T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ

ERZİNCAN İLİNDE YETİŞTİRİLEN BAZI BARBUNYA VE TAZE FASULYE (PHASEOLUS VULGARİS L) GENOTİPLERİNİN MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU

Proje No: FBA-2017-6192

Temel Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:
Prof.Dr. Atilla DURSUN
Ziraat Fakültesi/Bahçe Bitkileri Bölümü

Araştırmacı:
Halil İbrahim ÖZTÜRK
Ziraat Fakültesi/Bahçe Bitkileri Bölümü

Ekim 2018

ERZURUM

ÖNSÖZ

Ülkemizde hem kuru hem de taze olarak tüketilen fasulye insan beslenmesi açısından önemli bir gıda maddesi olarak tüketilmektedir. Ülkemizde gerek ekonomik gerekse insan beslenmesi açısından önemli yere sahip olan fasulye yüksek bir genetik çeşitliliğe sahiptir. Bitki genetik kaynaklarının karakterizasyonunun amacı öncelikle tohum örnekleri veya popülasyonları arasındaki genetik varyasyonu ortaya koymak ve bu örnekler ile popülasyonlar arasındaki genetik varyasyon miktarı ve dağılımını tespit etmektir. Bitki genetik kaynaklarının morfololojik özelliklerinin tespit edilmesi ve bununla birlikte moleküler yöntemler ile taranarak genetik açıdan incelenmesi, genotipler arasındaki genetik ilişkilerin ve akrabalık düzeylerinin belirlenmesi ileride yürütülecek ıslah çalışmaları için bir temel oluşturmaktadır.

Yapılan bu çalışmada iPBS markör yöntemi kullanılarak, Erzincan yöresinden toplanan bazı yerel barbunya ve taze fasulye genotiplerinin arasındaki genetik farklılıklar ortaya konmuştur. Bu çalışmanın sonunda elde edilen verilerinin sonucuna göre, genotipler arasındaki varyasyon tespit edilerek bu doğrultuda yapılacak olan ıslah çalışmaları için bir alt yapı oluşturması, ülkemizdeki taze fasulyedeki tanımlama çalışmalarında bütünlük sağlaması ve aynı zamanda ıslahçıların iş yükü ve masraflarının azaltılması hedeflenmiştir.

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET **1**

ABSTRACT **2**

1. GİRİŞ **3**

2. MATERYAL ve YÖNTEM **6**

2.1. Materyal 6

2.2. Yöntem 7

2.3. Moleküler karakterizasyon 8

2.4. iPBS markör yöntemi 11

2.5. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi 13

2.6. Markör analiz sonuçlarının skorlanması 13

2.7. PIC değerlerinin hesaplanması 13

2.8. Genetik yakınlığın belirlenmesi 14

3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA **14**

3.1. Genotiplerde Moleküler İşaretçilerin İncelenmesi 14

3.1.1. iPBS işaretçiler 14

a. iBPS primerlerin bilgileri 14

b. iBPS işaretçilerin kümeleme analizi 17

c. iBPS işaretçilerin genetik yapı analizi 20

d. Genetik çeşitlilik 23

4. SONUÇ ve ÖNERİLER **26**

REFERANSLAR **27**

ÖZET

Bitki genetik kaynakları ülkelerin en değerli kaynaklarını meydana getirmektedir. Bu kaynakların arasındaki genetik varyasyonun belirlenmesi ve bu doğrultuda ıslah çalışmalarında kullanılması büyük önem arz etmektedir. Erzincan'da yaygın yetiştiriciliği yapılan barbunya ve taze fasulye genotiplerinin genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amacıyla toplanan 71 fasulye genotipi (41 barbunya ve 30 taze) ile dört ticari çeşit (Aleyna, Gina, Perolar ve Serra) incelenmiştir. Bu genotiplerin genetik çeşitliliğinin iPBS (Primer arası bağlanma yeri) işaretçileri kullanılmıştır. iPBS işaretçileri kullanılarak yapılan değerlendirmede polimorfizm oranı tüm primerlerde %100 olarak belirlenmiştir. Allel sayısının primerlerde 13 ile 69 arasında (ortalama 37.14) değiştiği belirlenmiştir. iPBS verilerine göre yapılan kümeleme analizine göre genotipler 4 gruba ayrılmıştır. Genetik yapı analizi sonuçlarına göre, fasulye genotiplerinin iki alt-popülasyona ayrıldığı belirlenmiştir. Fasulye toplanan bölgelerin genotiplerinin çoğunun aynı gruplarda yer aldığı gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fasulye, genetik varyasyon, moleküler, iPBS

ABSTRACT

Plant genetic resources are the most valuable resources of the countries. Determination of genetic variation among these sources and use in breeding studies in this direction are of great importance. In order to determine the genetic diversity of the pinto bean and fresh bean genotypes cultivated widely in Erzincan, 71 (41 pinto bean and 30 fresh bean) bean genotypes collected and four commercial varieties (Aleyna, Gina, Perolar and Serra) were investigated. iPBS (Retrotransposon-based inter-primer binding) markers was been used in examining the genetic diversity of these genotypes. The percentage of polymorphic for iPBS primers was 100% for all alleles. It is determined that the number of allele was changed between 13 and 69 (mean 37.14) in primers. According to the clustering analysis made according to iPBS data, genotypes were divided into 4 groups. According to the results of the genetic structure analysis, the bean genotypes was divided into two sub-populations. It has been observed that most of the genotypes of bean-gathering regions are located in same groups.

Keyword: Bean, genetic variation, molecular, iPBS

1. GİRİŞ

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L., 2n = 2x = 22) gerek dünyada gerekse ülkemizde son derece geniş alanlarda yetiştirilen, baklagiller familyasına ait kendine tozlanan önemli bir türdür (Dursun 1999; Maras *et al.* 2008; Yeken *et al.* 2018). Bu familya içerisinde yer alan *Phaseolus vulgaris* L. kültürü yapılan fasulye türlerinin büyük çoğunluğunu meydana getirmektedir (Ulukapı ve Onus 2012; Akbulut *et al.* 2013). Ülkemizde hem kuru hem de taze olarak tüketilen fasulye insan beslenmesi açısından önemli bir gıda maddesi olarak tüketilmektedir (Tan 2002). Bunun sebebi, yüksek miktarda protein (yaklaşık %22,6) ve karbonhidrat (%56) içermesidir (Sözen vd 2014a). Buna ek olarak özellikle mineral maddelerce (Potasyum, Fosfor, Kalsiyum, Magnezyum, Kükürt, Demir ve Mangan) zengin olan fasulye önemli bir demir kaynağıdır. 100 g fasulye ortalama 5-15 mg civarında Fe ihtiva etmektedir (Geil and Anderson 1994; Welch *et al.* 2000; Cejas *et al.* 2013). Ayrıca, fasulyede kükürt içeren aminoasitler diğer baklagillere göre daha fazla bulunmakta ve bu özelliği fasulyedeki proteininin biyolojik değerinin yüksek olmasına sebep olmaktadır (Broughton *et al.* 2003; Çavuşoğlu ve Akçin 2007). Diğer yandan, bünyesinde çeşitli vitaminler de (A, D, E ve K) ihtiva eden fasulye tüm bu özelliklerinden dolayı insan sağlığı açısından önemli bir yere sahiptir (Ülker ve Ceyhan 2008; Zargar *et al*. 2016).

2016 yılı verilerine göre, dünyada 29 392 817 ha alanda 26 833 394 ton kuru, 1 557 233 ha alanda ise 23 595 714 ton taze fasulye üretimi yapılmıştır (Anonymous 2016). Ülkemizde ise 91 110 ha alanda 215 000 ton kuru, 57 898 ha alanda ise 722 749 ton taze ve barbunya fasulye üretimi gerçekleştirilmiştir (Anonim 2017). Bu istatistiklere göre ülkemiz kuru fasulye üretiminde yirmi ikinci, taze fasulye üretiminde ise Çin, Endonezya ve Hindistan'ın ardından dördüncü sırada yer almaktadır (Anonymous 2016).

Ülkemizdeki tarım bölgelerinden biri olan Kuzeydoğu Anadolu tarım bölgesinde bahçe bitkileri ve özelliklede sebze tarımı genellikle bölgede bulunan mikroklima alanlarda gerçekleştirilmektedir. Bölgede son istatistiki verilere göre 8 288 ton kuru, 13 495 ton taze fasulye üretilmiştir. Bu değerlere göre, ülkemiz kuru fasulye üretiminin %3,85'i ve taze fasulye üretiminin ise %1,9'u bu bölgede gerçekleştirilmiştir. Kuzeydoğu Anadolu bölgesinde ise iklim bakımından mikroklima özelliğe sahip olan Erzincan ilinde bahçe bitkilerinin üretimi yoğun

olarak yapılmaktadır. Bölgede üretimi yapılan kuru fasulyenin %69,8'i, taze ve barbunya fasulyenin ise %20'si Erzincan ilinde gerçekleştirilmektedir (Anonim 2017).

Fasulyenin iki önemli gen merkezi vardır. Bu merkezlerden biri Orta Amerika diğeri ise Güney Amerika bölgesidir (Ulukapı ve Onus 2012). Fasulyenin ilk olarak M.Ö. 7000 yıllarında Meksika'da kültüre alındığı ve buradan da 16. yy'da İspanyollar tarafından Avrupa'ya getirildiği belirtilmektedir. Günümüzde ülkemizin hemen hemen her bölgesinde yetiştiriciliği yapılan fasulye zaman içerisinde gerek doğal seleksiyon gerekse yapay seleksiyonlarla ülkemizdeki bölgelere yayılmış olup bu yörelere özgü olan ve bu bölgelere has isimlerle anılan popülasyonlar meydana getirmiştir (Ergün 2005; Işık 2012).

Ülkemiz birçok bitki türünün gen merkezi olmasının yanı sıra, bitki genetik çeşitliliği bakımından dünyada önemli bir yere sahiptir. Bununla birlikte ülkemiz aynı zamanda, fazla sayıda bitki türünde olduğu gibi sebze türleri bakımından da oldukça zengin gen kaynaklarına sahiptir. Ülkemizde gerek ekonomik gerekse insan beslenmesi açısından önemli yere sahip olan fasulye yüksek bir genetik çeşitliliğe sahiptir. Bitki genetik kaynaklarının karakterizasyonunun amacı öncelikle tohum örnekleri veya popülasyonları arasındaki genetik varyasyonu ortaya koymak ve bu örnekler ile popülasyonlar arasındaki genetik varyasyon miktarı ve dağılımını tespit etmektir (Piergiovanni *et al.* 2006; Akbulut *et al.* 2013). Bitki genetik kaynaklarının morfololojik özelliklerinin tespit edilmesi ve bununla birlikte moleküler yöntemler ile taranarak genetik açıdan incelenmesi, genotipler arasındaki genetik ilişkilerin ve akrabalık düzeylerinin belirlenmesi ileride yürütülecek ıslah çalışmaları için bir temel oluşturmaktadır (Tan 2010; Sarıkamış 2014).

Fasulye genotiplerinin beslenme ve tarımsal özelliklerini geliştirmek için, geleneksel (morfolojik belirteçler) ve ileri yaklaşımların (biyoteknolojik veya moleküler yöntemler) entegre olduğu çok sayıda ıslah programı yürütülmektedir (Cejas *et al.* 2013).

Yerel fasulye genotipleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi ve tanımlanması için morfolojik özelliklerin değerlendirilmesi önemli geleneksel bir yöntemdir. Morfolojik özelliklerine göre bir bitki diğer bitki grubundan morfolojik işaretçiler ya da belirteçler (meyve eti, çiçek yapısı, yaprak şekli ve tohum gibi) ile ayrılabilmektedir (Ekincialp 2012). Ancak, morfolojik özellikler çevre şartlarının etkisiyle değişiklik gösterebilmekte ve bu yüzden kullanımı sınırlı kalmaktadır. Bu anlamda günümüzde morfolojik özelliklerin yanında moleküler yöntemler ve bunun tespiti için moleküler işaretçiler kullanılmaktadır. Çünkü moleküler analizler, çevresel etkilere bağlı

olmaksızın ek bilgiler sağlar ve fasulyede genetik çeşitlilik, popülasyon yapısı ve filogenetik ilişkilerin incelenmesi ve genetik haritalama için önemli bir yöntemdir (Beebe *et al.* 1995; Bitocchi *et al.* 2013; Blair *et al*. 2009; Metais *et al*. 2000; Shi *et al*. 2011; Scarano *et al*. 2014). Üstelik bitki genetik kaynaklarının DNA analizinin yapılması kültürü yapılan yerel çeşitlerdeki homonim ve sinonimlerinin olası durumları ve tohum koleksiyonlarındaki tekrarlı dizileri tespit etmek için önemlidir (Rao *et al*. 2009; Corrado *et al*. 2014).

Daha önce yapılan birçok araştırmada fasulye de popülasyon içi ve popülasyonlar arası genetik varyasyon tespit edilmiş ve bunun yanı sıra yabani ve kültür çeşitleri arasındaki varyasyon izoenzimler, tohum protein analizleri ve bunun yanında ISSR, RAPD, AFLP ve RFLP gibi moleküler işaretçiler kullanılarak belirlenmiştir (Sarıkamış vd 2009; Khaidizar *et al*. 2012). Kullanılacak markörü belirleyen ve etkileyen birçok etken mevcuttur. Popülasyonun genel yapısı ve tipi, polimorfizim seviyesi, tekniğin kolaylığı ve hızı, maliyet, gerekli DNA miktarı, genetik uzunluk tahminlerinin hassasiyeti ve istatiksel testlerin gücü, mevcut alt yapı ve imkanlar bu yöntemi etkileyen faktörlerden bazıları olarak sayılabilir (Garcia *et al*. 2004; Işık 2012).

Bu markör sistemleri analiz yöntemlerine göre PCR temelli (RAPD, AFLP, iPBS, Minisatellit, Mikrosattellit, ISSR, SNP, Organel mikrosatellitleri, CAPS, SRAP, EST, TRAP) ve PCR temelli olmayan veya DNA hibridizasyonuna dayalı (RFLP) teknikler olarak sınıflandırılmıştır. Özellikle

PCR'ın bulunmasından sonra moleküler işaretçiler kullanılarak genetik haritalama, genetik varyasyon çalışmaları ve özellikle sebze ıslahında markör destekli seleksiyon (MAS) çalışmaları daha kolay yapılabilmektedir (Filiz ve Koç 2011).

Yapılan bu çalışmada, iPBS markör yöntemi kullanılarak Erzincan yöresinden toplanan bazı yerel barbunya ve taze fasulye genotipleri arasındaki genetik farklılıklar ortaya konmuştur. Bu çalışmanın sonunda elde edilen verilerinin sonucuna göre, genotipler arasındaki varyasyon tespit edilerek bu doğrultuda yapılacak olan ıslah çalışmaları için bir alt yapı oluşturması, ülkemizdeki taze fasulyedeki tanımlama çalışmalarında bütünlük sağlaması ve aynı zamanda ıslahçıların iş yükü ve masraflarının azaltılması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

Yapılan bu çalışmada 2015 yılında Erzincan il, ilçe ve köylerinde yetiştirilen 71 yerel fasulye genotipi (41 barbunya ve 30 taze) toplanmıştır (Çizelge 1). Çalışmada kullanılan barbunya ve taze fasulye genotiplerinde moleküler tanımlamalar yapılmıştır.

Çizelge 1. Toplanan yerel barbunya ve taze fasulye genotipleri

Genotip	Tür	Genotip	Tür	Genotip	Tür
ERZ-BHÇ 01	Barbunya	ERZ-ÇTL 26	Taze	ERZ-ULU 51	Barbunya
ERZ-BHÇ 02	Barbunya	ERZ-ÇTL 27	Taze	ERZ-ULU 52	Barbunya
ERZ-BHÇ 03	Barbunya	ERZ-ÇTL 28	Taze	ERZ-ULU 53	Barbunya
ERZ-BHÇ 04	Taze	ERZ-ÇYR 29	Taze	ERZ-ULU 54	Barbunya
ERZ-BHÇ 05	Barbunya	ERZ-ÇYR 30	Barbunya	ERZ-ULU 55	Barbunya
ERZ-BHÇ 06	Barbunya	ERZ-ÇYR 31	Barbunya	ERZ-ÜZM 56	Barbunya
ERZ-BHÇ 07	Taze	ERZ-ÇYR 32	Barbunya	ERZ-ÜZM 57	Barbunya
ERZ-BHÇ 08	Taze	ERZ-ÇYR 33	Taze	ERZ-ÜZM 58	Taze
ERZ-BHÇ 09	Barbunya	ERZ-ÇYR 34	Barbunya	ERZ-ÜZM 59	Barbunya
ERZ-BKY 10	Barbunya	ERZ-ÇYR 35	Barbunya	ERZ-ÜZM 60	Barbunya
ERZ-BKY 11	Barbunya	ERZ-EBK 36	Taze	ERZ-ÜZM 61	Barbunya
ERZ-BKY 12	Barbunya	ERZ-EKM 37	Taze	ERZ-ÜZM 62	Barbunya
ERZ-BKY 13	Taze	ERZ-ILÇ 38	Taze	ERZ-ÜZM 63	Barbunya
ERZ-BYR 14	Taze	ERZ-KMH 39	Taze	ERZ-ÜZM 64	Barbunya
ERZ-CVZ 15	Barbunya	ERZ-KML 40	Taze	ERZ-ÜZM 65	Barbunya
ERZ-CVZ 16	Barbunya	ERZ-KML 41	Taze	ERZ-ÜZM 66	Barbunya
ERZ-CVZ 17	Taze	ERZ-RFH 42	Barbunya	ERZ-ÜZM 67	Barbunya
ERZ-CVZ 18	Taze	ERZ-TRC 43	Barbunya	ERZ-ÜZM 68	Barbunya
ERZ-CVZ 19	Taze	ERZ-ULU 44	Taze	ERZ-ÜZM 69	Barbunya
ERZ-CVZ 20	Taze	ERZ-ULU 45	Taze	ERZ-YBŞ 70	Taze
ERZ-CVZ 21	Barbunya	ERZ-ULU 46	Taze	ERZ-YNB-71	Taze
ERZ-CVZ 22	Taze	ERZ-ULU 47	Taze		
ERZ-CVZ 23	Barbunya	ERZ-ULU 48	Barbunya		
ERZ-ÇTL 24	Barbunya	ERZ-ULU 49	Taze		
ERZ-ÇTL 25	Barbunya	ERZ-ULU 50	Taze		

,

2.2. Yöntem

Çiftçilerden toplanan barbunya ve taze fasulye genotiplerinin isimlendirilmesinde tohum toplanan bölgeler esas alınarak kodlama yapılmıştır.

Çizelge 2. Barbunya ve taze fasulye genotiplerinin toplandığı bölgelerin coğrafik özellikleri

Sıra	Genotipin kodu	Toplandığı bölge	Boylam (° ')	Enlem (° ')	Rakım (m)
1	ERZ-BHÇ 01	Erzincan-Merkez-Bahçeliköy	39°20'	39°45'	1371
2	ERZ-BHÇ 02	Erzincan-Merkez-Bahçeliköy	39°20'	39°45'	1371
3	ERZ-BHÇ 03	Erzincan-Merkez-Bahçeliköy	39°20'	39°45'	1371
4	ERZ-BHÇ 04	Erzincan-Merkez-Bahçeliköy	39°20'	39°45'	1371
5	ERZ-BHÇ 05	Erzincan-Merkez-Bahçeliköy	39°20'	39°45'	1371
6	ERZ-BHÇ 06	Erzincan-Merkez-Bahçeliköy	39°21'	39°45'	1371
7	ERZ-BHÇ 07	Erzincan-Merkez-Bahçeliköy	39°21'	39°45'	1371
8	ERZ-BHÇ 08	Erzincan-Merkez-Bahçeliköy	39°21'	39°45'	1371
9	ERZ-BHÇ 09	Erzincan-Merkez-Bahçeliköy	39°21'	39°45'	1371
10	ERZ-BKY 10	Erzincan-Merkez-Ballı Köyü	39°19'	39°45'	1503
11	ERZ-BKY 11	Erzincan-Merkez-Ballı Köyü	39°19'	39°45'	1503
12	ERZ-BKY 12	Erzincan-Merkez-Ballı Köyü	39°19'	39°45'	1503
13	ERZ-BKY 13	Erzincan-Merkez-Ballı Köyü	39°19'	39°45'	1503
14	ERZ-BYR 14	Erzincan- Üzümlü- Bayırbağ	39°43	39°41'	1381
15	ERZ-CVZ 15	Erzincan-Merkez-Cevizli Köyü	39°21'	39°43'	1400
16	ERZ-CVZ 16	Erzincan-Merkez-Cevizli Köyü	39°21'	39°43'	1400
17	ERZ-CVZ 17	Erzincan-Merkez-Cevizli Köyü	39°21'	39°43'	1400
18	ERZ-CVZ 18	Erzincan-Merkez-Cevizli Köyü	39°21'	39°43'	1400
19	ERZ-CVZ 19	Erzincan-Merkez-Cevizli Köyü	39°21'	39°43'	1400
20	ERZ-CVZ 20	Erzincan-Merkez-Cevizli Köyü	39°21'	39°43'	1400
21	ERZ-CVZ 21	Erzincan-Merkez-Cevizli Köyü	39°21'	39°43'	1400
22	ERZ-CVZ 22	Erzincan-Merkez-Cevizli Köyü	39°21'	39°43'	1400
23	ERZ-CVZ 23	Erzincan-Merkez-Cevizli Köyü	39°21'	39°43'	1400
24	ERZ-ÇTL 24	Erzincan-Merkez-Çatalarmut Köyü	39°18'	39°48'	1440
25	ERZ-ÇTL 25	Erzincan-Merkez-Çatalarmut Köyü	39°18'	39°48'	1440
26	ERZ-ÇTL 26	Erzincan-Merkez-Çatalarmut Köyü	39°18'	39°48'	1440
27	ERZ-ÇTL 27	Erzincan-Merkez-Çatalarmut Köyü	39°18'	39°48'	1440
28	ERZ-ÇTL 28	Erzincan-Merkez-Çatalarmut Köyü	39°18'	39°48'	1440
29	ERZ-ÇYR 29	Erzincan- Çayırlı-Balıklı Köyü	40°00'	39°50'	1547
30	ERZ-ÇYR 30	Erzincan- Çayırlı-Balıklı Köyü	40°00'	39°50'	1547
31	ERZ-ÇYR 31	Erzincan- Çayırlı-Balıklı Köyü	40°00'	39°50'	1547
32	ERZ-ÇYR 32	Erzincan- Çayırlı	40°02'	39°48'	1527
33	ERZ-ÇYR 33	Erzincan- Çayırlı	40°02'	39°48'	1527
34	ERZ-ÇYR 34	Erzincan- Çayırlı	40°02'	39°48'	1527
35	ERZ-ÇYR 35	Erzincan- Çayırlı	40°02'	39°48'	1527
36	ERZ-EBK 36	Erzincan- Merkez	39°28'	39°43'	1178
37	ERZ-EKM 37	Erzincan- Merkez- Ekmekli Köyü	39°20'	39°45'	1339
38	ERZ-ILÇ 38	Erzincan- İliç	38°33'	39°27'	1091
39	ERZ-KMH 39	Erzincan-Kemah	39°02'	39°36'	1074
40	ERZ-KML 40	Erzincan- Kemaliye	38°29'	39°15'	973
41	ERZ-KML 41	Erzincan- Kemaliye	38°29'	39°15'	973
42	ERZ-RFH 42	Erzincan- Refahiye	38°46'	39°54'	1593
43	ERZ-TRC 43	Erzincan- Tercan	40°23'	39°46'	1593

Çizelge 2. devam

44	ERZ-ULU 44	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
45	ERZ-ULU 45	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
46	ERZ-ULU 46	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
47	ERZ-ULU 47	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
48	ERZ-ULU 48	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
49	ERZ-ULU 49	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
50	ERZ-ULU 50	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
51	ERZ-ULU 51	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
52	ERZ-ULU 52	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
53	ERZ-ULU 53	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
54	ERZ-ULU 54	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
55	ERZ-ULU 55	Erzincan-Üzümlü-Uluköy	39°44'	39°37'	1164
56	ERZ-ÜZM 56	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
57	ERZ-ÜZM 57	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
58	ERZ-ÜZM 58	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
59	ERZ-ÜZM 59	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
60	ERZ-ÜZM 60	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
61	ERZ-ÜZM 61	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
62	ERZ-ÜZM 62	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
63	ERZ-ÜZM 63	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
64	ERZ-ÜZM 64	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
65	ERZ-ÜZM 65	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
66	ERZ-ÜZM 66	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
67	ERZ-ÜZM 67	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
68	ERZ-ÜZM 68	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
69	ERZ-ÜZM 69	Erzincan-Üzümlü	39°41'	39°41'	1290
70	ERZ-YBŞ 70	Erzincan-Merkez- Yaylabaşı Beldesi	39°30'	39°39'	1244
71	ERZ-YNB 71	Erzincan-Merkez- Yanlızbağ Beldesi	39°48'	39°24'	1344

2.3. Moleküler karakterizasyon

a. Bitki Materyalinin Hazırlığı

Toplanan fasulye genotiplerinin arasındaki genetik farklılıkların belirlenmesi amacıyla DNA izolasyonunda kullanılacak genotiplerin tohumları 20.04.2017 tarihinde Erzincan Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü'ne ait serada viyollere ekilmiştir. Ekim yapıldıktan 18 gün sonra 08.05.2017 tarihinde her genotipten steril bistüri yardımıyla bitkinin sağlıklı ve genç yapraklarından örnekler alınmıştır. Daha sonra bitkilerden alınan yaprak örnekleri sıvı azotta ani şoklama ile dondurularak -80°C derin dondurucuda DNA izolasyonu yapılıncaya kadar muhafaza edilmiştir.



Şekil 1. Fasulye genotiplerine ait tohumların viyollere ekilmesi (Orijinal)

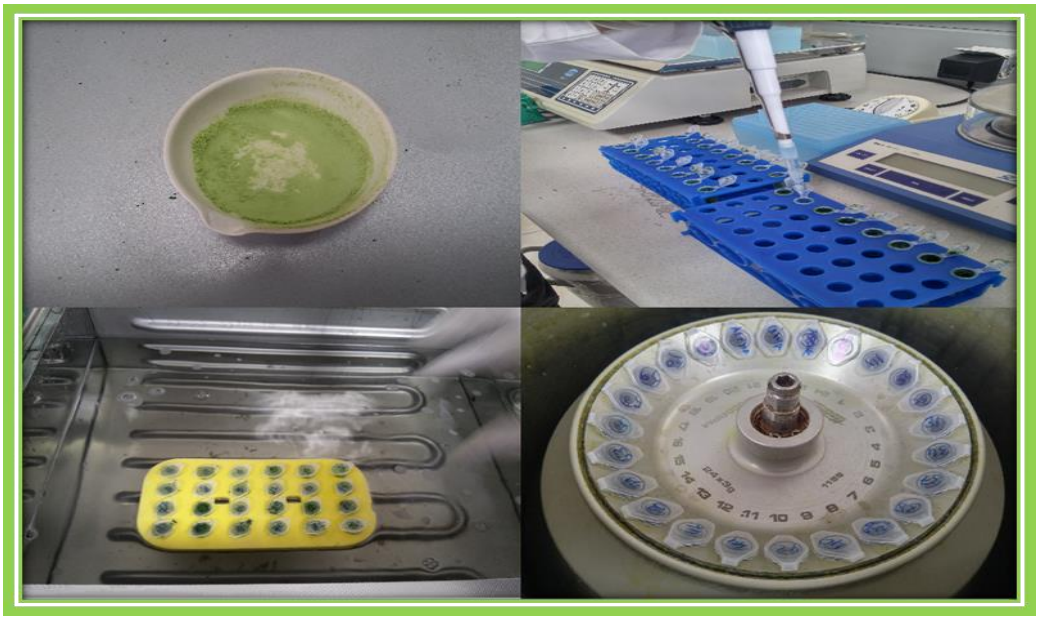


Şekil 2. DNA izolasyonu için uygun büyüklüğe gelmiş fasulye genotipleri (Orijinal)

b. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu; Saghai-Maroof *et al.*'un (1984) CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide) protokolü modifiye edilerek uygulanmıştır. Uygulanan DNA izolasyon protokolü aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

1. 100 mg yaprak örneği eppendorf tüp içerisinde sıvı azot kullanılarak doku parçalayıcı cihazında ezilmiştir.
2. 900 µl CTAB buffer ilave edilip, karışması için 1-2 dk vortekslenmiştir.
3. 4 µl RNase solüsyonu ve 4 µl ProteinazK solüsyonu ilave edilerek yavaşça karıştırılarak 37°C'de 15 dk inkubasyona bırakılmıştır.
4. Daha sonra 65°C'de 1 saat su banyosunda bekletilirken eppendorf tüpler her 15 dakikada bir karıştırılmıştır.
5. Örnekler, inkübasyonun ardından oda sıcaklığında 5 dk bekletilmiştir. Daha sonra üzerlerine 900 µl kloroform:izoamilalkol (24:1) (v/v) karışımından eklenmiş ve DNA'nın zarar görmemesi için çok yavaş bir şekilde 10 dk karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir.
6. 14.000 rpm'de 15 dk santrifuj edilmiştir.
7. Süpernatant kısım temiz bir ependorfa alınmıştır.



Şekil 3. DNA izolasyon çalışmaları (Orijinal)

c. DNA saflık analizi

c.1. Agaroz jel elektroforezi

%1'lik agaroz jeli hazırlamak için gerekli agaroz, 1X Tris-Asetikasit-EDTA (TAE) tamponu ve jelin boyanması için 100 ml agaroz solüsyonu başına 10µl olacak şekilde SafeView™ Classic (G108, ABM) eklenmiştir. 100°C'de kaynatılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra elektroforez kasalarına dökülerek taraklar takılıp jel polimerize olduktan sonra yüklemeye hazır hale getirilmiştir. İzolasyonu yapılmış örneklerden 2 µl alınarak ve üzerlerine 8 µl ultra saf su (UP) ve 2µl brom fenol blue ilave edilmiştir. Elde edilen bu karışım mikropipet yardımıyla kuyucuklara yüklenmiştir. İlk kuyucuğa 2 µl 1kb (DNA ladder, Fermentas GeneRuler TM) koyulmuştur. Elektroforez işlemi 60 Volt gerilim ve 400 mA akımla iki saat süre ile yürütülmüştür. Elektroforez işleminden sonra yürütülen örnekler G-box (SYNGENE, USA) görüntüleme sistemi ile Ultraviyole (UV) ışık altında görüntülenerek bilgisayara aktarılmıştır.

c. Spektrofotometrik DNA miktarının ölçümü

İzolasyonu yapılan ve agaroz jel elektroforezinde saflıkları belirlenen DNA'ların miktarları, Qubit ® 2.0 (Fluorometer, INVITROGEN) cihazıyla çift sarmal DNA'lar ölçümlenmiştir. Saflık görüntüsüne ve kalite analizine göre izole edilen stok DNA'lar iPBS, PCR reaksiyonlarında kullanılmak amacıyla stok 25 ng/ µl konsantrasyonuna seyreltilmiştir.

2.4. iPBS markör yöntemi

a. Gradient PCR

Primerlerin bağlanma sıcaklığının belirlenmesi amacıyla Gradient PCR iki fasulye genotipinde uygulanmıştır. Primerin bağlanma sıcaklığı arası 45°C - 65°C olacak şekilde PCR uygulanmıştır**.** Literatürden elde edilen 40 Primer kullanılmıştır (Kalendar et al., 2010). Gradient PCR Thermal Cycler cihazında Çizelge 3'de belirtildiği şekilde reaksiyona tabi tutulmuştur. Gradient PCR analizi için kullanılan primerlerin isimleri ve sekans bilgileri Çizelge 4'de yer verilmiştir.

Çizelge 3. Gradient PCR işlemi için reaksiyon basamakları, süresi ve sıcaklıkları

Reaksiyon basamağı	Reaksiyon sıcaklığı	Reaksiyon süresi
1	94°C	30 sn
2	94°C	25 sn
3	45°C - 65°C	45 sn
4	72	1 dk
5	2'den 4'e kadar	35 kez
6	72	5 dk
7	4°C	∞

Çizelge 4. Gradient PCR analizlerinde kullanılan primer sekansları (Kalendar et al., 2010)

Primer No	PrimerAdı	Sekans 5'-3'
1	iPBS-2074	GCTCTGATACCA
2	iPBS -2075	CTCATGATGCCA
3	iPBS -2076	GCTCCGATGCCA
4	iPBS -2077	CTCACGATGCCA
5	iPBS -2078	GCGGAGTCGCCA
6	iPBS -2079	AGGTGGGCGCCA
7	iPBS -2080	CAGACGGCGCCA
8	iPBS -2081	GCAACGGCGCCA
9	iPBS -2083	CTTCTAGCGCCA
10	iPBS -2085	ATGCCGATACCA
11	iPBS -2087	GCAATGGAACCA
12	iPBS -2095	GCTCGGATACCA
13	iPBS -2217	ACTTGGATGTCGATACCA
14	iPBS -2218	CTCCAGCTCCGATTACCA
15	iPBS -2219	GAACTTATGCCGATACCA
16	iPBS -2220	ACCTGGCTCATGATGCCA

Çizelge 4. devam

17	iPBS -2221	ACCTAGCTCACGATGCCA
18	iPBS -2222	ACTTGGATGCCGATACCA
19	iPBS -2224	ATCCTGGCAATGGAACCA
20	iPBS -2225	AGCATAGCTTTGATACCA
21	iPBS -2226	CGGTGACCTTTGATACCA
22	iPBS -2228	CATTGGCTCTTGATACCA
23	iPBS -2229	CGACCTGTTCTGATACCA
24	iPBS -2230	TCTAGGCGTCTGATACCA
25	iPBS -2231	ACTTGGATGCTGATACCA
26	iPBS -2232	AGAGAGGCTCGGATACCA
27	iPBS -2237	CCCCTACCTGGCGTGCCA
28	iPBS -2238	ACCTAGCTCATGATGCCA
29	iPBS -2239	ACCTAGGCTCGGATGCCA
30	iPBS -2240	AACCTGGCTCAGATGCCA
31	iPBS -2241	ACCTAGCTCATCATGCCA
32	iPBS -2242	GCCCCATGGTGGGCGCCA
33	iPBS -2243	AGTCAGGCTCTGTTACCA
34	iPBS -2244	GGAAGGCTCTGATTACCA
35	iPBS -2245	GAGGTGGCTCTTATACCA
36	iPBS -2246	ACTAGGCTCTGTATACCA
37	iPBS -2249	AACCGACCTCTGATACCA
38	iPBS -2251	GAACAGGCGATGATACCA
39	iPBS -2252	TCATGGCTCATGATACCA
40	iPBS -2253	TCGAGGCTCTAGATACCA

b. iPBS markör analizi

Bu çalışmada, Kalendar et al., (2010) tarafından tanımlanmış, iPBS primerlerin bağlanma sıcaklıkları Gradient PCR'ler belirlendikten sonra kullanılmıştır. iPBS PCR işleminde her bir örnek için kullanılacak PCR kokteyli, Çizelge 5'de verilmiştir, ayrıca PCR cihazının reaksiyon basamakları, süresi ve sıcaklıkları Çizelge 6'da belirtilmiştir.

Çizelge 5. iPBS PCR işleminde bir örnek için kullanılan PCR kokteyli

Bileşen	**Miktar (µl)**
10X PCR Buffer	1.5
MgCl2 (25mM)	2
dNTP (1mM)	1.2
Primer (10 pmol)	1
Taq DNA polimeraz (ABM)*	0.2
Ultra saf su	3.1
DNA (5 ng/µl)	6
Toplam Hacim	**15**

*Applied Biological Materials (ABM, Canada)

Çizelge 6. iPBS, PCR işlemi için reaksiyon basamakları, süresi ve sıcaklıkları

Reaksiyon basamağı	Reaksiyon sıcaklığı	Reaksiyon süresi
1	94°C	30 sn
2	94°C	25 sn
3	Primer bağlanma sıcaklığı	45 sn
4	72	1 dk
5	2'den 4'e kadar	35 kez
6	72	5 dk
7	4°C	∞

2.5. PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezi

PTC–225 Peltier Thermal Cycler (MJ Research, Nevada, USA) cihazından çıkan (PCR) DNA örnekleri yatay jel elektroforez cihazında yürütülmüştür. Yüklenmeden önce 2 µl brom fenol blue boyası ile boyanmıştır. %2'lik Tris-Borik asit-EDTA (TBE) agaroz jeli hazırlanırken jelin boyanması için 100 ml agaroz solüsyonu başına 10µl olacak şekilde SafeView™ Classic (G108, ABM) eklendikten sonra elektroforez kasasına dökülerek örnek sayısına uygun taraklar takılmıştır. Jel donduktan sonra 1X TBE tamponu bulunan kasa içerisine yerleştirilmiştir. PCR tüplerindeki amplifikasyon ürünü ve boyanın karışması sağlandıktan sonra örnekler kuyulara yüklenmiştir. İlk kuyucuğa 2 µl 100 bp plus (DNA ladder, Thermo GeneRuler™) koyulmuştur. Elektroforez işlemi 100 voltta üç saat süre ile gerçekleştirilmiştir.

2.6. Markör analiz sonuçlarının skorlanması

Agaroz jel elektroforez işlemi sonucunda elde edilen görüntüler, çalışmada kullanılan iPBS markör primerlerin göstermiş olduğu polimorfik bantlar açısından TotalLab TL120 programında değerlendirilerek, her bir örnek için bant bulunduranlar (1) ve bant bulundurmayanlar (0) olarak skorlanarak, elde edilen veriler Microsoft Office Excel dosyasında kayıt edilmiştir.

2.7. PIC değerlerinin hesaplanması

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC), bir populasyondaki polimorfizmi belirlemek amacıyla kullanılan markörün değerini ifade etmektedir. PIC değeri polimorfik allellerin sayısına ve onların frekanslarının dağılımına bağlıdır ve her bir markörün polimorfizm oranı ile ilgili ayırt etme gücünü ifade etmektedir. Değerler 0-1 arasındadır (Botstein et al., 1980; Shete et al., 2000). PIC değeri her bir primer için formülde belirtildiği şekilde hesaplanmıştır. Sayı 1'e yaklaştıkça ayırt etme gücü artar (Anderson 1993).

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^{n} Pi^2$$

n: her bir markör için toplam allel sayısı
pi: allel frekansı

2.8. Genetik yakınlığın belirlenmesi

Genotipler arasındaki genetik benzerlik değerleri NTSYS (Numerical Taxonomy Multivariate Analysis System, NTSYS-pc version 2.02, Exeter Software, Setauket, N.Y., USA) paket programı kullanılarak analiz edilmiştir. (Rohlf, 2000). iPBS markör skorlanması sonucu elde edilen 0 ve 1 değerlerini text dosyasına dönüştürülmüş ve Matriks oluşturularak genetik benzerlik katsayısı ile bireyler arasındaki benzerlik indeksleri Jaccard (1908) yöntemine göre hesaplanmıştır. Ayrıca "Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average" (UPGMA) kümeleme analiziyle Jaccard katsayısı kullanılarak bir benzerlik matriksi oluşturulmuş ve dendrogram yoluyla gruplar belirlenmiştir. Genotipleri kıyasladığımızda bu değerin 0'a yaklaşması benzerliklerinin az olduğunu; 1'e yaklaşması ise genetik olarak yakın olduklarını göstermektedir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

3.1. Genotiplerde Moleküler İşaretçilerin İncelenmesi

3.1.1. iPBS işaretçiler

iPBS yöntemi, genetik ilişkileri tanımlamak için çeşitli türlere başarı ile uygulanmıştır (Smykal *et al.* 2011; Baranek *et al*. 2012; Gailite and Rungis 2012; Andeden *et al*. 2013; Mehmood *et al*. 2013; Chen and Liu 2014; Guo *et al*. 2014). Bu işaretleyicilerin, genetik çeşitlilik analizlerini etkili bir şekilde arttırdıkları tespit edilmiştir (Baranek *et al*. 2012; Andeden *et al*. 2013). Çünkü PCR için kullanılan bu primerler, çeşitli LTR dizileri içeren genomlara bağlanabilmektedirler (Kalendar *et al*. 2010; Nemli *et al*. 2015).

a. iBPS primerlerin bilgileri

Bu çalışmada kullanılan 40 iBPS primerinden toplam 27'si yeterli derecede net ve skorlanabilen bant meydana getirmiştir (Çizelge 4.11). 27 primerden toplam 1003 görülebilen ve puanlanabilen bant oluşmuştur. Fasulyede yapılan benzer çalışmada Nemli *et al*. (2015), 83 iPBS primerini taramış ve bunların içinden 47 iPBS primerinin (%56) görülebilen ve puanlanabilen bant oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Yine iPBS primerleri kullanılarak yapılan bir çok çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir (Kalendar *et al*., 2010; Smykal *et al*. 2011; Baranek *et al*. 2012; Andeden *et al*. 2013; Mehmood *et al*. 2013; Chen and Liu 2014). Yapılan başka bir çalışmada ise polimorfik iPBS-retrotranspozon bantlarının ortalama sayısının 3.8 ve primer başına 25 bant arasında değiştiği bildirilmiştir (Gedik *et al.* 2017). Buna ek olarak, iPBS-retrotranspozon primerleri, inter-retrotransposon-amplified polymorphism (IRAP) (Boronnikova and Kalendar 2010), random amplified polymorphic DNA (RAPD), ve amplified fragment length polymorphism (AFLP) gibi diğer yöntemlerden daha fazla veri sağlamıştır. Çalışmamızda polimorfizm oranı tüm primerlerde %100 olarak

belirlenmiştir. Allel sayısının primerlerde 13 (2077) ve 69 (2384) arasında (ortalama 37.14) değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 7). Polimorfizm oranının yüksek olmasının kullanılan genotiplerin fazla olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

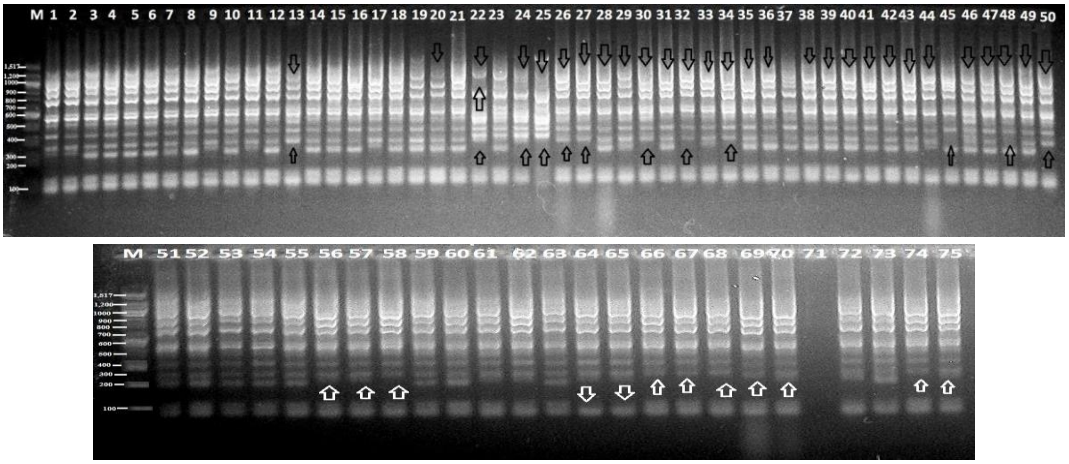
iPBS belirteçleri ile yapılan analiz sonucunda elde edilen polimorfik bilgi içeriğinin (PIC) ortalama değeri 0.33 olurken, PIC değeri 0.19 (2077) ile 0.42 (2381, 2385, 2389) arasında değişiklik göstermiştir. Polimorfik bilgi içeriği (PIC), polimorfik lokusların verimliliğinin faydasını puanlayan ve belirteçler arasında bir primerin ayrım gücünü belirleyen önemli bir bilgidir (Guo and Elston 1999). Nemli *et al*. (2015), fasulyede yaptıkları benzer bir çalışmada en düşük PIC değerini 0.03 ile 2375 primerinden, en yüksek değeri ise 0.94 ile 2394 primerinden elde etmişlerdir. Ortalama PIC değerini ise 0.73 bulmuşlardır. Bu sonuçlar farklı türlerde (Kinoa, Guava, Çay) daha önce yapılan araştırmalarla da uyumludur. iBPS belirteçleri kullanarak; Mehmood *et al*. (2016) guavada ortalama PIC değerini 0.28, Phong *et al*. (2016) ise çayda ortalama değeri 0.30 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmalarda elde edilen ortalama değerlerle bizim çalışmamızda elde ettiğimiz ortalama PIC değeri benzerlik göstermektedir.

Çizelge 7. iBPS işaretleyicilerine ait Allel sayısı, polimorfik allel sayısı, polimorfizm yüzdesi ve PIC değerleri

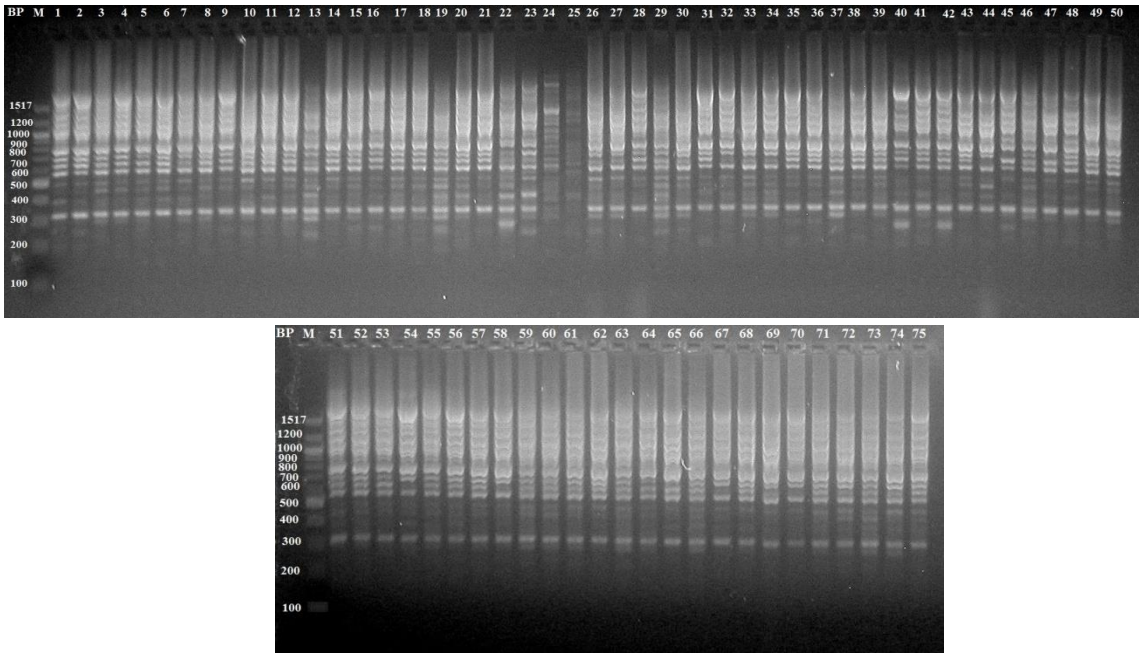
Numara	Primer adı	Allel sayısı	Polimorfik allel sayısı	Polimorfizm yüzdesi	PIC
1	2074	31	31	%100	0.27
2	2077	13	13	%100	0.19
3	2078	44	44	%100	0.26
4	2079	33	33	%100	0.26
5	2080	25	25	%100	0.37
6	2095	33	33	%100	0.27
7	2221	42	42	%100	0.28
8	2231	36	36	%100	0.24
9	2270	45	45	%100	0.32
10	2271	31	31	%100	0.32
11	2274	31	31	%100	0.37

Çizelge 7. devam

Numara	Primer adı	Allel sayısı	Polimorfik allel sayısı	Polimorfizm yüzdesi	PIC
12	2276	46	46	%100	0.29
13	2278	51	51	%100	0.34
14	2298	42	42	%100	0.33
15	2377	32	32	%100	0.40
16	2378	44	44	%100	0.33
17	2380	32	32	%100	0.34
18	2381	21	21	%100	0.42
19	2383	31	31	%100	0.34
20	2384	69	69	%100	0.23
21	2385	59	59	%100	0.42
22	2386	41	41	%100	0.41
23	2389	39	39	%100	0.42
24	2390	43	43	%100	0.31
25	2391	22	22	%100	0.40
26	2392	36	36	%100	0.35
27	2402	31	31	%100	0.27
Toplam		1003	1003		
Ortalama		37.14	37.14	%100	0.33



Şekil 3. iPBS-2278 primeri ile oluşan bantların agaroz jel elektroforez görüntüsü



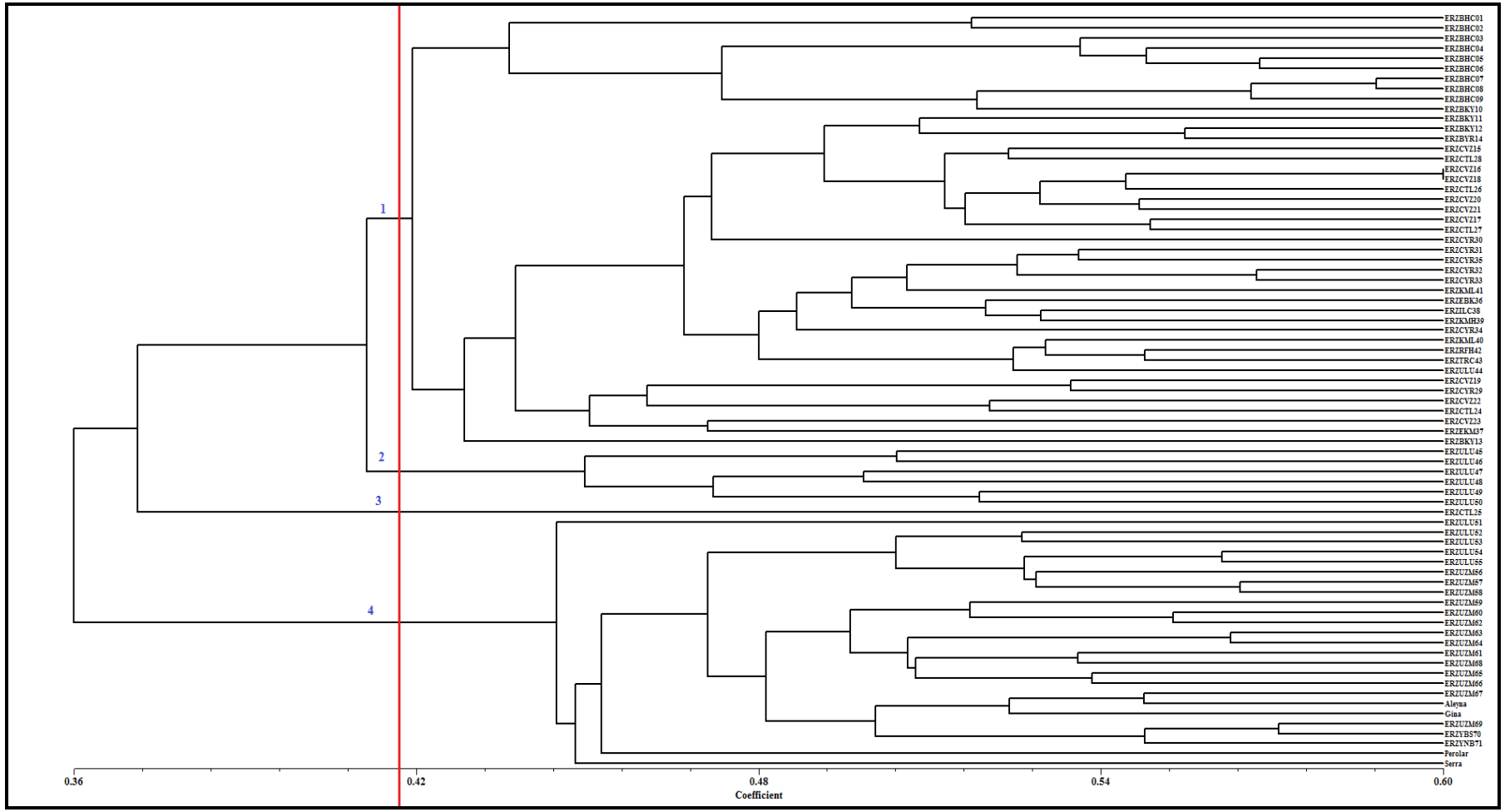
Şekil 4. iPBS-2402 primeri ile oluşan bantların agaroz jel elektroforez görüntüsü

b. iBPS işaretçilerin kümeleme analizi

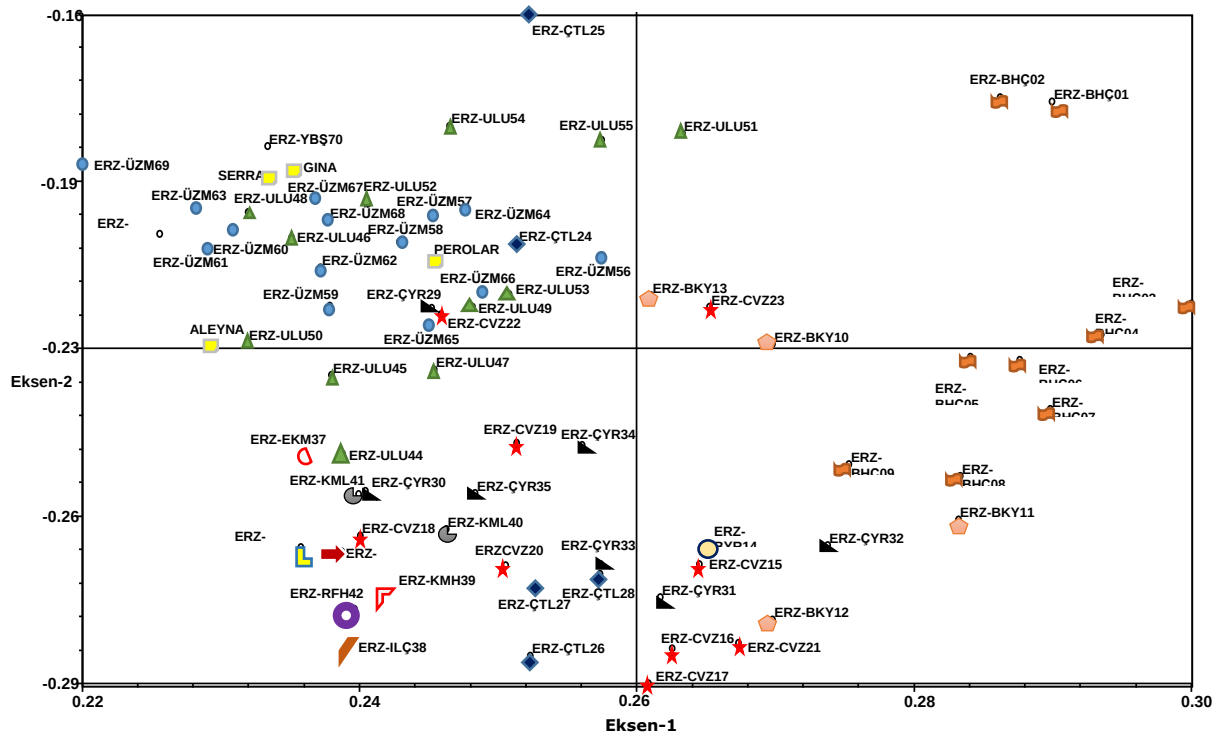
iPBS verilerine göre yapılan kümeleme analizi sonucunda genotipler 4 grupta yer almıştır (Şekil 4.34). Birinci kümede en fazla Cevizli (%100) ve Bahçeliköy (%100) köyünden toplanan genotipler yer almıştır. Bunun yanında Çatalarmut köyü (%80) ile Çayırlı ilçesinden (%100) toplanan genotipler ve az sayıda da diğer genotipler yer almıştır. Uluköyden toplanan genotiplerin çoğunluğu (%50) ikinci grupta yer almıştır. İkinci grupta Uluköyden toplanan genotipler dışında başka genotip yer almamıştır. Üçüncü grupta ise tek bir genotip (ERZ-ÇTL25) olduğu tespit edilmiştir. Dördüncü grupta, Üzümlü ilçesinden toplanan genotiplerin tümü ve bunun yanında Uluköy genotiplerinin (%41,6) yine önemli bir kısmının bu grupta olduğu görülmüştür. Buna ek olarak Yaylabaşı ve Yalnızbağ beldelerinden toplanan genotiplerde bu grupta yer almıştır. Ayrıca, çalışmada yer alan tüm ticari çeşitlerde yine dördüncü grupta yer almıştır. Aleyna ile Gina ve Serra ile Perolar çeşitleri genetik bakımdan birbirleriyle benzerlik göstermektedirler.

Coğrafi dağılım alanı, türlerin genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde önemli bir faktördür (Zecca *et al*. 2012). Bu dağılımı tespit etmek için kullanılan yöntemlerden biriside popülasyonların arasındaki nispi genetik mesafenin mekansal gösterimini sağlayan Temel koordinant analizi (PCoA)'dir (Klaedtke *et al*. 2017). Çalışmamızda PCoA temel koordinat analizi, popülasyonların içindeki ve arasındaki ekotiplerin varyasyonunu daha ayrıntılı olarak görselleştirmek için yapılmıştır. Bu yöntem ile genotipler arasındaki yakınlık veya uzaklık matriksine dayalı olarak ortaya çıkan iki boyutlu diyagram sayesinde meydana gelen gruplar arasındaki mesafeler, gerçek uzaklıkları ortaya koymaktadır (Mohammadi and Prasanna 2003). Bu doğrultuda

yapılan değerlendirmede, Ticari çeşitler (Aleyna, Gina, Serra ve Perolar), Cevizli (CVZ-22), Çatalarmut (ÇTL-24,25), Çayırlı (ÇYR-29) Uluköy (ULU-46, 48, 49, 50, 52, 53, 54, 55), Üzümlü (ÜZM-56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69), Yaylabaşı (YBŞ-70) ve Yalnızbağ (YNB-71) genotipleri Eksen-1'in sol üst kısmında yer almıştır. Eksen-1'in sol alt tarafında ise Cevizli (CVZ-18, 19, 20), Çatalarmut (ÇTL-26, 27, 28), Çayırlı (ÇYR-30,33,34,35), Erzincan-Merkez (EBK-36), Ekmekli (EKM-37), Ilıç (ILÇ-38), Kemah (KMH-39), Kemaliye (KML-40, 41), Refahiye (RFH-42), Tercan (TRC-43), Uluköy (ULU-44, 45, 47)'den toplanan genotipler olduğu gözlenmiştir. Bahçeliköy (BHÇ-5, 6, 7, 8, 9), Ballıköy (BKY-11, 12), Bayırbağ (BYR-14), Cevizli (CVZ-15, 16, 17, 21), Çayırlı (ÇYR-31, 32)'dan toplanan genotiplerin Eksen-1'in sağ alt tarafında yer aldığı, sağ üst tarafda ise Bahçeliköy (BHÇ-1, 2, 3, 4), Ballıköy (BKY-10, 13), Cevizli (CVZ-23), Uluköy (ULU-51) 'den toplanan genotiplerin yer aldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.34).



Şekil 5. iPBS belirteçleri kullanarak UPGMA metoduyla oluşturulan dendogram

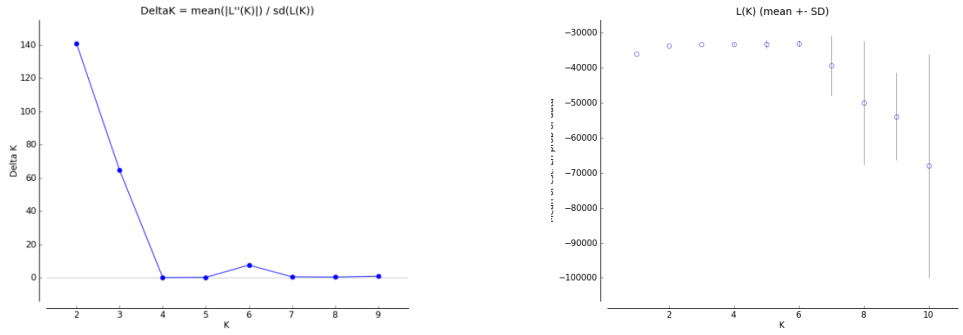


Şekil 6. iPBS belirteci kullanarak yapılan temel koordinat analizi (PCoA) ve iki boyutlu diyagram üzerinde ayrımı

c. iBPS işaretçilerin genetik yapı analizi

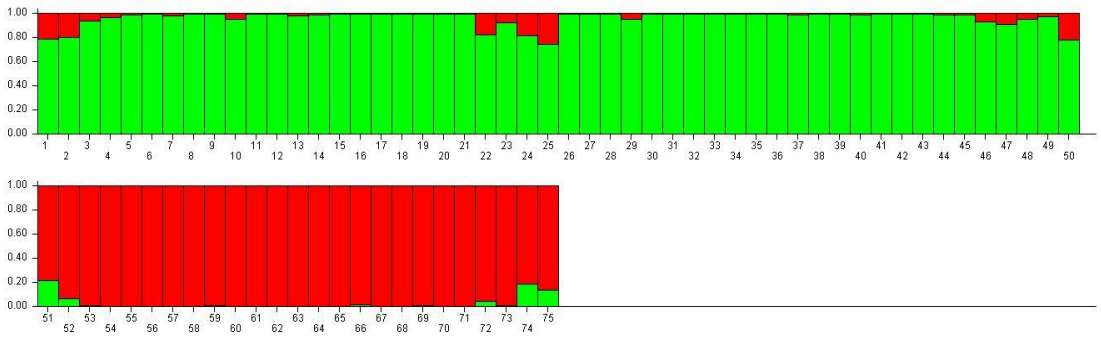
Genetik yapı analizi sonuçları Şekil 4.37'de verilmiştir. ΔK, K'nın en uygun değerlerini belirlemek için kullanılır. Çalışmamızda en yüksek değer K = 2 olarak elde edilmiştir (Şekil 4.36). Çalışmamızda elde edilen verilere göre K değerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Bunun ise genotiplerin toplandığı bölgeler arasındaki gen akışının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan diğer çalışmalarda fasulye genotiplerinin popülasyon yapısı için benzer bulgular bildirilmiştir (Nemli *et al.* 2014). Çalışmamızda elde edilen verilere göre birinci alt popülasyonda toplam 25 genotip, ikinci alt popülasyonda ise toplam 50 genotip yer almıştır (Çizelge 8). Buna göre, kümeleme analizi sonuçlarının genetik yapı analizi sonuçları ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. 1, 2. ve 3. gruplar (toplam 50 genotip) ikinci alt popülasyonda, 4. grup ise (toplam 25

genotip) birinci alt popülasyonda yer almıştır. F_{ST} (F-istatistik) değeri birinci ve ikinci alt-popülasyonlarda sırası ile 0.2535 ve 0.0718 olarak belirlenmiştir (Çizelge 9). Nemli *et al*. (2015), iBPS işaretçilerini kullanarak 67 fasulye genotipinde yaptığı çalışmada 4 alt popülasyon (K=4) bulmuşlardır. 149 kuru fasulye genotipinde SRR işaretçileri kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise genetik yapı ve çeşitlilik analizleri sonucunda araştırmacılar 3 alt popülasyon (K=3) bulmuşlardır (Zargar *et al.* 2016).



a **b**

Şekil 7. Fasulye popülasyonları için Ln P (D) ve ΔK yapısının karışım modelinden çizgi grafikler a; K'nın her bir değerinde yapı tarafından üretilen Ln P (D) istatistiğinin ortalama değeri, b; DK



Şekil 8. iBPS verilerine göre genotiplerin genetik yapısı (k=2 miktarında, şekilde verilen fasulye genotipleri Çizelge 8'de verilmiştir)

Çizelge 8. Fasulye genotiplerinin iki alt-popülasyonda üyelik katsayısı

		Alt popülasyon				Alt popülasyon	
Sıra	Genotip	I	II	Sıra	Genotip	I	II
1	ERZ-BHÇ 01	0.209	0.791	41	ERZ-KML 41	0.004	0.996
2	ERZ-BHÇ 02	0.197	0.803	42	ERZ-RFH 42	0.002	0.998
3	ERZ-BHÇ 03	0.058	0.942	43	ERZ-TRC 43	0.002	0.998
4	ERZ-BHÇ 04	0.034	0.966	44	ERZ-ULU 44	0.008	0.992
5	ERZ-BHÇ 05	0.008	0.992	45	ERZ-ULU 45	0.008	0.992
6	ERZ-BHÇ 06	0.004	0.996	46	ERZ-ULU 46	0.065	0.935
7	ERZ-BHÇ 07	0.016	0.984	47	ERZ-ULU 47	0.086	0.914
8	ERZ-BHÇ 08	0.004	0.996	48	ERZ-ULU 48	0.045	0.955
9	ERZ-BHÇ 09	0.003	0.997	49	ERZ-ULU 49	0.027	0.973
10	ERZ-BKY 10	0.05	0.95	50	ERZ-ULU 50	0.218	0.782
11	ERZ-BKY 11	0.005	0.995	51	ERZ-ULU 51	0.785	0.215
12	ERZ-BKY 12	0.004	0.996	52	ERZ-ULU 52	0.93	0.07
13	ERZ-BKY 13	0.015	0.985	53	ERZ-ULU 53	0.987	0.013
14	ERZ-BYR 14	0.011	0.989	54	ERZ-ULU 54	0.993	0.007
15	ERZ-CVZ 15	0.003	0.997	55	ERZ-ULU 55	0.998	0.002
16	ERZ-CVZ 16	0.002	0.998	56	ERZ-ÜZM 56	0.993	0.007
17	ERZ-CVZ 17	0.007	0.993	57	ERZ-ÜZM 57	0.998	0.002
18	ERZ-CVZ 18	0.002	0.998	58	ERZ-ÜZM 58	0.996	0.004
19	ERZ-CVZ 19	0.005	0.995	59	ERZ-ÜZM 59	0.989	0.011
20	ERZ-CVZ 20	0.003	0.997	60	ERZ-ÜZM 60	0.996	0.004
21	ERZ-CVZ 21	0.005	0.995	61	ERZ-ÜZM 61	0.998	0.002
22	ERZ-CVZ 22	0.176	0.824	62	ERZ-ÜZM 62	0.999	0.001
23	ERZ-CVZ 23	0.076	0.924	63	ERZ-ÜZM 63	0.995	0.005
24	ERZ-ÇTL 24	0.182	0.818	64	ERZ-ÜZM 64	0.997	0.003
25	ERZ-ÇTL 25	0.254	0.746	65	ERZ-ÜZM 65	0.996	0.004
26	ERZ-ÇTL 26	0.003	0.997	66	ERZ-ÜZM 66	0.98	0.02
27	ERZ-ÇTL 27	0.004	0.996	67	ERZ-ÜZM 67	0.998	0.002
28	ERZ-ÇTL 28	0.003	0.997	68	ERZ-ÜZM 68	0.998	0.002
29	ERZ-ÇYR 29	0.044	0.956	69	ERZ-ÜZM 69	0.988	0.012
30	ERZ-ÇYR 30	0.007	0.993	70	ERZ-YBŞ 70	0.997	0.003
31	ERZ-ÇYR 31	0.003	0.997	71	ERZ-YNB 71	0.996	0.004
32	ERZ-ÇYR 32	0.007	0.993	72	ALEYNA	0.956	0.044
33	ERZ-ÇYR 33	0.002	0.998	73	GİNA	0.988	0.012
34	ERZ-ÇYR 34	0.007	0.993	74	SERRA	0.814	0.186
35	ERZ-ÇYR 35	0.004	0.996	75	PEROLAR	0.86	0.14
36	ERZ-EBK 36	0.004	0.996				
37	ERZ-EKM 37	0.01	0.99				
38	ERZ-ILÇ 38	0.004	0.996				
39	ERZ-KMH 39	0.003	0.997				
40	ERZ-KML 40	0.011	0.989				

Çizelge 9. 2 fasulye alt-popülasyonunda beklenen heterozigotluk ve FST değerleri

Alt-popülasyon (K)	**Beklenen heterozigotluk**	**F_{ST}**
1	0.2892	0.2535
2	0.3322	0.0718
Ortalama	**0.6214**	**0.3253**

d. Genetik çeşitlilik

71 fasulye genotipi ve 4 fasulye çeşidine ait ortalama allel sayısı (ne), Nei'nin genetik çeşitliliği (h) ve Shannon indeksi (I) değerleri Çizelge 10'te verilmiştir. Buna göre en yüksek ortalama allel sayısı (ne), Nei'nin genetik çeşitliliği (h) ve Shannon indeks değerleri sırasıyla 1.799, 0.444 ve 0.636 ile BHÇ-3 genotipinde belirlenirken, en düşük değerler ise sırasıyla 1.618, 0.382 ve 0.570 ile ÜZM-63 genotipinde tespit edilmiştir. Tüm genotiplere ait ortalama ne, h ve I değerleri için ise 1.692, 0.408 ve 0.599 olarak bulunmuştur. Kuru fasulyede yapılan başka bir çalışmada, Shanon bilgi indeksinin 0.663-2.202 arasında değiştiği, bu indekse ait ortalamanın ise 1.343 olduğu belirlenmiştir (Özkan 2018). 12 iPBS belirteçi kullanılarak 138 bezelye genotipinde yapılan bir çalışmada ise araştırmacılar Shanon bilgi indeksi değerinin 0.24-0.58 arasında değiştiğini ve bu indeks için ortalama değerin ise 0.39 olduğunu tespit etmişlerdir (Baloch *et al.* 2015). Gedik *et al*. (2017) ise saffron genotipleri arasındaki çeşitliliği ve türler arasındaki yakınlığı tespit etmek için yaptıkları çalışmada Nei'nin genetik çeşitliliği (h) and Shannon bilgi indeksine (I) ait ortalama değerleri sırasıyla 0.16 ve 0.29 olarak belirlemişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda iPBS işaretçileri için ortalama Shannon bilgi indeksinin 0.12 (Yıldız *et al*. 2015) ve 0.27 (Mehmood *et al*. 2013) olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 10. 27 iBPS primeri ile değerlendirilen fasulye genotipleri için ortalama değerlere ait özet istatistikler

Genotipler	**ne**	**h**	**I**
ERZ-BHC01	1.788	0.441	0.633
ERZ-BHC02	1.784	0.439	0.631
ERZ-BHC03	1.799	0.444	0.636
ERZ-BHC04	1.785	0.440	0.632
ERZ-BHC05	1.764	0.433	0.625
ERZ-BHC06	1.771	0.435	0.627
ERZ-BHC07	1.781	0.438	0.630
ERZ-BHC08	1.769	0.435	0.626
ERZ-BHC09	1.747	0.428	0.619
ERZ-BKY10	1.727	0.421	0.612

Çizelge 10. devam

ERZ-BKY11	1.771	0.435	0.627
ERZ-BKY12	1.745	0.427	0.618
ERZ-BKY13	1.702	0.412	0.603
ERZ-BYR14	1.730	0.422	0.613
ERZ-CVZ15	1.727	0.421	0.612
ERZ-CVZ16	1.727	0.421	0.612
ERZ-CVZ17	1.727	0.421	0.612
ERZ-CVZ18	1.689	0.408	0.598
ERZ-CVZ19	1.686	0.407	0.597
ERZ-CVZ20	1.692	0.409	0.599
ERZ-CVZ21	1.740	0.425	0.616
ERZ-CVZ22	1.689	0.408	0.598
ERZ-CVZ23	1.749	0.428	0.619
ERZ-ÇTL24	1.734	0.423	0.614
ERZ-ÇTL25	1.663	0.399	0.588
ERZ-ÇTL26	1.702	0.412	0.603
ERZ-ÇTL27	1.699	0.412	0.602
ERZ-ÇTL28	1.710	0.415	0.606
ERZ-ÇYR29	1.663	0.399	0.588
ERZ-ÇYR30	1.660	0.398	0.587
ERZ-ÇYR31	1.722	0.419	0.610
ERZ-ÇYR32	1.750	0.428	0.620
ERZ-ÇYR33	1.710	0.415	0.606
ERZ-ÇYR34	1.699	0.412	0.602
ERZ-ÇYR35	1.681	0.405	0.595
ERZ-EBK36	1.652	0.395	0.584
ERZ-EKM37	1.647	0.393	0.582
ERZ-ILÇ38	1.678	0.404	0.594
ERZ-KMH39	1.671	0.401	0.591
ERZ-KML40	1.679	0.404	0.594
ERZ-KML41	1.660	0.398	0.587
ERZ-RFH42	1.665	0.400	0.589
ERZ-TRC43	1.660	0.398	0.587

Çizelge 10. devam

Genotipler	ne	h	I
ERZ-ULU44	1.655	0.396	0.585
ERZ-ULU45	1.647	0.393	0.582
ERZ-ULU46	1.631	0.387	0.575
ERZ-ULU47	1.668	0.401	0.590
ERZ-ULU48	1.652	0.395	0.584
ERZ-ULU49	1.671	0.401	0.591
ERZ-ULU50	1.631	0.387	0.575
ERZ-ULU51	1.704	0.413	0.604
ERZ-ULU52	1.702	0.412	0.603
ERZ-ULU53	1.684	0.406	0.596
ERZ-ULU54	1.683	0.406	0.596
ERZ-ULU55	1.692	0.409	0.599
ERZ-ÜZM56	1.699	0.412	0.602
ERZ-ÜZM57	1.665	0.400	0.589
ERZ-ÜZM58	1.685	0.406	0.596
ERZ-ÜZM59	1.650	0.394	0.583
ERZ-ÜZM60	1.648	0.393	0.582
ERZ-ÜZM61	1.623	0.384	0.572
ERZ-ÜZM62	1.647	0.393	0.582
ERZ-ÜZM63	1.618	0.382	0.570
ERZ-ÜZM64	1.671	0.401	0.591
ERZ-ÜZM65	1.671	0.401	0.591
ERZ-ÜZM66	1.679	0.404	0.594
ERZ-ÜZM67	1.634	0.388	0.576
ERZ-ÜZM68	1.644	0.392	0.581
ERZ-ÜZM69	1.618	0.382	0.570
ERZ-YBS70	1.654	0.396	0.585
ERZ-YNB71	1.645	0.392	0.581
ALEYNA	1.660	0.398	0.587
GİNA	1.634	0.388	0.576
PEROLAR	1.670	0.401	0.591
SERRA	1.651	0.394	0.583
Ortalama	**1.692**	**0.408**	**0.599**

ne: Ortalama allel sayısı; h: Nei'nin genetik çeşitliliği; I: Shanon bilgi indeksi

4. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapmış olduğumuz çalışmamızdan çıkarılan sonuç ve öneriler aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

1. iPBS verilerine göre polimorfizm değerinin tüm primerlerde %100 olduğu belirlemiştir. Allel sayısının primerlerde 13 (2077) ve 69 (2384) arasında (ortalama 37.14) değiştiği belirlenmiştir. Kümeleme analizi sonuçlarına göre genotipler 5 gruba ayrılmıştır ve iki alt-popülasyonda değerlendirilme yapılmıştır. Fasulye toplanan bölgelerin genotiplerinin çoğunun aynı gruplarda yer aldığı gözlemlenmiştir.

2. Sonuç olarak, yerel genotipler ıslah programları için son derece önemli materyallerdir. Bitki genetik kaynaklarının karakterizasyonunun amacı öncelikle tohum örnekleri ve popülasyonları arasındaki genetik varyasyonu ortaya koymak ve bu örnekler ile popülasyonlar arasındaki genetik varyasyon miktarı ve dağılımını tespit etmektir. Bitki genetik kaynaklarının moleküler yöntemler ile taranarak genetik açıdan incelenmesi, bireyler arasındaki genetik ilişkilerin ve akrabalık düzeylerinin belirlenmesi ileride yürütülecek ıslah çalışmaları için bir temel oluşturmaktadır. Bu çalışmada, Erzincan yöresinden toplanan bazı yerel taze ve barbunya fasulye genotiplerinde iPBS markör yöntemi kullanılarak genotipler arasındaki genetik farklılıklar ortaya konulmuştur. Bu çalışmadan elde edilen verilerin, genotipler arasındaki varyasyonu ortaya koyduğu ve bu doğrultuda yapılacak olan ıslah çalışmaları için bir alt yapı oluşturacağı, ülkemizdeki barbunya ve taze fasulyede tanımlama çalışmaları için bütünlük sağlayacağı düşünülmektedir.

REFERANSLAR

Akbulut, B., Karakurt, Y. and Tonguc, M., 2013. Molecular characterization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes. Akdeniz Univ J Fac Agric,26(2), 105-108.

Andeden, E. E., Baloch, F. S., Derya, M., Kilian, B. and Özkan, H., 2013. iPBS-Retrotransposons-based genetic diversity and relationship among wild annual Cicer species. Journal of plant biochemistry and biotechnology, 22(4), 453-466.

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*(1), 181-186.

Anderson, J. W., Smith, B. M. and Washnock, C. S., 1999. Cardiovascular and renal benefits of dry bean and soybean intake. The American Journal of Clinical Nutrition, 70(3), 464s-474s.

Anonim, 2017. http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul, (20.05.2018).

Anonymous, 2016. FAO, 2016. http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E, (20.05.2018).

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.

Baranek, M., Meszáros, M., Sochorová, J., Čechová, J. and Raddová, J., 2012. Utility of retrotransposon-derived marker systems for differentiation of presumed clones of the apricot cultivar. Velkopavlovická Scientia horticulturae 143:1-6

Beebe, S., Ochoa, I., Skroch, P., Nienhuis, J. and Tivang, J., 1995. Genetic diversity among common bean breeding lines developed for Central America. Crop. Sd. 35 (4), 1178–1183.

Bitocchi, E., Bellucci, E., Giardini, A., Rau, D., Rodriguez, M., Biagetti, E. and Papa, R., 2013. Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in mesoamerica and the andes. New Phytologist, 197(1), 300-313.

Blair, M. W., Díaz, L. M., Buendía, H. F. and Duque, M. C., 2009. Genetic diversity, seed size associations and population structure of a core collection of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.),Theoretical and Applied Genet- ics, Vol. 119, No. 6, pp. 955-972.

Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P. and Vanderleyden, J., 2003. Beans (Phaseolus spp.)–model food legumes. Plant and soil, 252(1), 55-128.

Cejas, I., Méndez, R., Villalobos, A., Palau, F., Aragón, C., Engelmann, F. and Lorenzo, J. C., 2013. Phenotypic and molecular characterization of *Phaseolus vulgaris* plants from non-cryopreserved and cryopre-served seeds., American Journal of Plant Sciences, 2013, 4, 844-849.

Chen F.Y. and Liu J.H., 2014. Germplasm genetic diversity of Myrica rubra in Zhejiang Province studied using inter-primer binding site and start codon-targeted polymorphism markers. Sci Hortic-Amsterdam 170: 169–175.

Corrado, G., Caramante, M., Piffanelli, P. and Rao, R., 2014. Genetic diversity in Italiantomato landraces: implications for the development of a core collection. Sci.Hortic. 168, 138–144.

Çavuşoğlu, A. ve Akçin, A., 2007. Taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeşitlerinde farklı gübre kombinasyonlarının verim ve verim unsurları üzerine etkileri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 21 (43): (2007) 106-111.

Dursun, A., 1999. Erzincan'da yaygın olarak yetiştirilen Yalancı dermason fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) populasyonunun seleksiyon yoluyla ıslahı, Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Ekincialp A., 2012. Van gölü havzası fasulye genotipleri arasındaki akrabalık ilişkilerinin ve antraknoz (Colletotrichum Lindemuthianum) (Sacc. and Magnus) Lambs. Scrib.) hastalığına dayanıklılığın fenotipik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi. Doktora Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Ergün, A., 2005. Samsun ilindeki barbunya fasulye gen kaynaklarının karakterizasyonu ve morfolojik varyabilitesinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.

Gailite, A. and Rungis, D., 2012. An initial investigation of the taxonomic status of Saussurea esthonica Baer ex Rupr. utilising DNA markers and sequencing. Plant systematics and evolution, 298(5), 913-919.

Garcia, A. A., Benchimol, L. L., Barbosa, A. M., Geraldi, I. O., Souza Jr, C. L. and Souza, A. P. D., 2004. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. Genetics and Molecular Biology, 27(4), 579-588.

Gedik, A., Ates, D., Erdogmus, S., Comertpay, G. and Bahattin, M., 2017. Genetic diversity of crocus sativus and its close relative species analyzed by iPBS-Retrotransposons. Turkish journal of field crops. 22:243-252

Geil, P. B. and Anderson, J. W., 1994. Nutrition and health ımplications of dry beans: A Review, Journal of the American College of Nutrition, Vol. 13, No. 6, pp. 549-558.

Guo, X. and Elston, R., 1999. Linkage information content of polymorphic genetic markers. Human Heredity, *49*(2), 112-118.

Guo, C., Guo, R., Xu, X., Gao, M., Li, X., Song, J. and Wang, X., 2014. Evolution and expression analysis of the grape (Vitis vinifera L.) WRKY gene family. Journal of experimental botany, 65(6), 1513-1528.

Işık, R., 2012. Bazı taze fasulye genotiplerinin morfolojik ve moleküler karakterizasyonu. Yüksek lisans tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Jaccard, P. 1908. Nouvelles recherches sur la distribution florale. Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat., 44, 223-270.

Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P. and Schulman, A. H., 2010. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation.Theoretical and applied genetics, 121(8), 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).

Mehmood A, Jaskani MJ, Ahmad S. and Ahma, R., 2013. Evaluation of genetic diversity in open pollinated guava by iPBS primers. Pak J Agr Sci 50: 591–597.

Metais, I., Aubry, C., Hamon, B., Jalouzot, R. and Peltier, D., 2000. Description and analysis of genetic diversity between commercial bean lines (*Phaseolus vulgaris* L.). Theoretical and Applied Genetics, 101(8), 1207-1214.

Mohammadi, S. A., and Prasanna, B.M,. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants salient statistical tools and considerations. Crop science, 43(4), 1235-1248.

Nemli S, Asciogul, T.K., Kaya, H.B., Kahraman, A., Eşiyok, D. ve Tanyolac, B., 2014. Association mapping for five agronomic traits in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Journal of the Science of Food and Agriculture 94:3141-3151.

Nemli, S., Kianoosh, T. and Tanyolac, 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(6), 940-948.

Özkan, G., 2018. İspir Fasulyesi (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinde SSR moleküler belirteçler ile genetik çeşitliliğin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Piergiovanni, A. R., Taranto, G., Losavio, F. P. and Pignone, D., 2006. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from Abruzzo and Lazio regions (Central Italy). Genetic Resources and Crop Evolution, 53(2), 313-322.

Phong N.H., Pongnak, W., Soytong, K., Poeaim, S. and Poeaim, A., 2016. Diversity of Tea (*Camellia sinensis* L.) grown in vietnam based on morphological characteristics and inter primer binding sites (iPBS) marker.

Rao, R., La Mura, M., Corrado, G., Ambrosino, O., Foroni, I., Perri, E. and Pugliano, G., 2009.Molecular diversity and genetic relationships of southern Italian olive cultivarsas depicted by AFLP and morphological traits. J. Hortic. Sci. Biotech. 84, 261–266.

Rohlf, F. J., 2000. NTSYS-PC, numerical taxonomy system for the PC ExeterSoftware, Version 2.2. Applied Biostatistics Inc Setauket, USA.

Saghai-Maroof, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. and Allard, R. W. L. 1984. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *81*(24), 8014-8018.

Salehi, M., Tajik, M. and Ebadi, A.G., 2008. The study of relationship between different traits in Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) with multivariate statistical methods. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 3 (6): 806-809.

Sarıkamış, G,. Yaşar, F., Bakır, M., Kazan, K. and Ergül, A., 2009. Genetic characterization of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes from eastern Turkey. Genetics and Molecular Research 8 (3): 880-887.

Sarıkamış, G., 2014. Sebze Islahında Moleküler Yaklaşımlar, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 7 (2): 80-83, 2014 ISSN: 1308-0040, E-ISSN: 2146-0132.

Scarano, D., Rubio, F., Ruiz, J. J., Rao, R. and Corrado, G., 2014. Morphological and genetic diversity among and within common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces from the Campania region (Southern Italy).Scientia Horticulturae, 180, 72-78.

Shete, S., Tiwari, H. and Elston, R. C., 2000. On estimating the heterozygosity and polymorphism information content value. Theoretical population biology,57(3), 265-271.

Shi, C., Navabi, A. and Yu, K.F., 2011. Association mapping of common bacterial blightresistance QTL in Ontario bean breeding populations. BMC Plant Biol. 11, 52.

Sözen, Ö., Özçelik, H. ve Bozoğlu, H., 2014a. Doğu Karadeniz Bölgesi yerel fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) populasyonlarının karakterizasyonu ve morfolojik değişkenliğin ortaya konulması. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 7(1): 29-36. ISSN: 1308-3961, E-ISSN: 1308-0261.

Tan, A., 2002. Türkiye (Geçit Bölgesi) genetik çeşitliliğinin ın sıtu (çiftçi şartlarında) muhafaza olanaklarının araştırılması (In-situ On-farm Conservation of Landraces grown in North-Western Transitional Zone of Turkey). Sonuc Raporu. (Final Report). TUBITAK-TOGTAG-2347. TUBITAK, Ankara.

Ulukapı, K. ve Onus, A. N., 2012. Selekte edilmiş bazı yerel yeşil fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin moleküler karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences, 18 (2012) 277-286.

Ülker, M. ve Ceyhan, E., 2008. Orta Anadolu ekolojik şartlarında yetiştirilen fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin bazı tarımsal özelliklerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 22 (46): (2008) 77-89 ISSN:1300-5774.

Welch, R. M., House, W. A., Beebe, S. and Cheng, Z., 2000. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of ıron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 48, No 8, pp. 3576-3580.

Yeken, M. Z., Kantar, F., Çancı, H., Özer, G. and Çiftçi, V., 2018. Breeding of dry bean cultivars using *Phaseolus vulgaris* landraces in Turkey. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, *4*(1), 45-54.

Yıldız, M., Koçak, M. and Baloch, F., 2015. Genetic bottlenecks in Turkish okra germplasm and utility of iPBS retrotransposon markers for genetic diversity assessment Genetics and Molecular Research 14:10588-10602.

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 Journal of Biological Sciences.

Zecca, G., Abbott, J.R., Sun, W.B., Spada, A., Sala, F. and Grassi, F., 2012. The timing and the mode of evolution of wild grapes (Vitis) Molecular phylogenetics and evolution,62:736-74

ATATÜRK
ÜNİVERSİTESİ