet fasulye genotipinin BCMV (*bean common mosaic virüs*) ve BCMNV (*bean common mosaic necrosis virus*) dayanım düzeyleri ve genotipler arasındaki genetik çeşitlilik düzeylerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Genotiplerin BCMV ve BCMNV' ye dayanım düzeylerinin belirlenmesinde Miklas ve ark.,(2002) ve Miklas ve ark.,(2003) tarafından geliştirilen SCAR (Dizi Karakterize Amplifiye Edilmiş Bölge) markörleri kullanılmıştır. Genetik çeşitlilik analizi ölçümünde 58 SSR markörü (Müller ve diğerleri 2015) ve her genotip başına 5 bitkiden bulk edilen DNA örnekleri kullanılmıştır. SSR allelleri, kapiler elektroforez sistemi(QIAxcel Gelişmiş Sistem) kullanılarak yüksek çözünürlükte görüntülenmiştir. 75 genotipten elde edilen SSR markör allelleri yok/var şeklinde skorlanmış ve çeşitlilik veri dosyası DARWİN programında analiz edilmiştir. 75 fasulye genotiplerinden PIC değeri ≥ 0.2 olan toplam 123 allel elde edilmiştir. Elde edilen verilere dayalı oluşturulan NJ dendogramı fasulye genotipleri arasındaki moleküler genetik ilişkileri göstermiş ve bu fasulye genotipleri 3 temel ana grupta toplanmıştır. Çalışmada hastalığa dirençli genotiplerin seçiminde 75 genotipten 21'inin her iki patojene karşı direnç alleli bulundurduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda çeşitlilik analizi sonuçları birden fazla patojen direnci olan 21 genotipin dendogramda aynı grupta bir araya toplandığını göstermektedir. Bu nedenle, bu çalışmanın sonuçları, iki viral hastalığa karşı allellik oluşumu ve dayanım/duyarlılık arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Dayanım, Fasulye, SSR, BCMV, BCMNV

ABSTRACT

MS THESIS

Determination Of BCMV (*Bean Common Mosaic Virus*) And BCMNV (*Bean Common Mosaic Necrosis Virus*) Resistance With Molecular Methods On Some Bean Genotypes

Ayşe Nur ÇETİN

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN HORTICULTURE ENGINEERING**

Advisor: Prof. Dr. Önder TÜRKMEN

2018, 39 Pages

Jury

Prof. Dr. Önder TÜRKMEN

Prof. Dr. Fikret YAŞAR

Assoc.Prof.Dr. Ertan Sait KURTAR

In this study, 75 bean genotypes in the breeding pond with promising agronomic characteristics were tested for levels of genetic diversity and resistance against *bean common mosaic virus (BCMV)* and *bean common mosaic necrosis virus (BCMNV)*. SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) markers developed by Miklas et al.(2002), Miklas et al.(2003) were used to determine the resistant genotypes to BCMV and BCMNV. While measuring the genetic diversity analysis DNA samples bulked from five plants per each genotype and 58 SSR markers (Müller et al. 2015) were used to estimate the molecular genetic diversity among the sample set. SSR alleles were visualized in high resolution capillary electrophoresis system (QIAxcel Advanced system). Yielded SSR marker alleles from 75 genotypes were scored as absence/presence (0-1) format and diversity data was analyzed by DARwin program. A total of 123 alleles with a PIC value of ≥ 0.2 were obtained from the 75 bean genotypes. The NJ dendrogram created on the bases of scoring data and demonstrated the molecular genetic relationships among the bean genotypes which the 75 bean genotypes are clustered in three main groups. Disease resistant genotypes selection part of the study displayed that 21 out of 75 genotypes were determined to possess the resistance alleles against both pathogens. Also the results of the diversity analysis show that 21 genotypes with more than one pathogen resistance are clustered together in the same group in the dendrogram. Therefore, the results of this study demonstrated a strong correlation between allelic composition and resistance / susceptibility to the two viral diseases.

Keywords: BCMV, BCMNV, common bean, resistance, SCAR ,SSR

ÖNSÖZ

Giderek artan dünya nüfusu gıda gibi önemli sorunları da beraberinde getirmektedir. Bu sorunun çözümü ise hızla gelişen ve değişen bilimdeki yeni üretim teknolojilerini takip ederek uygulamaya aktarılmasıyla mümkün olacaktır. İnsan beslenmesi için oldukça önemli olan fasulye ile ilgili bu çalışmada bazı niteliksel fasulye genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi ve hem dünya hemde ülkemiz üzerinde ciddi ekonomik kayıplara neden olan BCMV (*bean common mosaic virüs*) ve BCMNV (*bean common mosaic necrosis virus*) virüslerine dayanım düzeylerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yüksek Lisans tez konumunun belirlenmesinde ve bu konuda çalışma imkanı sunan ve çalışmamın gerek ders gerekse tez dönemi süresi boyunca her aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen başta değerli danışman hocam Prof. Dr. Önder TÜRKMEN'e teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamın laboratuvar aşamalarında bilgi ve deneyimi ile yardım ve desteğini esirgemeyen, önerileri ile çalışmama yön veren ve II. Danışmanım olarak görev alma nezaketini gösteren Yard. Doç. Ali Tevfik UNCU hocama da teşekkür ederim.

Tez çalışmamın arazi ve laboratuvar aşamalarında yardımcı olan çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmama verdikleri destekten dolayı Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğüne (BAP) teşekkür ederim.

Tezimin yazım aşamasında bana verdikleri maddi ve manevi desteklerle benden yardımlarını esirgemeyen kıymetli ablam Avukat Yulet YAR ve dostum Uzman Biyolog İlkyaz YILMAZ'a teşekkür ederim .

Son olarak, tüm hayatım boyunca yanımda olan ve çalışmalarımın her aşamasında imzaları olan ve benden maddi manevi her türlü desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve beni attığım her adımda asla yalnız bırakmayan başta babam Arif ÇETİN, annem Fatma ÇETİN ve abim Ömer ÇETİN'e sonsuz teşekkür ederim.

Ayşe Nur ÇETİN
KONYA-2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMA	3
3. MATERYAL VE YÖNTEM	9
3.1. Materyal	9
3.2. Yöntem	9
3.2.1. Tohum Ekimi	9
3.2.2. Yaprak Örneklerinin Alınması	10
3.2.3. Moleküler Genetik Çalışmalar	10
3.4. Genetik Çeşitlilik Analizlerinde Kullanılan Verilerin Elde Edilmesi	16
3.3. BCMV ve BCMNV Dayanımlı Taze Fasulye Çeşitlerinin DNA Markörleri Kullanılarak Belirlenmesi	17
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	18
4.1. SSR Yöntemi ile Moleküler Karakterizasyon	18
4.2. Moleküler Belirteçlerle BCMV ve BCMNV Hastalıklarına Dayanımın Belirlenmesi	21
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	25
5.1. Sonuçlar	25
5.2. Öneriler	26
KAYNAKLAR	27
ÖZGEÇMİŞ	31

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	:Yüzde
°C	:Santigrat derece
Bp	: Base pair-Baz çifti
g	: Gram
ng	: Nanogram
S	: Saniye
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar

Kısaltmalar

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorfism
cm	: santimetre
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetikasit
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
g	: gram
ha	: Hektar
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
kcal	: kilo kalori
MAS	: Marker Yardımlı Seleksiyon
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
mm	: milimetre
mM	: Milimolar
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Region
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SRAP	: Sequence Related Amplified Polimorphism
SSR	: Simple Sequence Repeat
Tag	: Thermus Aquaticus

1. GİRİŞ

Fasulye (*Phaseolus vulgaris*)'nin anavatanı Meksika'nın güneyinden Peru'ya kadar olan kısmında içine alan Orta ve Güney Amerika ülkeleridir (Şalk ve ark., 2008). Fasulyenin *Phaseolus* cinsine ait bugün 230'a yakın türü olduğu bilinmektedir (Günay, 2005). *Phaseolus* cinsi içerisinde dünyada yaygın olarak kültürü yapılan türler ve bunların en önemli türleri başlıca 5 grupta toplanmaktadır. Bunların; *P. Acutifolius* A. Gray, *P. coccineous* L., (Ateş fasulyesi), *P. lunatus* L., (Lima fasulyesi) *P. polyhantus* Greenman ve *P. vulgaris* L. ($2n=2x=22$) olduğu bildirilmiştir. Bu türler içerisinde dünyada en yaygın olarak kullanılan ve % 90'dan daha fazla bir oranla tüketileni *P. vulgaris*'dir (Acosta-Gallegos ve ark., 2007). Türkiye'de ise genel olarak yetiştirilen tüm fasulyelerin *P. vulgaris* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir (Balkaya ve Yanmaz, 2003).

Sağlıklı beslenmede de önemli bir sebze olan fasulye, kalsiyum, demir, fosfor gibi elementlerle B1 ve B2 gibi vitaminler bakımından da çok zengindir. Yüksek oranda diyetel lif içerdiği için fasulyede kolesterol seviyesi de oldukça düşüktür. Bu bakımdan sağlık açısından birçok diyet programında yer alarak günlük diyetle alınması gereken pek çok vitamin (A, B, E) ve mineral (kalsiyum ve demir) açısından zengindir (Pekşen ve Artık, 2012). Ayrıca insanların protein ihtiyacının karşılanmasında olgunlaşmamış tohumlu baklaları, bütün olarak ve olgunlaşmış tohumları değerlendirilmektedir. Farklı şekillerde değerlendirilen (taze, konserve, turşu, kurutulularak) fasulye genel olarak ülkemizin her yöresinde kolaylıkla yetiştirilebilmesi ve insanların yaş sebze ihtiyacını karşılamada önemli bir yer tutmaktadır (Madakbaşı, 2007). İnsan beslenmesinde önemli olan fasulyenin yetiştiriciliğinde üretim değerlerini incelediğimizde ise, dünyadaki taze fasulye üretimi 86280 hg/ha'dır (Anonim, 2014). Ülkemizde ise toplam taze fasulye üretimi 2016 yılı verilerine bakıldığında 638.532 tondur (Anonim, 2016). Bölgesel olarak üretimi ele aldığımızda ise taze fasulyede en fazla üretim 7851 tonluk üretimi ile Ege bölgesidir. İl olarak üretim sıralamasına bakılırsa Muğla 7206 ton üretimle birinci sırada yer alırken sırasıyla ikinci olarak 353 ton Aydın, üçüncü olarak ise 248 ton ile İzmir ilinin takip ettiği görülmektedir (Anonim, 2016). Bu veriler doğrultusunda taze fasulyenin ülke ekonomisine büyük katkılar sağladığı görülmektedir.

Fasulye anavatanı Amerika olsa da Anadolu'da da pek çok yörede gerek doğal seçimler gerek yetiştiricilerin yaptığı seleksiyonlar ile zaman içerisinde bölgesel çeşitler meydana gelmiştir (Ergün, 2005).

Yerel popülasyonların giderek önemini kaybetmemesi için sahip olduğumuz gen havuzlarının iyi tanımlanması gerekmektedir (Ulutaş, 2016). Özellikle yerel yetiştiriciliğin gelişimini amaçlayan ıslah programları içinde yerel fasulye popülasyonlarının arasındaki genetik çeşitliliğin belirlenmesi büyük öneme sahiptir (Jose ve ark., 2009).

Moleküler belirteçler tarafından desteklenen genetik çeşitlilik ve genetik ilişkilerin araştırılması, ıslah programlarında yeni çeşit geliştirme vb. açısından önemlidir (Sánchez-Pérez ve ark., 2005).

Genetik kaynakların belirlenmesi ve bunların korunmasının yanında verim ve kaliteyi arttıran çalışmalarında yapılması elzemdir. Ülkemizde dayanıklı ve verimli çeşitlerin kullanılmaması, üreticilerimizin sertifikalı tohum yerine kendi tohumlarını kullanması, canlı ve cansız hastalık etmenleri ve zararlıların neden olduğu verim düşüklüğü vb nedenler üründe ciddi verim kayıplarına sebep olmaktadır (Ulutaş, 2016).

Fasulyede verim kayıplarına neden olan en önemli patojen problemleri arasında, *Bean common mosaic virus* (BCMV) ve *Bean common mosaic necrosis virus* (BCMNV) neden olduğu virüs problemleri vardır. BCMV ve BCMNV yüksek oranda tohumla ve afitlerle taşınması bu virüsün ülkede yayılmasını kolaylaştırmıştır (Kumar ve ark., 1994). Bu iki virüs doğada aynı bölge hatta aynı bitki üzerinde bulunmaları sebebiyle aralarında genetik alışveriş yaparak rekombinasyon oluşturabilirler. Bu sonucunda ise yeni ırklar hatta yeni patotipler oluşabilmektedir (Silbernagel ve ark., 2001). Bu virüslerle etkili bir mücadele ve hastalığın yayılımını kontrol altına almak zordur. Mücadelesinde dayanıklı çeşitlerin ve temiz üretim materyallerinin kullanımı ve vektörlerle mücadele etmenin önemi büyüktür. Bu yöntemlerle virüslerin yeterince kontrol altına alınamaması ve kimyasal bir mücadelenin tam olarak sağlanamaması bu hastalıkların önemini gittikçe arttırmaktadır (Kılıç ve ark., 2013).

Bu doğrultuda yapılan bu çalışma elimizde var olan çekirdek koleksiyonunun SCAR moleküler belirteçler ile BCMV (*bean common mosaic virüs*) ve BCMNV (*bean common mosaic necrosis virus*) virüslerine dayanım düzeylerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece ileride BCMV ve BCMNV ırklarına karşı dayanıklılık sağlayan I ve bc-3 geninin tüketici isteklerine uygun taze fasulye genotiplerine aktarımı sağlanabilecektir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMA

Leguminosae familyasına ait bir baklagil bitkisi olup fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) *Phaseolus*'un en yaygın yetişen türüdür. İnsan diyetlerinde proteinin ana kaynağı olan fasulye dünya çapında tüketilen baklagiller yarısını oluşturmaktadır (Broughton ve ark., 2003). Taze olarak tüketilmesinin yanı sıra farklı şekillerde tüketimi hem ülkemizde hem de bütün dünyada yaygınken insan beslenmesinde besleyici değeri yüksek olduğu için önemli bir yeri vardır. 100 g taze fasulyede 93.0 g su, 6.0 g karbonhidrat, 2.5g protein, 0.2 g yağ ayrıca 500 IB A vitamini, 0.01 mg B₁ ve 0.5 mg B₆ vitamini ve de 15 mg C vitamin içermektedir (Günay, 2005).

Anavatanının Güney Amerika olduğu bildirilmekte olan fasulye(*P. vulgaris*)'nin ilk kez günümüzden yaklaşık 7 bin yıl önce Orta Amerika'da kültüre alınarak buradaki sıcak bölgelerden subtropikal ve ılıman bölgelere yayılım göstermiştir (Balkaya ve ark., 1999). Ülkemize ise tahmini 250-300 yıl öncesi girdiği bildirilmektedir (Şalk ve ark., 2008) . Günümüz itibariyle Türkiye, fasulyede üçüncü büyük üretici ülke konumunda olup diğer sebze türlerinin de hemen hemen tümünde ilk on ülke içerisinde yer almaktadır (Abak ve ark., 2010). Bu veriler fasulyenin önemli tarım potansiyeline sahip bir bitki olduğunu göstermektedir.

Ülkemiz sahip olduğu iklim koşulları nedeniyle her bölgede kolayca yetiştirilebilmesi hem üretimin yayılmasını hem de ülkemizi fasulye çeşitleri yönünden geniş bir varyasyona sahip olduğunu göstermektedir. Van Gevaş ilçesinde fasulye üretimi ve pazarlamasındaki etken faktörlerin belirlenmesi üzerine yapılan bir araştırmada, çiftçilerin üretimde tercih sebeplerinin arasında ilçenin iklim ve özel konumu sebebiyle doğal koşullarının üretime uygun olduğunu bildirmişlerdir (Çiftçi ve ark., 2012) .

Ülkemiz fasulyede önemli bir üretici konumundayken bu bitkinin neredeyse tüm bölgelerimizde yetiştirilmesi ve yerel genotiplerin buldukları bölge ekolojisine kolaylıkla adapte olmasıyla beraberinde getirdiği zengin genetik çeşitlilik göz önündedir (Erdinç, 2012).

Bu zengin genetik çeşitlilik göz önünde bulundurulduğunda ülkemizde gen kaynağı toplama çalışmaları yapılmakta ama derlenen materyallerin morfolojik, biyolojik ve genetik yapılarına ilişkin bilgilerin yetersiz düzeyde olduğu bilinmektedir. Bu nedenle toplanan materyallerin bitki özelliklerinin belirlenmesi, hem ıslah çalışmaları hem de gen bankaları açısından büyük önem taşımaktadır (Balkaya ve Yanmaz, 2003).

Van-Gevaş ilçesinde yetiştiriciliği yaygın olarak yapılan fakat saflık derecesi kaybolmuş olan yalancı dermason fasulye populasyonlarında erkencilik, verim, kalite ve hastalıklara dayanıklı tiplerin seleksiyonu amacıyla yapılan araştırmanın sonucunda üstün niteliklere sahip ümitvar 23 tip belirlenerek bu tiplerin ilerdeki ıslah çalışmaları için iyi bir kaynak oluşturması açısından önemli olduğunu bildirmişlerdir (Çiftçi ve ark., 2012).

Burdur'da yetiştirilen biri standart çeşit olmak üzere toplam 12 fasulye genotipinin morfolojik ve fenolojik özellikleri açısından karakterizasyonlarını belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada çeşitler arasında bazı karakterler bakımından önemli bir varyasyon olduğu ve bu yüzden ıslah çalışmaları için bunların kaynak materyal olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir (Akbulut ve ark., 2014).

Çarşamba Ovası veyöresinden 45 mahalli isimle anılan 155 bodur taze fasulye populasyonu toplanmıştır. UPOV kriterlerine göre bitkisel ve bakla özellikleri, erkencilik, kalite, verimlilik, yatma özelliklerine bakılarak 11 hattın amaçlarına uygun bulunduğunu bildirmişlerdir (Madakbaş ve ark., 2007).

Schnabel ve ark.,(2005)'dan bildirdiğine göre tüm dünyada moleküler biyoloji ve genetik konusundaki çalışmalar populasyonların genetik yapısını belirlemek, ortaya çıkarılan genetik yapı üzerindeki genlerin tespiti, fonksiyonlarının anlaşılması amacıyla yapılan çalışmalar hızla devam etmektedir (Kahraman, 2008).

Van'da yapılan bir çalışmada 96 adet fasulye genotipi arasındaki, 72 fenotipik karakter ile ISSR ve RAPD moleküler markörleri vasıtasıyla genetik ilişkileri incelenmiştir. Moleküler çalışmalarda 21 ISSR ve 8 RAPD markörü kullanılmış ve sonucunda sırasıyla 358 ve 116 polimorfik bant elde edilmiştir. Çalışma sonucunda fasulye genotiplerinin %52'si Orta Amerika orjinli, %48'i Güney Amerika orjinli olarak sınıflandırılmıştır. Ek olarak fasulye genotipleri arasındaki genetik varyasyon değeri oldukça değişken gözlemlenmiştir (Erdinc ve ark., 2017).

S5 kademesindeki 33 yerel fasulye genotipinin verim ve bazı kalite unsurlarının belirlenmesi ve genotipler arasındaki genetik ilişkileri morfolojik ve moleküler belirteçler (27 ISSR primeri kullanılarak) yardımıyla incelenmiştir. PCR amplifikasyon sonucunda toplam 169 DNA bandının 129'u polimorfik bant olarak elde edilmiştir. Yapılan kümeleme analizi sonucunda SK-222 ile SK-131 genotipleri arasında J katsayısına göre %70 benzerlik tespit edilmiştir (Işık, 2012).

Van gölü ve çevresinden derlenen 95 adet fasulye genotipinin genetik akrabalık ilişkilerini hem fenotipik hemde moleküler belirteçlerle incelenmiştir. Fenotipik olarak incelenen genotiplerin %69.5'nin Güney Amerika (Andean) ve % 30.5'nin Orta Amerika (Mesoamerican) orijinli olduğu ve genotipler arasında genetik çeşitliliğin yüksek olduğu tespit edilirken, moleküler yöntemde ise 28 ISSR primeri ve 10 adet RAPD primeri kullanılmıştır. Moleküler karakterizasyon için kullanılan ISSR ve RAPD belirteçleri arasında orta seviyede ($r > 0.54$) bir korelasyon ($P < 0.001$) tespit edilmiştir. Hem fenotipik hem de moleküler karakterizasyonun sonucunda ise; Van Gölü havzası fasulye genotipleri arasında yüksek bir genetik çeşitliliğin yanısıra yöreler bazında da özellikle Van-Gevaş, Van-Erciş ve Bitlis-Tatvan orijinli genotipler arasında nispeten yüksek bir genetik çeşitlilik belirlenmiştir (Ekincialp, 2011).

Dünyadaki fasulye üretiminin % 60'ından fazlası, Orta Amerika kökenli çeşitlerden sağlanmakta olduğunu bildiren bu çalışmada, Orta Amerika gen havuzuna ait 269 fasulye genotipi arasındaki genetik varyasyonu RAPD belirteçleri ile belirleyerek bu çalışma sonucunda bu gen havuzunun önceki bilinene göre daha karmaşık olduğunu ve yüksek bir genetik çeşitliliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir (Beebe ve ark., 2000).

Karayip adalarından derlenen 54 adet kırmızı-alacalı tohumlu fasulyeler ile 11 adet farklı bölgelerden toplanan Güney Amerika genotiplerini morfolojik, moleküler ve protein belirteçleri ile incelemeye tabi tutulmuştur. Yapılan tam kümeleme analizi sonucu morfolojik karakterizasyonda iki ayrı kümeye ayrıldığı gözlemlenirken, moleküler (RAPD yöntemi kullanılmıştır) ve protein belirteçler ile yapılan analizler sonucunda 3 ayrı grup oluşturmuştur. Birinci grup Orta Amerika, ikincisi Güney Amerika, üçüncüsü ise gen havuzları arasındaki gen kombinasyonları nedeniyle Orta Amerika' ya yakın olan ancak Güney Amerika gen havuzunda yer alan grup olarak bildirilmiştir (Duran ve ark., 2005).

ISSR moleküler tekniğinin kullanıldığı 34 çeşit adayı ile üç ticari çeşitten oluşan toplam 37 genotip arasındaki genetik çeşitliliği inceleyen çalışmada; 27 adet ISSR primeri kullanılmış ve 108 adet polimorfik bant elde edilmiştir. İki grubun arasındaki benzerliğin bir ölçüsü olarak kabul edilen "r" değeri 0.87916 olarak ifade edilmiştir (Ulutaş, 2016).

Orta Amerika ve Güney Amerika orijinli içinde yabanilerin de bulunduğu 349 fasulye genotipleri arasındaki genetik varyasyonu 26 SSR primeri kullanarak karşılaştırmışlardır. Genotipler arasındaki genetik çeşitlilik katsayısı 0.66 bulunurken, Orta Amerika genotiplerinin genetik çeşitliliğinin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Kwak ve Gepts, 2009)

Yeni çeşitler geliştirmede ıslah çalışmaları için gen kaynaklarının korunması önemliken fasulyenin üretiminde; üreticinin tohumunu kendi alarak sertifikalı tohumları kullanmaması, yine hastalıklar ve zararlılar nedeniyle ürün kayıpları çok fazladır. Bitki tohumlarında viral, fungal, bakteriyel gibi kökenli yaklaşık 2400 adet hastalık etmeni bulunmaktadır. Bu hastalık etmenlerinin toplam 57 adeti fasulye tohumlarında var olduğu tespit edilmiştir. Bunlarda ise 14'ten fazla virüsün tohum ile taşındığı bildirilmektedir (Erkan, 1998).

Yetiştiricilikte önemli bir çoğaltım materyali olan tohum, tohumculuk endüstrisinin de gelişmesiyle bir çok hastalık etmenin hızla yayılmasında önemli bir etken olmuştur. Bitki virüslerinin generasyonlar boyunca yaklaşık %20'sinin tohumla taşınması epidemide önemli bir rol oynamıştır. Tohumlarda virüsler; tohum kabuğu, endosperm ve embryo'da taşınabilmektedir. *Bean common mosaic virus* ise tohumun embriyo kısmında taşınabilmektedir (Şevik 2012).

Dünyada fasulye alanlarında enfeksiyona neden olan virüslerden bazıları AMV (*Alfalfa mosaic virus*), BCMV (*Bean common mosaic virus*), BCMNV (*Bean common mosaic necrosis virus*), BGMV (*Bean golden mosaic virus*), BYMV (*Bean yellow mosaic virus*), CMV (*Cucumber mosaic virus*), SBMV (*Southern beanmosaic virus*), TSV (*Tobacco streak virus*), TAV (*Tomato aspermy virus*)'dür (Kumar ve ark., 1994). Burada BCMV ve BCMNV dünyadaki tüm fasulye alanlarında en yaygın ve en tahripkar virüsler olarak karşımıza çıkmaktadır (Flores-Estévez ve ark., 2003).

BCMV dünya çapında tüm ekili bakliyat alanlarında dağılım gösterirken (McKern ve ark., 1992), BCMNV Afrika, Avrupa, Kuzey ve Güney Amerika ile sınırlıdır (Worrall ve ark., 2015). BCMV ve BCMNV'ye bağlı olarak verim kayıpları enfeksiyon çeşidine ve süresine bağlı olarak % 6 ila 98 arasında değişir (Drijfhout, 1978).

Bu iki virüsün 7 patojenik grubu ve 10 tane izolatı vardır. BCMV ve BCMNV' de patojenik gruplar serolojik ve moleküler düzeyde farklılaşabilir ancak tüm suşlar, dayanım genleri bulunmayan fasulye genotiplerinde benzer semptomlara neden olur. Virüs enfeksiyonlarına karşı farklı reaksiyonların gelişimi, virüs suşuna, fasulye çeşidine ve sıcaklığa bağlı olduğunu bildirmiştir (Mavric ve Vozlic, 2004).

Tohumla taşınımı yüksek olan fasulye mozaik virüsü ve fasulye mozaik nekroz virüsleri hasat sırasında verim ve kaliteyi önemli düzeyde düşürdüğü bildirilmiştir (Mavric ve Vozlic, 2004). Fasulye mozaik virüsünün Amerika' da önemli ürün kayıplarına yol açtığını ve bu hastalık sebebiyle pek çok tohum partisinin ekimine izin verilmediğini bildirmişlerdir (Halbert, 1994).

Uganda'da yapılan bir çalışmada BCMNV izolatlarının ekonomik önemi, sadece Uganda'da değil, aynı zamanda tüm doğu, orta ve güney Afrika'da büyük önem taşıdığını bildirmişlerdir (Sengooba ve ark., 1997).

İran'ın önemli fasulye üretimi yapılan eyaleti Guilan'dan toplam 248 enfekteli yaprak örnekleri toplanmıştır. Toplanan örneklerde sekiz virüs, DAS-ELISA yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Sonucunda Fasulye mozaik virüsü (BCMV) % 1, Fasulye yaprak rulo virüsü (BLRV) % 9, Börülce hafif motilite virüsü (CpMMV) % 6, Güney fasulyesi mozaik virüsü (SBMV) % 3, Hıyar mozaik virüsü (CMV) % 15, Fasulye altın mozaik virüsü (BGMV) % 2, Fasulye mozaik nekroz virüsü (BCMNV) % 1 ve Fasulye sarı mozaik virüs – (BYMV) % 1 tespit edilmiştir (Ghorbani ve ark., 2010).

Ege Bölgesi'nde tohum üreten ve pazarlayan kuruluşlardan alınan fasulye örneklerini DAS-ELISA ile test etmişler ve tohumların % 23.52'sinin BCMV ile bulaşık olduğunu belirlemişlerdir (Gümüş ve ark., 2001).

Tokat ve yöresinden toplanan 88 adet fasulye tohumu materyallerinde fasulye mozaik virüsünün bulunma durumunun incelendiği çalışmada bu virüsün tespit edildiği materyal sayısı 54'dür. Bu değerse alınan örneklerin % 61.4'ünü kapsamaktadır (Yılmaz ve ark., 2002)

Samsun ilinde yapılan çalışmada derlenen 83 yaprak örneğinin 25'i (% 30,1) fasulye mozaik virüsü ile, 3'ü (% 3,6) fasulye mozaik nekroz virüsü ile, 7' si (% 8,4) ise karışık olarak (BCMV+BCMNV) enfekteli olarak tanılanmıştır (Deligöz, 2007).

Fethiye'nin köylerindeki yapılan çalışmada virüs belirtileri taşıyan bitkilerden alınan toplam 112 yaprak örneğinde hastalık etmenleri tanılanmıştır. Örneklerin hastalık testlenmesinde Fasulye adi mozaik virüsü (*Bean common mosaic virus*; BCMV), Yonca mozaik virüsü (*Alfalfa mosaic virus*; AMV) ve Hıyar mozaik virüsü (*Cucumber mosaic virus*; CMV)'ne özel antiserumlar kullanılmıştır. DAS-ELISA testi sonucunda 112 örnekten %25'inde (28 örnek) virüs enfeksiyonu tespit edilmiştir. Testlenen yaprak örneklerinde tek başına ve karışık enfeksiyonlar şeklinde saptanan bu virüslerin enfeksiyon oranları ise 20 örnekte (%17.85) fasulye mozaik virüsü, 4 örnekte (%3.57) yonca mozaik virüsü ve 2 örnekte (%1.78) ise hıyar mozaik virüsü tanılanmıştır. Karışık enfeksiyonlarda ise 1 örnekte (%0.89) AMV+CMV ve 1 örnekte (%0.89) ise BCMV+CMV olarak tespit edilmiştir (Kılıç ve ark., 2013)



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

BCMV ve BCMNV'ye dayanım düzeylerinin ve genotipler arasındaki moleküler karakterizasyonun DNA markörleri ile belirlenmesi için kullanılan bitkisel materyaller sırasıyla Miklas ve ark. tarafından geliştirilen SCAR (Dizi Karakterize Amplifiye Edilmiş Bölge) ve SSR moleküler yöntemleri ile tanımlamaya tabi tutulmuştur. Denemede bitki yetiştiriciliği Antalya'da özel bir serada çalışılmıştır. Bu bağlamda elimizde var olan 113 adet taze fasulye genotipi arazi gözlemleri ile 75 adete indirgenmiş ve moleküler çalışmalar bu materyallerle yapılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Tohum Ekimi

Tohum ekimi için Antalya'da ki serada toprak işlenmiş, damla sulama hatları çekilerek sera tohum ekimine hazır hale getirilmiştir. 15.10.2016 tarihinde tohum ekimi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2.1. : Tohum ekimi yapılacak olan seranın hazırlanışı ve fide çıkışı

3.2.2. Yaprak Örneklerinin Alınması

15.10.2016 tarihinde ekimi tamamlanan 113 adet taze fasulye genotipinin arazi gözlemleri neticesinde seleksiyon yapılarak bu sayı 75 adet genotipe indirgenmiştir. Ekim sonrasında takip eden süre içerisinde yeterli büyüklüğe erişmiş bitkilerden yapılacak olan moleküler çalışmalar için steril bir bistüri vasıtası ile bitkinin genç ve sağlıklı yapraklarından (yaklaşık 0,25g) DNA izolasyonları için yaprak örnekleri alınarak -80 C'deki derin dondurucuda DNA izolasyonu yapılmaya kadar muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Moleküler Genetik Çalışmalar

Moleküler çalışmalar; Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Genetik Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.2.3.1 DNA İzolasyonu

DNA izolasyonları EURX (Gene Metrix Plant- Fungi DNA) kitinin prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2017).

İzolasyon için kullanılan kitte izlenen aşamaları aşağıda sırasıyla verilmiştir.

1. Başlangıçta kitlerdeki filtrelerin üzerine 40 µL Buffer P eklenmiştir.
2. 2ml'lik eppendorf tüplerinin içerisine 4 mm çapında çelik bilyeler konulup 200 mg doku örneği üzerine 1000 µL Lyse P tampon çözeltisi (%2 CTAB, 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 20 mM EDTA (pH 8.0), 1.4 M NaCl, %1 PVP-40) eklenmiştir.
3. Örnekler Tissuelyser II'nin raklarına yerleştirilmiş ve parçalamanın daha homojen olması için toplamda 20 dakika olan 10'ar dakikalık iki periyot olmak üzere parçalayıcının rakları ters çevrilerek yapılmıştır.
4. Mini Spin(1 dk'dan daha az) yapılmıştır.
5. Karışıma üzerine 10 µL proteinaz K ve 3 µL RNA-az eklenerek, vortex cihazı yardımı ile karışımın homojenizasyonu sağlanmıştır.
6. Hücre duvarlarının yıkılması amacı ile 65°C' de 45 dk süreyle inkübe edilmiştir.
7. İnkübasyon sonrasında karışıma 130 µL AC Buffer eklenerek, santifirüjde 12000 rpm 10 dakika santrifüjlenmiştir.
8. Üst fazdan 400 µL çekerek temiz 1,5 ml'lik eppendorf deney tüplerine aktarılmıştır.
9. Aktarılan faza 350 µL Buffer (Sol P) ve 250 µL Ethanol (%96'lık) eklenerek 12000 rpm'de 2 dakika santrifüjlenmiştir.

10. Üst fazdan 500-600 µL çekilerek kolonlara (filtrelere) aktarılmış ve 1 dakika filtreleri tutarak mini spin yapılmıştır.
11. Mini spin yapılan filtreler, üzerlerine yıkamak için 500 µL Wash Px eklenerek 1 dakika Mini spin yapılmıştır.
12. Filtrelerin altına geçen sıvıyı dökerek, filtreler tekrar Wash Px ile yıkanmış ve 1 dakika mini spin yapılmıştır.
13. Filtreleri yeni 1,5 µL eppendorf tüplere aktararak üzerlerine 150 µL Elution buffer eklenmiştir.
14. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra 1 dakika mini spin yapılmıştır.
15. Ekstrakte edilmiş olan DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflığı, Nanodrop spektrofotometre cihazı ile ölçülmüştür. Elde edilen DNA örnekleri, ileriki analizlerde kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2.3.1: DNA izolasyonlarının yapımı

3.2.3.2 SSR Analizleri

Taze Fasulye çeşitlerinde çeşitliliğin belirlenmesinde Kullanılan SSR Primerleri

Bu çalışmada 58 adet SSR markörünü (Müller ve ark., 2015) ve her genotipte beş bitkiden alınarak bulk edilen DNA örnekleri kullanılmıştır. Taze fasulye DNA örneklerinden SSR işaretleyicilerinin çoğaltılması için gerçekleştirilecek olan PCR reaksiyonları, BioRad PCR cihazında gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.2.3.2.1 Çalışmada kullanılan SSR markörleri

Lokus	İleri Primer	Geri Primer
PV25	GAGCTTCTCCGTCCTGTGT	CGAACTGAATCAGAAAAGGAA
BM114	AGCCTGGTGAAAGCTCATAG	CAGCTTGTTCCTACTCTCT
PV35	TCTACGCGTCCCTCTGTCT	AGTGGATGTGGGGAAAAGC
BM202	AGCGAAAGAGGAACATCG	CTTACCCACACGCCTTC
PV272	CAGAACAGAAGAAGAAACAGAAAATG	GCGTGTTCCTCTGTGTGTGT
BM154	TCTTGCGACCGAGCTTCTCC	CTGAATCTGAGGAACGATGACCAG
PV13	TGAGAAAGTTGATGGGATTG	ACGCTGTTGAAGGCTCTAC
BM183	CTCAAATCTATTCACTGGTCAGC	TCTTACAGCCTTGCAGACATC
PV163	TGAGAGTGGAGAAGGAGAGAGA	TGACAACACTGCAAACACCA
BM143	GGGAAATGAACAGAGGAAA	ATGTTGGGAACCTTTAGTGTG
PV169	TGGAAAGTCGGAGGAGAAGA	AAAAGGGTCCCAACCAAAAC
PV5*	ATTAGACGCTGATGACAGAG	AGCAGAATCCTTTGAGTGTG
BM155*	GTTTCATGTTGTTGACAGTTCA	CAGAAGTTAGTGTGGTTTGATACA
BM187	TTTCTCCAACACTACTCCTTTCC	TGTGTTTGTGTCCGAATTATGA
PV11*	AAACTCAAAGTCGTTGTTCC	CCACTGACTCTAGCTCCTCC
PV251*	TGAAGTTGCAGCTAGGTTGG	GGTTGTGCTTGTGTTGTTGG
BM164*	CCACCACAAGGAGAAGCAAC	ACCATTACAGGCCGATACTCC
BM138	TGTCCCTAAGAACGAATATGGAATC	GAATCAAGCAACCTTGGATCATAAC
BM189	CTCCCACTCTACCCTCACT	GCGCCAAGTGAACTAAGTAGA
BM210*	ACCACTGCAATCCTCATCTTTG	CCCTCATCCTCCATTCTTATCG
PV113	TGCATTCTTCTCCCATCTT	TTGATTTGATTTGATCAGTGGTG
PV87	CTCATTGCGTCTACCAAGTGC	CCTAGGTTCCGCAGCATGT
BM181*	ATGCTGCGAGTTAATGATCG	TGAGGAGCAAACAGATGAGG
BM201*	TGGTGCTACAGACTTGATGG	TGTCACCTCTCCTCCAAT
PvComp4	TCTTACCACCTTGAAAACACG	TCAGATAAATGTTGGTATTGGCA
PvPenta4	AGCAACTTTCGGTCTGGTAAGT	TGAATCATTGCTCCTAACCTT
PvPenta5	AACTGTTCTTGTGGGTTCAAT	GCCCAAGGAGTAATTAACAATAAAA
PvComp9	TGAATGCAACATCTAATACTAACTCAC	TGTTCTAGGTCTAAAGGCCACA
PvPenta8	AAGAGCATGTTTACTTCACTCATTTT	TGGGGATGGTGTGTTGTTTT
PvTetra47*	TGGAATGGAGAAGAGACATCCT	CAAACCATGTTTCCAGCATCTA
PvPenta14*	GAAACTATTCACGGAACAAGCC	AGGAGTGGTGGAGGCAGTATAA
PvTetra65*	TCTGAATCAAACATGTCCTCAGA	GGCCAAACTGTTTAAAGGTGAG
PvComp2	CTCCGAATCAGAAACCCTATTG	GTGGATGAAGAGAAAGGCAAAG
PvTetra25	CACTTTCCTTATGCCCTTACAG	TAATTTGACCAATGCCAAACAC
PvTri6*	CGAATGGGAGAAGAAGGTTATG	GACATTCTGTGTCGTTTCCAA
PvHexa20*	GTGTCTTCTATAGGTGTCCCCG	GAGTATTTCAAAGCTTGGCCTT

PvTri5	AGAAAATCATGCAGGTTGAGGT	TCCAGCTAAATAGATGATACGTAATTG
PvPenta10	GTTCTTCTATTTCCATCTATC	AATATACATAAGAGTCACTTCCT
PvTetra50	TAACATGGTTAGGCCTTTTGAA	TCGTACGGATCCAAGTATTAATTT
PvComp21*	ACGAGTTATTGTTCCAGATGGG	TTATCCTTCTTATGCGGAGACC
PvHexa39	TTAATGCCTCCACTTGTGTGTTG	CATGAGGCCCAAGTCAAAA
PvPenta19	TTAGGTCTTCAAAGAGATTTGG	TGTGGTAGTAGATGTTAAAGTCATTT
PvHexa10	AACTTGTTTATCGCATCCAGAA	ATGCAATCAAGGAATGCTCATA
PvTri8	CAATGTGGAACAAACTGAGGTG	AAGCAAAGTGTCTGAATTGCTG
PvTetra32	ATTCTGCCACTAACGAAGTGT	CTAAAGGCCTAGCAGATTGCAT
PvComp10	AAATTCTATGATCAACCCGTGG	TGATCCCTGTAGAGGAATCTCA
PvTetra49	TGGGTAGAGCTTGGTCTTCATT	AGTTTGTGAGTGATGTGATGGG
PvHexa36	TCACTTGGCACCTCCTTATTT	AGGATTGTTTGCCTAAACCAGA
PvPenta16	ACATTGGTTTTGGTTTTGGTC	TCTAAAATGGTCTCGAATTTATTAC
PvComp27*	CAAGATGAACATCACCATTCTT	AAAAGAACATTTGTCACGTCCA
PvHexa12	TGCTAAATAGCCAAAGCAACAA	CATCACCACAGCACCAAGTATT
PvHexa15	CCAAACGAACCGACTATTTCTC	TTTGACCCTCCCTTTATGTTCT
PvHexa19	TGTTCTCTGTCTGACTTGGAA	AATTACAAGCCTGAAGCTGCTC
PvComp8	TCACTATGTGAAATTGAACCCA	TTCTACCTAACTTACTTGTACCCTT
PvPenta13*	ACTGAAGAAAGTACTAGAAACCTTACA	CCCCTTTAATCAGAGAATTTTA
PvTetra57	ATCAACTATGGCGGATTGACTT	GAAAACAAATCCTTTTGACCCA
PvTetra73	TGGTATCGAAGCATTAGGTTCA	GTAAGGTTAACGGGTGTGAAT
PvTetra76	TACTCAAGCTTCTCTGCAC	TGAAATATATGTTGCGGAAT

3.2.3.3. PCR Reaksiyon Koşulları

Kayak (2017)'nin kullandığı PCR protokolünü fasulyeye modifiye ederek, PCR karışımları için 1x AmplitaqGold® PCR Tamponu, 2.5 mM MgCl₂, 200µM her bir dNTP (Promega), 300 nM her bir primer, 0.5 ünite AmplitaqGold® polimeraz enzimi (Applied Biosystems Foster City CA), 1.0µL Taze fasulye yaprak DNA'sı ve nükleaz içermeyen H₂O. içeren bir protokol hazırlanmıştır (Kayak, 2017).

Çizelge 3.2.3.3.1 :SSR analizleri için PCR reaksiyon koşulları

Reaksiyon karışımı: 1 örnek (tüp) için kullanılan miktarlar	
1x AmplitaqGold® PCR Tamponu	2µL
MgCl ₂	1,5µL
dNTP (Promega)	0.5µL
Primer(F) ve Primer (R)	1µL
0.5 ünite AmplitaqGold® polimeraz enzimi	0,25µL
DNA	1µL
Distile deionize su	12,75µL
Toplam Hacim	20µL

Çizelge 3.2.3.3.2: PCR döngü programı

PCR Döngü Programı		
1. 95 °C	10 dk	1 döngü
2. 95 °C	30sn	35 döngü
3. 60°C	30sn	
4. 72°C	30sn	
5. 72°C	10dk	
6. 4 °C	∞	



Şekil 3.2.3.3.1 : PCR karışımlarının dağıtımı ve cihazın çalıştırılması

3.3.4.3. Kapiler Elektrofrezin Uygulanması

Yıllardır biyoteknoloji alanında kullanılan elektrofrez protein, hormonlar, nükleik asitler (DNA, RNA) ve enzimler için bir ayırma yöntemi olarak kullanılmaktadır.

Elektrofrezde analiz süresinin uzun olması, düşük verimlilik ve otomasyon problemleri bulunmaktadır (Tokat, 2011). Bu sebeple elektrofretik ayrılmanın gerçekleştirilmesi için jel tabaka sistemine alternatif bir sistem olarak kapiler kullanılmaktadır. Kapiler elektrofrez, yüksek ayırma gücü ve verimlilik, analizlerde örneklerin daha az miktarda kullanılabilmesi, analiz ucuz olması ve yüksek kararlılık gibi özelliklere sahiptir (Tokat, 2011).

Fasulye genotiplerine ait DNA örneklerinden çoğaltılmış olan SSR işaretleyicileri, Qiaxcel Fragment Analyzer (Qiagen Sample&Assay Technologies) kapiler elektrofrez sistemi ile görüntülenmiştir.

3.4. Genetik Çeşitlilik Analizlerinde Kullanılan Verilerin Elde Edilmesi

Her bir SSR markörü için, polimorfizm bilgi içeriği (PIC- Polymorphism information content) değeri Saal ve Wricke (1999) tarafından tanımlanan formüle göre hesaplanmıştır:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^k p_i^2$$

p_i 'inci allel'in sıklığını (*frequency*) ve k ise her lokus için farklı allel'lerin toplam sayısını vermektedir (Saal ve Wricke, 1999).

Bütün genotiplerin özgün bir lokus için her bir mikrosatellite değerleri; var (present) için 1, yok (absent) için 0 ve heterozigot bireyler içinde 0.5 gibi değerlerle skorlanmıştır. Bu veriler Nei'nin genetik benzerlik indeksinin (The Nei index of genetic similarity) hesaplanmasında kullanılmıştır (Nei ve Li, 1979). SSR markör verileri kullanılarak fasulye genetik çeşitliliğinin belirlenmesi, DARwin 6 (Perrier ve Jacquemoud-Collet, 2006) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Popülasyon yapısı, SSR verileri kullanılarak Structure (Pritchard ve ark., 2000) veri işleme programı ile belirlenmiştir.

3.3. BCMV ve BCMNV Dayanımlı Taze Fasulye Çeşitlerinin DNA Markörleri Kullanılarak Belirlenmesi

BCMV ve BCMNV dayanımı sağlayan epistatik I ve bc-1²,bc-3 genlerine ait dayanıklılık alellerinin belirlenmesi için sırasıyla SW13 markörü (Miklas, 2002), SBD5 markörü (Vandemark ve Miklas, 2002), ROC11 markörü (Kelly ve ark., 2003) olmak üzere üç adet markör kullanılmıştır ve bu markörlere ait detaylı bilgi aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.3.1: BCMV ve BCMNV dayanımı sağlayan epistatik I ve bc-1² (bc-3) allellerine ait dayanımlarının belirlenmesi için kullanılan markörler

Gen Adı	Markör	İleri Primer (5'>3')	Geri Primeri (5'>3')	Alel Uzunluğu
I	SW13	CACAGCGACTAATTTTCCTTTC	CACAGCGACAGGAGGAGTTTA	690 bp
bc-1 ²	SBD5	GTGCGGAGAGGCCATCCATTGGTG	GTGCGGAGAGTTTCAGTGTTGACA	1300 bp
bc-3	ROC11	CCAATTCTCTTTCACTTGTAACC	GCATGTTCCAGCAAACC	420 bp

Tabloda verilen markörler yukarıda verilen PCR koşullarında gerçekleştirilmiş olup, markör bantları Qiaxcel Fragment Analyzer (Qiagen Sample&Assay Technologies) kapiler elektroforez sistemi ile görüntülenmiştir.

Dataların değerlendirilmesi manuel olarak elle yapılmıştır. Değerlendirmeler her genotip için kullanılan markörlerin elektroferogram görünümünde verdikleri allel uzunluklarının PIC değerlerine göre yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

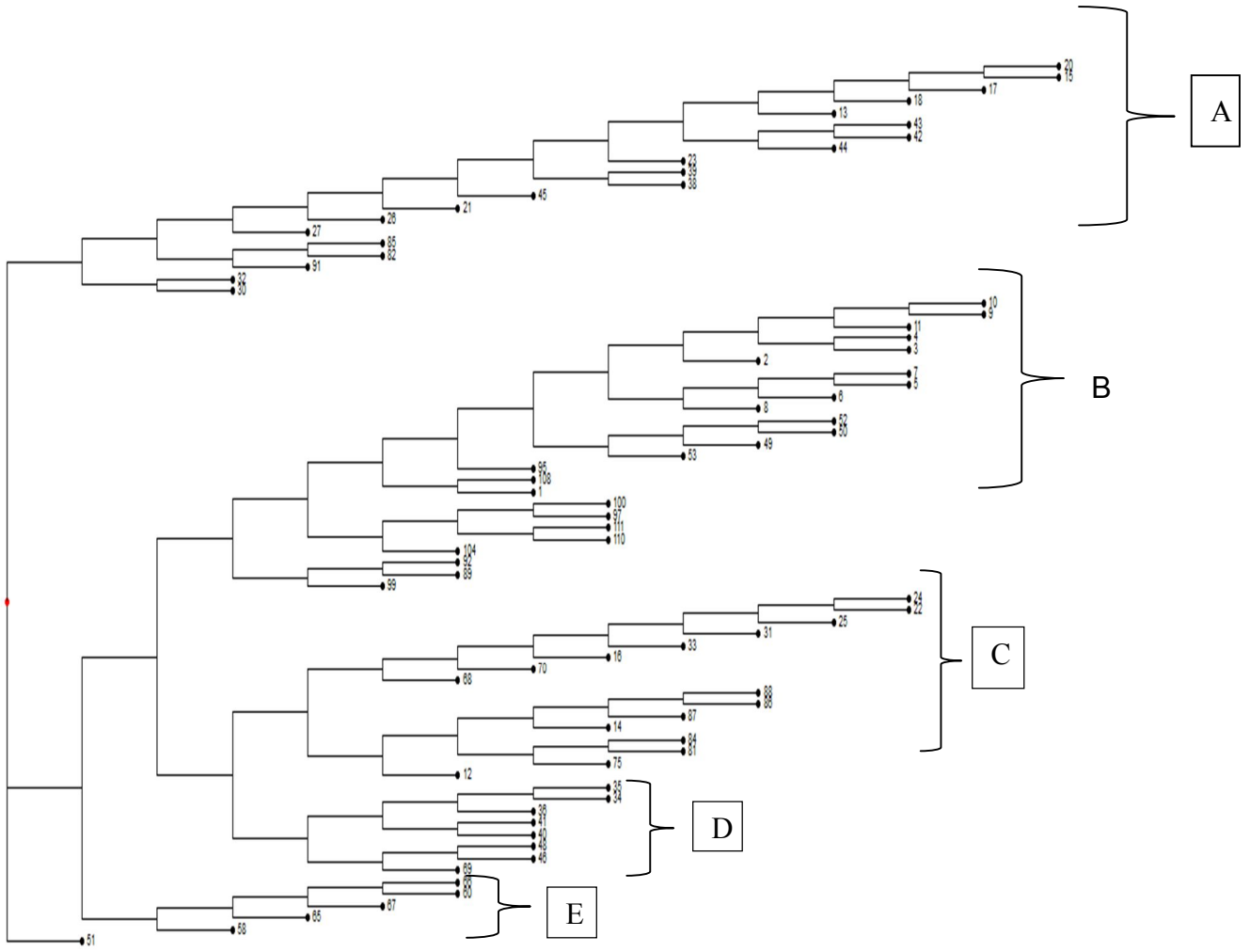
Bu çalışmada ıslah havuzunda var olan ve agronomik özellikleri yönü ile ümitvar bulunan 75 adet fasulye genotipi moleküler çalışmaya alınmıştır. Genotiplerin BCMV (*bean common mosaic virüs*) ve BCMNV (*bean common mosaic necrosis virus*) dayanım düzeyleri ve genotipler arasındaki genetik çeşitlilik düzeyleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar iki başlık halinde incelenmiş verilen literatür bildirimleri doğrultusunda tartışılmıştır.

4.1. SSR Yöntemi ile Moleküler Karakterizasyon

Fasulyede gen temelli belirteçler, genotiplerin sahip olduğu gen havuzlarını ayırmada oldukça etkili ve bu nedenle çeşitlilik analizleri ve taze fasulyedeki karşılaştırmalı ve transkript haritalaması için yararlı olacağı bildirilmiştir (Blair ve ark., 2006).

SSR markörleri polimorfizm oranlarının yüksek olması, genom içerisinde tekrar eden bölgeler halinde bulunması ve bu bölgelerin genotiplere özgü sayıda olması sebebiyle bitki türleri arasındaki genetik çeşitlilik ve akrabalık ilişkilerinin incelenmesinde başarılı bir şekilde kullanılmakta olduğunu bildirmişlerdir (Sánchez-Pérez ve ark., 2005).

Çalışmada 75 adet taze fasulye genotiplerinden PIC değeri ≥ 0.2 olan toplam 123 adet SSR alleli elde edilmiştir. Sarıkamış ve ark. (2009), Van'ın Erciş ve Gevaş ilçelerinden topladıkları 28 taze fasulye genotipleri arasındaki genetik ilişkilerini incelemek amacıyla yapmış oldukları çalışmada 12 SSR primeri arasından 10 tanesinden 45 polimorfik bant elde etmişlerdir (Sarıkamış ve ark., 2009). Polimorfik SSR markörleri için hesaplanan en yüksek PIC değeri pv25 ve pv13 markörleri ve değeri: 0.5 iken en düşük değer bm181 ve bm 201 değeri: 0.254 olarak hesaplanmıştır. SSR markör sonuçları allelleri yok/var şeklinde skorlanmış olup veri dosyası DARwin programında analiz edilmiştir. Elde edilen verilere göre fasulye genotipleri arasındaki moleküler genetik ilişkileri gösteren UnweightedNeighbor-joining (NJ) dendogramı oluşturulmuştur. Oluşturulan dendogram aşağıda gösterilmiştir.



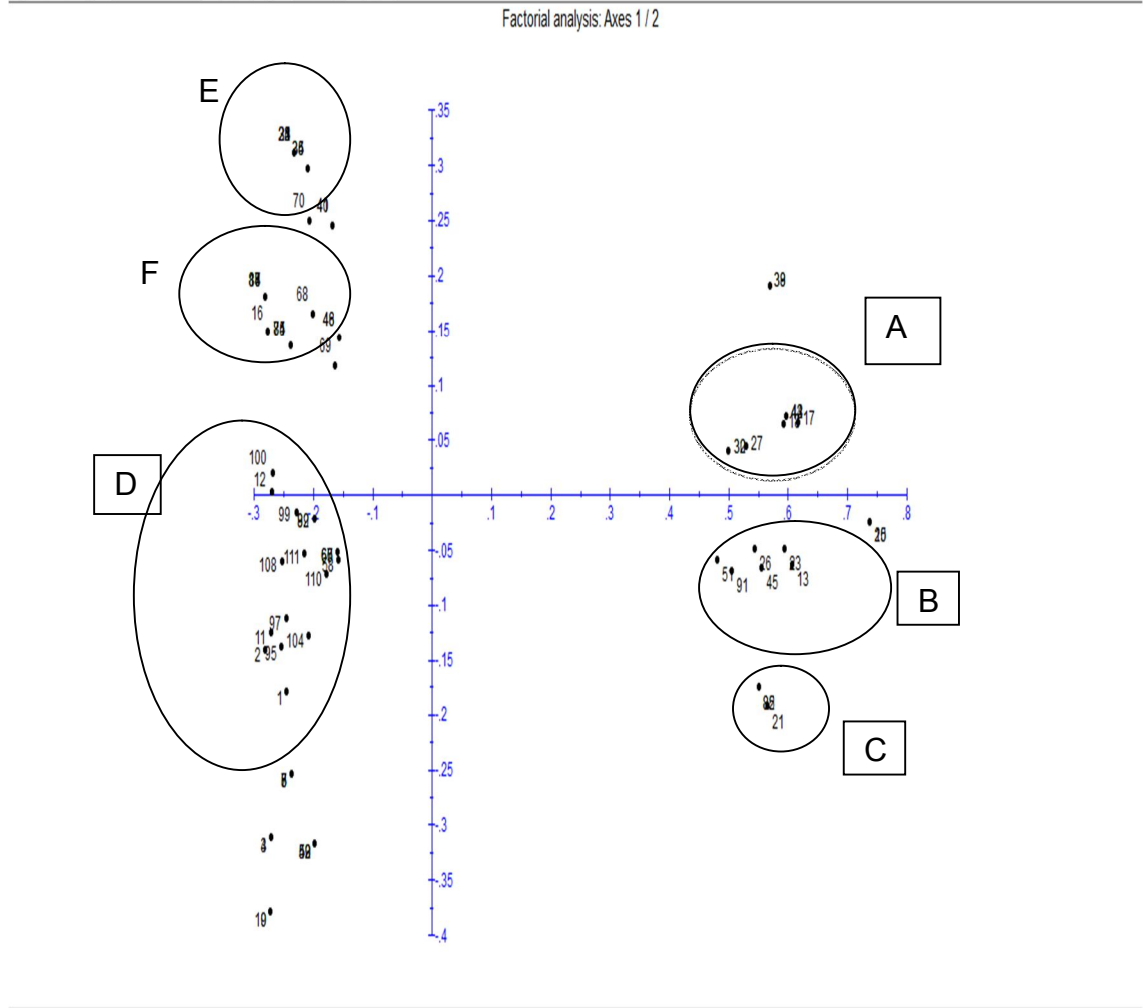
Şekil 4.1.1. Çeşitlilik analizi sonucu çizilen Unweighted NJ (Neighbor-joining) dendrogramı.

SSR allel verileri ile gerçekleştirilen çeşitlilik analizi sonucunda fasulye genotipleri arasındaki moleküler genetik ilişkileri gösteren UnweightedNeighbor-joining (NJ) dendrogramında, fasulye genotipleri 3 temel ana dala ayrılarak 5 büyük grupta toplandığını görülmektedir (Şekil 4.2.1). Genotiplerin büyük bölümü B grubunda toplanmış olup A grubunda 20 genotip , B Grubu 25, C grubu 16 , D grubu 8 , E grubunda ise 5 genotipten oluşmaktadır. Yapılan mantel testlemesi sonucunda ‘r’ değeri **0.9773** bulunmuştur. Buda bize analiz edilen genotipler arasında yüksek düzeyde benzerlik olduğunu göstermiştir.

Yapılan bir başka çalışmada bir çalışmada 44 fasulye genotipi arasındaki genetik çeşitliliği belirlemek için 129 SSR primeri kullanılmıştır. Sonuç olarak Güney Amerika genotipleri arasındaki karşılaştırmalarda, polimorfizm (% 53.0) çıkarken,

Orta Amerika genotipleri arasında (% 33.4) oranında polimorfizm olduğu gözlemlenmiştir (Blair ve ark., 2006).

SSR markır verileri DARWIN 6 programı kullanılarak genetik çeşitlilik analizine dayanan temel bileşen analizi (PCA) grafiği Şekil 4.1.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1.2. SSR alel verileri kullanılarak oluşturulan Temel Bileşen Analizi (PCA) grafiği.

SSR markır analizleri sonucu alınan verilerle hatlar arasındaki genetik çeşitliliği ve genotiplerin aralarındaki moleküler genetik yakınlık durumlarını ortaya çıkarmak için temel bileşenler analizi (PCA) yapılmıştır.

Yapılan bu analizde genotiplerin her bir koordinat düzleminde aynı grupta veyahut birbirine yakın yerlerde bulunmaları hatlar aralarındaki genetik farklılığın az olduğunu

göstermektedir. Toplamda altı grubun olduğu analizde C grubunda oluşan kümelenmede 98 ve 21 nolu genotiplerin kendi aralarında bir grup oluşturarak diğerlerinden uzak bir yerde konumlanması iki genotip arasındaki genetik farklılığın az, bu ikili grubun diğerleri ile arasındaki genetik farklılığın fazla olduğunu göstermektedir. Yine A ve B grubu arasında bulunan 25 nolu genotipin her iki grupta da uzak bir yerde konumlanması bu genotipin genetik farklılığının fazla olduğunu göstermektedir. D grubu içinde oluşan büyük kümelenmede ise 19, 8, 3 ve 59 nolu genotiplerin bu gruptan ayrılarak genetik farklılığın hem kendi aralarında hemde büyük gruptan fazla olduğunu göstermektedir. Burada A grubunda oluşan kümelenmede 38 nolu genotip farklı bir şekilde konumlanması bu genotipin oluşan kümelenmedeki genotiplerle arasında genetik farklılığın fazla olduğunu göstermektedir. Ulukapı (2009),'nın yaptığı çalışmada SSR ve SCAR primer çiftlerini kullandığı moleküler karakterizasyon sonucu elde edilen PCO grafiğinde Cornell (36) ve Widusa (37) çeşitleri diğer hat ve çeşitlerden tamamen ayrılarak bu iki genotipin kendi aralarında benzerlik indeksi verileri sırasıyla; 0.76 ve 0.77 olduğunu bu iki genotipin diğerleri ile arasındaki genetik farklılığın fazla olduğunu bildirmiştir (Ulukapı, 2009).

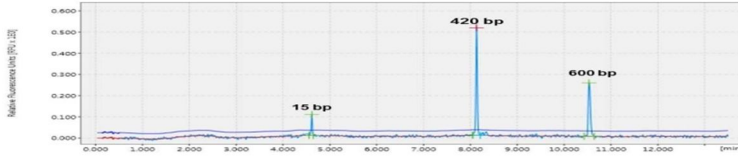
4.2. Moleküler Belirteçlerle BCMV ve BCMNV Hastalıklarına Dayanımın Belirlenmesi

Çalışmada fasulye genotiplerin BCMV (*bean common mosaic virüs*) ve BCMNV (*bean common mosaic necrosis virus*) dayanım düzeylerinin belirlenmesinde Miklas ve ark. tarafından geliştirilen SCAR (Dizi Karakterize Amplifiye Edilmiş Bölge) markörleri kullanılmıştır. Taze fasulye genotiplerinin her birinde epistatik I ve bc-1², bc-3 allellerinin var olup olmadığı bu allellere özel SCAR markörleri (sırasıyla SW-13 ve SBD-5,ROC11) kullanılarak PCR koşullarında araştırılmıştır.

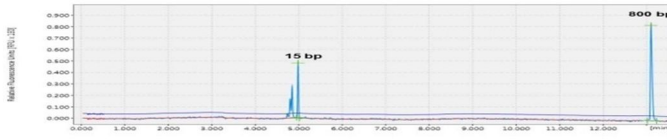
Sonuçlar kapiler elektroforez sistemi ile görüntülenerek kullanılan markörleri elektroforegram görüntülerindeki pik yaptıkları allel uzunluğu değerlerine göre genotiplerin dayanım/duyarlılık durumları tespit edilmiştir.

Dayanım gösteren genotiplerin elektroforegram görüntülerinde allel uzunluklarının pik noktalarını görürken duyarlı genotipler bu noktaları görmüyoruz. Aşağıda sırasıyla

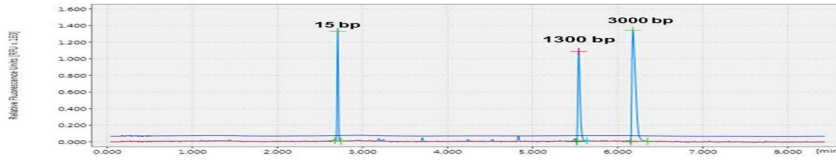
ROC11 (şekil 4.2.1. ve şekil 4.2.2) ve SBD5 (şekil 4.2.3. ve şekil 4.2.4.) markörlerine ait dayanım ve duyarlılık gösteren genotiplerin elektroforegram görüntüleri verilmiştir.



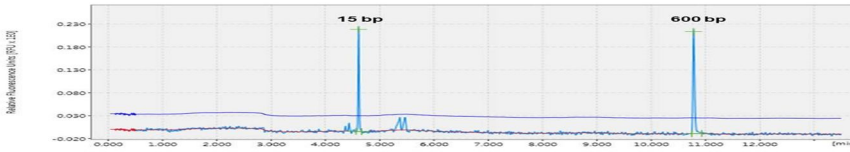
Şekil 4.2.1. ROC11 markörüne ait dayanım gösteren genotipin elektroforegram görünümü



Şekil 4.2.2. Duyarlılık gösteren genotipin elektroforegram görünümü



Şekil 4.2.1. SBD5 markörüne ait dayanım gösteren genotipin elektroforegram görünümü



Şekil 4.2.4. Duyarlılık gösteren genotipin elektroforegram görünümü

BCMV (*bean common mosaic virüs*) ve BCMNV (*bean common mosaic necrosis virus*)'ye dayanım düzeylerinin belirlenmesinde genotiplerin epistatik I ve bc-1² (bc-3) allelerini taşıyıp taşımadığını gösteren testlemeye ait sonuçlar Çizelge 4.2.5. de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.5. : Fasulye genotiplerinde (R: Dayanıklı S:Duyarlı) epistatik I geni / bc-1²/ bc-3 allelerinin var olup olmadığı gösteren sonuçlar

Genotip NO	BCMV BCMNV	Genotip NO	BCMV BCMNV	Genotip NO	BCMV BCMNV	Genotip NO	BCMV BCMNV	Genotip NO	BCMV BCMNV
1	S	16	S	34	S	51	R	85	R
2	S	17	R	35	S	52	S	86	S
3	S	18	R	36	S	53	S	87	S
4	S	20	R	38	R	58	S	88	S
5	S	21	R	39	R	60	S	89	S
6	S	22	S	40	S	65	S	91	R
7	S	23	R	41	S	66	S	92	S
8	S	24	S	42	R	67	S	95	S
9	S	25	S	43	R	68	S	97	S
10	S	26	R	44	R	69	S	99	S
11	S	27	R	45	R	70	S	100	S
12	S	30	R	46	S	75	S	104	S
13	R	31	S	48	S	81	S	108	S
14	S	32	R	49	S	82	R	110	S
15	R	33	S	50	S	84	S	111	S

Yapılan bu çalışma sonucunda kullanılan genotiplerin 21'i her iki patojene karşı dayanım gösterdiği tespit edilmiştir.

Türkiye'de 2007 yılına kadar fasulyede enfeksiyona sebep olan bu iki patojene ait ırkların tespit edilmesine dair çalışma yapılmadığını belirten Deligöz (2007), dolayısıyla bugüne kadar bu iki virüse dayanıklı çeşidimizde bulunmadığını belirtmiştir.

Samsun ilinin yetiştiricilik yapılan fasulye alanlarında enfeksiyona sebep olan bu iki patojene ait ırkların tespiti amacıyla yapılan bir araştırma sonucunda; Zülbiye, Özeren Şeker çeşitleri ve 4F-3260 ıslah hatlarının dominant *I* genine sahip olduğunu belirlemiş ve bu gen BCMV'nin NL-1, US-7, US-5, US-2 ve NL-4 ırklarına karşı tüm sıcaklıklarda, NL-6, NL-2 ve RU-1 ırklarına karşı ise 30 °C'nin dayanıklılığı sağlamaktadır. Dominant *I* genini taşıyan çeşitler BCMNV'nin tüm ırklarına (NL-3, NL-5, NL-8) karşı hassastır. Çalışmada kullanılan Akdağ çeşidinin resesif *bc-2* genine sahip olduğunu tespit ederek bu çeşidin BCMNV'nin bütün ırklarına ve BCMV'nin ise NL-4 ırkı haricinde diğer bilinen tüm ırklarına dayanıklılık sağladığını belirterek Akdağ çeşidinin şu an için bu iki virüsün sorun olduğu bölgelerde yetiştirilmesini tavsiye edebileceğini bildirmiştir (Deligöz, 2007).Yaptığımız bu çalışmada dayanım gösteren genotipler önerilen Akdağ çeşidi gibi ileride bu doğrultuda yapılacak olan ıslah çalışmalarında genetik materyal olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.

P. Vulgaris'in geliştirilen üç (TARS-VR-1s, TARS-VR-7s ve TARS-VR-8s) F8 hatlarının dominant *I* ve resesif *bc3* genlerini taşıdığını ve bu hatların BCMV ve BCMNV'ye dayanıklı olduklarını bildirmişlerdir (Miklas ve ark., 1997).

Larsen ve ark. (2005), BCMNV'nin NL-K3(Kimberly ırkı) ve NL-3D(Drijfhout ırkı) ırklarını *I+ bc-3 + i- bc3* genlerine sahip çeşitli fasulye bitkilerine inoküle ederek bitkileri üzerindeki etkilerini gözlemlemişlerdir.Çalışma sonucunda NL-3D ırkının *I + bc-3* geni taşıyan çeşitlerde hiçbir belirti göstermediğini, NL-3K ırkının ise USWK-6, USCR-7, USCR-9 çeşitlerinde belirti oluşturmadığını yine aynı genotipe sahip USLK-1, USLK-2, USLK-3, USDK- 4 çeşitlerinde nekrotik lezyon, sistemik damar nekrozu ve kloroz belirtilerinin bulunduğunu bildirmişlerdir (Larsen ve ark., 2005).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Moleküler çalışmalar 75 genotip üzerinden gerçekleştirilmiştir. Her genotipteki 5 bitkiden alınan bitki örnekleri bulk edilerek 75 adet DNA izalasyonu yapılmıştır.

SSR çalışmalarında toplam 58 adet primer kullanılmış ve PIC değeri ≥ 0.2 olan toplam 123 adet SSR alleli elde edilmiştir.

Polimorfik SSR makırları için hesaplanan en yüksek PIC değeri pv25 ve pv13 markörlerinde ve değerleri: 0.5'tir.

Polimorfik SSR makırları için hesaplanan en düşük PIC değeri ise bm181 ve bm 201 markörlerinde ve değerleri: 0.254 olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen markör allelleri yok/var şeklinde skorlanarak DARwin programında analiz edilmiştir.

Yapılan çeşitlilik analizi sonucunda moleküler genetik ilişkileri gösteren NJ dendrogramında, fasulye genotiplerinin 3 temel ana dala ayrılarak 5 büyük grupta toplandığı görülmektedir.

Bu çalışmada öncelikle moleküler belirteçler ile yapılan dayanım testlemesinin yapılması hem iş gücü hem zaman yönünden bize büyük avantaj sağlamıştır.

BCMV (*bean common mosaic virüs*) ve BCMNV (*bean common mosaic necrosis virus*) dayanım düzeyleri belirlenmesinde genotiplerde epistatik I ve $bc-1^2$ ($bc-3$) allellerinin var olup olmadığını gösteren testlemenin sonucunda 21 genotipin her iki patojenede direnci tespit edilmiştir.

Dayanım gösteren bu 21 genotipin çeşitlilik analizinin sonuçlarını gösteren dendrogramda aynı grupta bir araya toplandığı görülmektedir.

Bu nedenle, bu çalışmanın sonuçları, test edilen iki viral hastalığa karşı allellik oluşumu ve dayanım/duyarlılık arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir.

Ülkemizde fasulyede bu iki patojene karşı dayanım konusunda yapılan çalışmalar sınırlı sayıda olup öncelik olarak fasulye yetiştiriciliği yapılan alanların taranması gerekmektedir.

Böylece yapılan bu çalışmalar sonucu dayanım gösteren gen kaynakları belirlenebilir. Bizim yaptığımız bu çalışmada da elde ettiğimiz dayanıklı genotipler bu doğrultuda ıslah materyali olabilir.

5.2 Öneriler

Sonuç olarak taze fasulye genotiplerinin BCMV (*bean common mosaic virüs*) ve BCMNV (*bean common mosaic necrosis virus*) dayanım düzeyleri ve genotipler arasındaki genetik çeşitlilik düzeylerinin belirlenmiş olup ümitvar düzeyde olan genotiplerden elde edilen veriler ileride devam edecek olan taze fasulye çalışmalarında bu iki virüsün ırklarına dayanımı sağlayan I ve bc-3 genlerinin tüketici isteklerine uygun taze fasulye genotiplerine aktarımında ve genetik çeşitlilik konusunda yapılacak çalışmalara önemli bir kaynak olup, yol gösterecektir.



KAYNAKLAR

- Abak, K., Düzyaman, E., Şeniz, V., Gülen, H., Pekşen, A. ve Kaymak, H. Ç., 2010, Sebze üretimini geliştirme yöntem ve hedefleri, *VII. Ziraat Kongresi*, 11-15.
- Acosta-Gallegos, J. A., Kelly, J. D. ve Gepts, P., 2007, Prebreeding in common bean and use of genetic diversity from wild germplasm, *Crop Science*, 47 (Supplement_3), S-44-S-59.
- Akbulut, B., Karakurt, Y. ve Tonguç, M., 2014, Fasulye genotiplerinin morfolojik ve fenolojik karakterizasyonu, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 30 (4), 227-233.
- Anonim, 2014, Faostat Taze Fasulye Dünya Üretim Verileri, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>: [17.08.2017].
- Anonim, 2016, Tük Ülkemiz Taze Fasulye Üretim Verileri, <https://biruni.tuik.gov.tr/bolgeselistatistik/degiskenlerUzerindenSorgula.do#>: [17.08.2017].
- Anonim, 2017, EURX (Gene Metrix Plant- Fungi DNA) DNA İzalasyonlarında Kullanılan Kit.
- Balkaya, A., Yanmaz, R., Bozoglu, H. ve Gülümser, A., 1999, Samsun İlinin Taze Fasulye Yetiştiriciliği Yönünden Durumunun Belirlenmesi, *Karadeniz Bölgesi Tarım Semp. Bildiriler. Cilt, 1*, 51-62.
- Balkaya, A. ve Yanmaz, R., 2003, Bazı taze fasulye çeşit adayları ile ticari çeşitlerin morfolojik özellikler ve protein markörler yoluyla tanımlanmaları, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 9 (2), 182-188.
- Beebe, S., Skroch, P. W., Tohme, J., Duque, M., Pedraza, F. ve Nienhuis, J., 2000, Structure of genetic diversity among common bean landraces of Middle American origin based on correspondence analysis of RAPD, *Crop Science*, 40 (1), 264-273.
- Blair, M. W., Giraldo, M., Buendia, H., Tovar, E., Duque, M. ve Beebe, S. E., 2006, Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Theoretical and Applied Genetics*, 113 (1), 100-109.
- Broughton, W. J., Hernández, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P. ve Vanderleyden, J., 2003, Beans (*Phaseolus* spp.)—model food legumes, *Plant and soil*, 252 (1), 55-128.
- Çiftçi, K., Şahin, A., Terin, M. ve Yıldırım, İ., 2012 Fasulye Üretim ve Pazarlamasında Etkili Olan Faktörler: Gevaş İlçesi Örneği. 10. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi Konya.
- Çiftçi, V., Şensoy, S., Türkmen, Ö. ve Erdinç, Ç., 2012, Van- Gevaş'ta Yaygın Olarak Yetiştirilen Yalancı Dermason Fasulye Popülasyonunun Seleksiyon Yöntemleriyle Islahı. 9.Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu. Konya 562-568.
- Deligöz, İ., 2007, Samsun İlinde Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L. Alanlarında Enfeksiyon Oluşturan Bean common mosaic virus (BCMV) ve Bean common mosaic necrosis virus (BCMNV)'un Irklarının Belirlenmesi ve Bazı Fasulye Çeşitlerinin BCMV ve BCMNV'ye Karşı Dayanıklılık Düzeylerinin Araştırılması, , Yüksek Lisans Tezi,, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi*.
- Drijfhout, E., 1978, Genetic interaction between *Phaseolus vulgaris* and bean common mosaic virus with implication for strain identification and breeding for breeding for resistance, Pudoc, p.
- Duran, L. A., Blair, M. W., Giraldo, M., Macchiavelli, R., Prophète, E., Nin, J. C. ve Beaver, J. S., 2005, Morphological and molecular characterization of common bean landraces and cultivars from the Caribbean, *Crop Science*, 45 (4), 1320-1328.

- Ekincialp, A., 2011, Van Gölü Havzası Fasulye Genotipleri Arasındaki Akrabalık İlişkilerinin ve Antraknoz (*Colletotrichum lindemuthianum*)(Sacc. & Magnus) Lambs. Scrib.) Hastalığına Dayanıklılığın Fenotipik ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi, Doktora Tezi (basılmamış), *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi*.
- Erdinc, C., Turkmen, O., Dasgan, H. ve Sensoy, S., 2017, Phenotypic And Molecular Genetic Diversity Among Some Turkish Bean Genotypes, *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 27 (6).
- Erdinç, Ç., 2012, Türkiye’ deki bazı fasulye genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin ve antraknoz hastalığına (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Lambs. Scrib.) dayanıklılığın fenotipik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi, Doktora tezi.
- Ergün, A., 2005, Samsun ilindeki barbunya fasulye gen kaynaklarının karakterizasyonu ve morfolojik varyabilitesinin belirlenmesi üzerine bir araştırma (Yüksek lisans tezi, basılmamış). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, *Fen Bilimleri Enst., Samsun*.
- Erkan, S., 1998, Tohum Patolojisi, *Bornova, İzmir*, Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları p.
- Flores-Estévez, N., Acosta-Gallegos, J. A. ve Silva-Rosales, L., 2003, Bean common mosaic virus and Bean common mosaic necrosis virus in Mexico, *Plant disease*, 87 (1), 21-25.
- Ghorbani, S., Shahraena, N. ve Elahinia, S., 2010, Distribution and impact of virus associated diseases of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in northern Iran, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 43 (12), 1183-1189.
- Gümüş, M., Erkan, S., Yorgancı, Ü. ve Duman, I., 2001, Bazı sebzelerin tohumlarında bulunan viral etmenlerin saptanması üzerine araştırmalar, *Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi*, 190-197.
- Günay, A., 2005, Sebze Yetiştiriciliği, *İzmir*, p.
- Halbert, S. E., Mink, G.I., Silbernagel, M.J. and Mowry, T.M., 1994, Transmission of bean common mosaic virus by cereal aphids (Homoptera: Aphididae), *Plant disease*, 78 (10), 983.
- Işık, R., 2012, Bazı taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin morfolojik ve moleküler karakterizasyonu, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Jose, F. C., Mohammed, M. S., Thomas, G., Varghese, G., Selvaraj, N. ve Dorai, M., 2009, Genetic diversity and conservation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae) landraces in Nilgiris, *Current Science*, 227-235.
- Kahraman, A., 2008, Konya bölgesinde yetiştirilen bodur kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) populasyonlarının genetik farklılıkların ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi, *Yüksek Lisans Tezi Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya*.
- Kayak, N., 2017, Çerezlik Kabak Genotiplerinde Morfolojik ve Moleküler (SSR) Yöntemlerle Karakterizasyon ve Heterotik Etkilerin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi, Konya*.
- Kelly, J., Gepts, P., Miklas, P. ve Coyne, D., 2003, Tagging and mapping of genes and QTL and molecular marker-assisted selection for traits of economic importance in bean and cowpea, *Field Crops Research*, 82 (2), 135-154.
- Kılıç, H. Ç., Yardımcı, N. ve Ürgen, G., 2013, Muğla ili Fethiye İlçesinde Fasulye Alanlarında Önemli Bazı Virüs Hastalıklarının Araştırılması, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27 (1).
- Kumar, C., Khetarpal, R., Parakh, D., Singh, S. ve Nath, R., 1994, Check list on seed transmitted viruses: Leguminous hosts, *National Bureau of Plant Genetic Resources, New Delhi*, 110012.

- Kwak, M. ve Gepts, P., 2009, Structure of genetic diversity in the two major gene pools of common bean (*Phaseolus vulgaris* L., Fabaceae), *Theoretical and Applied Genetics*, 118 (5), 979-992.
- Larsen, R. C., Miklas, P. N., Druffel, K. L. ve Wyatt, S. D., 2005, NL-3 K strain is a stable and naturally occurring interspecific recombinant derived from Bean common mosaic necrosis virus and Bean common mosaic virus, *Phytopathology*, 95 (9), 1037-1042.
- Madakbaşı, S. Y., 2007, Fasulye Antraknozu (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magnus) Lambs. Scrib) Hastalığına Dayanıklılığın Kalıtımı Üzerine Araştırmalar Doktora tezi, *Ankara Üniversitesi Ankara*, 107s.
- Madakbaşı, S. Y., Ergin, M., Özçelik, H. ve Küçüközlü, B., 2007, Orta Karadeniz Bölgesinde Yetiştirilen Bazı Bodur Taze Fasulye Populasyonlarından Seçilen Bodur Ayşe Kadın Özelliğinde Saf Hatların Bazı Morfolojik Ve Tarımsal Özelliklerinin Belirlenmesi, *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21 (41), 68-73.
- Mavric, I. ve Vozlic, S., 2004, Virus diseases and resistance to Bean common mosaic and Bean common mosaic necrosis potyvirus in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Acta agriculturae slovenica*, 83 (1), 181-190.
- McKern, N. M., Mink, G., Barnett, O., Mishra, A., Whittaker, L. A., Silbernagel, M., Ward, C. W. ve Shukla, D. D., 1992, Isolates of bean common mosaic virus comprising two distinct potyviruses, *Phytopathology*, 82 (9), 923-929.
- Miklas, P., Beaver, J., Steadman, J., Silbernagel, M. ve Freytag, G., 1997, Registration of three bean common mosaic virus-resistant navy bean germplasms, *Crop Science*, 37 (3).
- Miklas, P. N., 2002, Marker-assisted selection for disease resistance in common bean, *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 45, 1-3.
- Müller, B. S., Pappas, G. J., Valdissier, P. A., Coelho, G. R., de Menezes, I. P., Abreu, A. G., Borba, T. C., Sakamoto, T., Brondani, C. ve Barros, E. G., 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 (6), 1697-1711.
- Nei, M. ve Li, W.-H., 1979, Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76 (10), 5269-5273.
- Pekşen, E. ve Artık, C., 2012, Antibesinsel maddeler ve yemeklik tane baklagillerin besleyici değerleri, *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 20, 110-120
- Perrier, X. ve Jacquemoud-Collet, J., 2006, DARwin software, version 6.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. ve Donnelly, P., 2000, Inference of population structure using multilocus genotype data, *Genetics*, 155 (2), 945-959.
- Saal, B. ve Wricke, G., 1999, Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.), *Genome*, 42 (5), 964-972.
- Sánchez-Pérez, R., Ruiz, D., Dicenta, F., Egea, J. ve Martínez-Gómez, P., 2005, Application of simple sequence repeat (SSR) markers in apricot breeding: molecular characterization, protection, and genetic relationships, *Scientia horticulturae*, 103 (3), 305-315.
- Sarıkamış, G., Yaşar, F., Bakır, M., Kazan, K. ve Ergül, A., 2009, Genetic characterization of green bean (*Phaseolus vulgaris*) genotypes from eastern Turkey, *Genetics and Molecular Research*, 8 (3), 880-887.

- Sengooba, T., Spence, N., Walkey, D., Allen, D. ve Femi Lana, A., 1997, The occurrence of bean common mosaic necrosis virus in wild and forage legumes in Uganda, *Plant pathology*, 46 (1), 95-103.
- Silbernagel, M., Mink, G., Zhao, R.-L. ve Zheng, G.-Y., 2001, Phenotypic recombination between bean common mosaic and bean common mosaic necrosis potyviruses in vivo, *Archives of virology*, 146 (5), 1007-1020.
- Şalk , A., Arın , L., Deveci , M. ve Polat , S., 2008, Özel Sebzeçilik, *Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Tekirdağ*, p.
- Şevik , M. A., 2012, Tohum İle Taşınan Virüsler ve Tohum Sağlığı, *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 26 (3), 75-79.
- Tokat, Ç., 2011, Kapiler Elektroforezin İlaç Analizlerine Uygulanması, Bitirme Ödevi, *Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi*.
- Ulukapı, K., 2009, Selekte Edilmiş Bazı Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Hat Ve Çeşitlerinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu, Doktora Tezi, *Akdeniz Üniversitesi, Antalya*.
- Ulutaş, H., 2016, Bazı ümitvar taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeşit adaylarının morfolojik ve moleküler karakterizasyonu, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.
- Vandemark, G. J. ve Miklas, P. N., 2002, A fluorescent PCR assay for the codominant interpretation of a dominant SCAR marker linked to the virus resistance allele bc-12 in common bean, *Molecular Breeding*, 10 (4), 193-201.
- Worrall, E. A., Wamonje, F. O., Mukeshimana, G., Harvey, J. J., Carr, J. P. ve Mitter, N., 2015, Chapter One-Bean Common Mosaic Virus and Bean Common Mosaic Necrosis Virus: Relationships, Biology, and Prospects for Control, *Advances in virus research*, 93, 1-46.
- Yılmaz , N. D. K., Gümüş , M. ve Erkan , S., 2002, Tokat ilinde fasulye tohumlarındaki viral etmenlerin saptanması üzerinde araştırmalar, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39 (3).

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ayşe Nur ÇETİN
Uyruğu : T:C
Doğum Yeri ve Tarihi : Isparta – 28.08.1993
Telefon :
Faks :
e-mail : aysenurctn32@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Isparta Gazi Lisesi	2007-2011
Üniversite	: Selçuk Üniversitesi	2011-2015
Yüksek Lisans	: Selçuk Üniversitesi	2015-2018
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

UZMANLIK ALANI: Sebze Yetiştiriciliği ve Islahı

YABANCI DİLLER : İngilizce