



Genetic diversity analysis of different bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes grown in Türkiye

Berru ŞAHİN HÜNDÜREL¹, İsmail POYRAZ^{1,2*}, Evren ATMACA³
ORCID: 0000-0001-9139-6597; 0000-0003-3651-5885; 0000-0001-5072-8612

¹ Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 11230, Bilecik, Türkiye

² Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, 11230, Bilecik, Türkiye

³ Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Tarla Bitkileri Bölümü, 26080, Eskişehir, Türkiye

Abstract

Phaseolus vulgaris L. (bean), a member of *Fabaceae* (Legumes), is an important agricultural plant that is widely used in Turkey and the world. Breeding studies are carried out to increase productivity in bean production and the genetic diversity analyses of bean genotypes contribute to the selection of suitable parents for these studies. Traditional methods of parent selection are impractical due to long time and labour costs. Molecular methods using DNA-based markers are very successful in determining genetic similarities or differences and are faster and more effective than traditional methods. RAPD (random amplified polymorphic DNA) markers are widely used to determine intraspecies genetic diversity. In this study, thirty-seven bean (*P. vulgaris*) genotypes grown in Turkey and runner beans (*Phaseolus coccineus* L.) were used as the outgroup. Isolated plant DNAs were amplified using the PCR (polymerase chain reaction) method with RAPD markers. PCR band profiles were analysed using Phoretix 1D Pro software. A dendrogram showing genetic diversity among bean genotypes was created using UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) cluster analysis method with MEGA 6.0 software. It was seen that the *P. coccineus* genotype branched separately from other bean genotypes in the dendrogram, and the genetic diversity data obtained by the RAPD-PCR method could be used effectively in bean breeding studies.

Keywords: bean, genetic diversity, RAPD-PCR method, breeding studies

----- * -----

Türkiye’de yetiştirilen farklı fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin genetik çeşitlilik analizi

Özet

Fabaceae (Baklagiller) üyesi olan *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye), Türkiye ve dünyada yaygın olarak kullanıma sahip önemli bir tarım bitkisidir. Fasulye üretiminde verimliliği arttırmaya yönelik ıslah çalışmaları yapılmakta ve fasulye genotiplerinin genetik çeşitliliğine yönelik analizler, bu çalışmalar için uygun ebeveynlerin seçimine katkı sağlamaktadır. Ebeveyn seçiminde kullanılan geleneksel yöntemler, uzun zaman ve işçilik maliyetleri nedeniyle pratik değildir. DNA tabanlı markörlerin kullanıldığı moleküler yöntemler, genetik benzerlik ve farkları belirlemede oldukça başarılı olup geleneksel yöntemlere göre daha hızlı ve etkilidirler. RAPD (rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA) markörleri, tür içi genetik çeşitliliği belirlemede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, Türkiye’de yetiştirilen otuz yedi adet fasulye (*P. vulgaris*) genotipi ve dış grup olarak ateş fasulyesi (*Phaseolus coccineus* L.) kullanılmıştır. İzole edilen bitki DNA’ları, RAPD markörleri kullanılarak PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemiyle çoğaltılmıştır. PCR bant profilleri Phoretix 1D Pro yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Fasulye genotipleri arasındaki genetik çeşitliliği gösteren dendrogram, MEGA 6.0 yazılımı ile UPGMA (aritmetik ortalamalı ağırlıksız çift grup yöntemi) kümeleme analiz yöntemi kullanılarak oluşturulmuştur. Dendrogramda *P. coccineus* genotipinin diğer fasulye genotiplerinden ayrı olarak dallandığı görülmüş ve RAPD-PCR yöntemiyle elde edilen genetik çeşitlilik verilerinin fasulye ıslah çalışmalarında etkin olarak kullanılabilceği anlaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: fasulye, genetik çeşitlilik, RAPD-PCR yöntemi, ıslah çalışmaları

* Corresponding author / Haberleşmeden sorumlu yazar: Tel.: +902282141173; Fax.: +92282141162; E-mail: ismail.poyraz@bilecik.edu.tr

1. Giriş

Baklagillerden fasulyenin içinde yer aldığı *Phaseolus sp.* cinsi, dünyada 230 tür ile temsil edilirken sadece yirmi tanesi insan beslenmesinde kullanılmakta ve bunların arasında en fazla üretilen türün ise *P. vulgaris* olduğu bilinmektedir [1-3]. Tarımsal amaçlı kültürü yapılan fasulyelerin de %90'ını bu tür oluşturmaktadır [4]. Ekonomik açıdan da oldukça önemli olan fasulye, sağlıklı yaşam ve beslenme için gerekli olan protein, vitamin ve mineralleri içermesi nedeniyle baklagiller arasında öne çıkmaktadır [5-7]. Teknolojinin ilerlemesine bağlı olarak yakın zamanda yapılan genom dizileme çalışmaları, fasulyenin kökeninin Orta Amerika'ya dayandığını göstermiştir [8-9]. Fasulye, muhtemelen Amerika'dan İber yarımadasını geçerek Avrupa'ya ulaşmıştır [10]. Ülkemize 17. yy 'da gelmiş olan fasulye, Türkiye'nin her yerinde yetiştirilebilecek kadar iyi adapte olmuş bir tarım bitkisidir [11-12] Türkiye'de fasulye tarımının diğer yemelik baklagillerden sonra başladığı ve yaklaşık olarak iki yüz yıl boyunca kültürünün yapıldığı bilinmektedir [13].

Son yıllarda küresel ısınma, iklim değişikliğine bağlı kuraklık, dolu, don vb. küresel sorunların yanında bitkisel hastalıkların yaygınlaşması, tüm tarım ürünlerinde olduğu gibi fasulyede de ciddi verim kayıplarına neden olmaktadır [11]. Tüketici çeşitliliğine bağlı olarak dengeli ve sağlıklı beslenmeye yönelik artan farklı talepler de yeni çeşitlerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur [11]. Bu durum genetik kaynakların önemini ve değerini daha iyi ortaya çıkarmaktadır [14]. Tarım bitkileri arasındaki genetik çeşitliliğin fazla olması, verimi yüksek ve hastalıklara dayanıklı çeşitlerin genetik ıslahı için çok önemlidir [13, 15]. Özellikle uygun ebeveyn seçimi aşamasının moleküler markörlerle desteklendiği çalışmalar (MAS), hem zaman hem de ekonomik olarak önemli avantaja sahiptir [16]. Kullanılan markörler çoğunlukla çeşitli DNA tabanlı markörler olup, bunlar aday ebeveynler arasındaki genetik farklılığın ortaya çıkarılmasını sağlamaktadır. Genetik olarak farklı karakterlere sahip ebeveynlerin belirlenmesi, sayı olarak daha fazla farklı karakterin bir arada ıslahına fırsat oluşturmaktadır [17]. Genetik benzerlik ve farklılıkları ortaya çıkarmada kullanılan DNA tabanlı moleküler markörler, popülasyon genetiği veya türler arası varyasyon gibi farklı kullanım ve amaçlara göre yaygın olarak tercih edilmektedir [18]. Genetik çeşitlilik analizlerinde yaygın olarak kullanılan RAPD-PCR yöntemi, kısa sentetik baz dizilerinin kullanıldığı ve genomda rastgele DNA fragmentlerinin çoğaltımını sağlayan bir tekniktir [19-22]. Az miktarda DNA'nın kullanıldığı bu yöntemde genetik çeşitlilik, farklı uzunluklarda çoğaltılmış DNA parçalarının agaroz jeldeki profil analiziyle belirlenir. Genetik çeşitlilik bilgisi, kısa zamanda ve ekonomik bir şekilde elde edilmektedir [23]. RAPD-PCR gibi DNA polimorfizmine dayanan teknolojiler, yüksek verimli ve kaliteli çeşitlerin ıslahında yaygın ve etkin olarak kullanılmaktadır [17-18, 24-25].

Bu çalışmanın amacı, Türkiye'de yetiştirilen farklı fasulye genotipleri arasındaki genetik çeşitlilik seviyelerini RAPD markörleri ile saptamak ve fasulye ıslah çalışmalarında kullanılacak bir veri oluşturmaktır.

2. Materyal ve yöntem

2.1 Bitki Materyali

Çalışmada kullanılan 37 farklı fasulye genotipi ve *P. coccineus* türüne ait Ph. Corh genotipi Eskişehir Geçit Kuşığı Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir (Tablo 1). Her bir örneğin tarlada sağlıklı yaprak örnekleri toplanıp izolasyon aşamasına kadar -20oC'de muhafaza edilmiştir.

2.2 DNA İzolasyonu

Fasulye genotiplerine ait yaprak örnekleri, porselen havan tokmak yardımıyla sıvı azotta pudra haline gelene kadar öğütülmüştür. Her bir örnekten yaklaşık 20-25 mg alınarak 2 ml'lik eppendorf tüpler içinde klasik CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) yöntemiyle DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir [26]. Steril deiyonize suda çözündürülen DNA örneklerinin miktar ve kalite ölçümleri için nanodrop UV-spektrofotometre (Shimadzu, Japonya) kullanılmıştır (Tablo 1).

2.3 RAPD-PCR Yöntemi

RAPD-PCR analizi ile fasulye genotipleri arasındaki polimorfizmi belirlemek için DNA dizileri British Columbia Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarından (Kanada) temin edilen farklı RAPD markör primerleri, Sentromer (İstanbul, Türkiye) firmasına sentezletilerek çalışmada kullanılmıştır (Tablo 2). Toplam 12 RAPD primeri ile tüm fasulye genotiplerinde genetik çeşitlilik analizinde kullanılacak nitelikte açık ve tekrarlanabilir bantlar elde edilmiştir.

RAPD-PCR reaksiyonu için 25 µL'lik toplam hacimde: 10 ng kalıp DNA, 1× Taq polimeraz tamponu, 1 U Taq polimeraz enzimi (Solis BioDyne, Estonya), 1.5 mM MgCl₂, 1 mM dNTP ve 1 µM primer final konsantrasyonları olacak şekilde karışım hazırlanmıştır. Tüm reaksiyonlar eş zamanlı olarak gerçekleştirilmiş olup ısı döngüleyici cihazında (Thermo Thermal Arktik, ABD): Başlangıç denatürasyonu 1 döngü 95 °C'de 4 dakika; 40 döngü 94 °C'de 55 saniye denatürasyon, 30-34 °C aralığında 60 saniye primer oturma ve 72 °C'de 90 saniye uzama; 1 döngü 72 °C'de 7

dakika final uzaması koşullarında gerçekleştirilmiştir. Reaksiyonlar her bir primer için aynı koşullarda en az iki tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan fasulye genotipleri ve DNA saflık dereceleri

Örnek Adı	Purity-Saflık (260/280 nm)	Örnek Adı	Purity-Saflık (260/280 nm)
1-Akman-98	1.8	20- Emerson	1.8
2- Bulduk	1.9	21- Konya dermasonu/Batallı	2.0
3-Cihan	1.8	22- Cardinal Yozgat barbunyası	2.0
4- Gina	1.8	23- CB-929 Cranberry	1.8
5- Güngör	1.9	24- UI-1140	2.0
6- Karacaşehir-90	2.0	25- Balıkesir barbunyası	2.0
7- Zülbiye	2.0	26- Yalancı dermason (Erzincan)	1.8
8- Novanbey-98	1.8	27- Es-855/4F2834-39	1.8
9- Sururbey	1.8	28- Erzurum Şekeri/4F-2813	2.0
10- 4F-2409	1.9	29- Aslan/Akman-98/Aslan	2.0
11- Akın	1.9	30- 17-SBarBVD-11	1.9
12- Batallı	1.9	31- 17-SBarBVD-12	2.0
13-Muzaffer	2.0	32- 17-SBVD-10	1.9
14-Topçu	1.9	33- 17-SBVD-14	1.9
15- Karaman	2.0	34- 17-SBVD-15	2.0
16- Göynük-98	2.0	35- 17-SBVD-18	2.0
17- İstanbul	1.8	36- 17-SBVD-19	1.9
18- Aslan/Konya Dermasonu	1.8	37- 17-SBVD-20	1.9
19- Aslan/Akman-98	1.8	38- Ph. coc (<i>P. coccineus</i>)- Dış Grup	1.9

Tablo 2. Kullanılan RAPD markör primerleri, oturma ısıları, polimorfizm oranları ve PIC değerleri.

Primer Adı	Primer Dizisi (5'-3')	Primer Isısı (°C)	Toplam Bant sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	Polimorfizm Oranı (%)	PIC Değeri
P5	AACGCGCAAC	32	22	22	100	0.331
P11	GGCCGATGAT	32	23	19	83.0	0.350
P13	ACCGCCTTGT	32	30	30	100	0.274
P14	CAGCACTGAC	32	22	22	100	0.469
P16	TGGTGGCCTT	32	15	14	93.3	0.538
P17	GTAGCACTCC	32	17	16	94.1	0.510
P21	ACGGTGCCTG	34	29	28	96.5	0.307
P23	CGCCCAAGCC	32	16	16	100	0.508
P24	CGCCCTGGTC	34	12	11	91.7	0.481
OPB-17	AGGGAACGAG	33	28	28	100	0.326
OPD-01	ACCGCGAAGG	32	26	26	100	0.392
OPD-07	TTGGCACGGG	38	18	17	97.5	0.563

PCR ürünleri, GeneRuler 100 bp plus DNA ladder (Fermentas, ABD) ile birlikte sırayla ilk 37 *P. vulgaris* genotipi ve ardından dış grup *P. coccineus* türünün PhCorh genotipi, etidium bromide içeren %1,3'lük agaroz jele yüklenmiştir. Agaroz jel, 90V'da 90 dakika yürütülmüş ve Gel Logic 212 Pro (Carestream, ABD) jel dökümantasyon cihazı kullanılarak fotoğraflanmıştır.

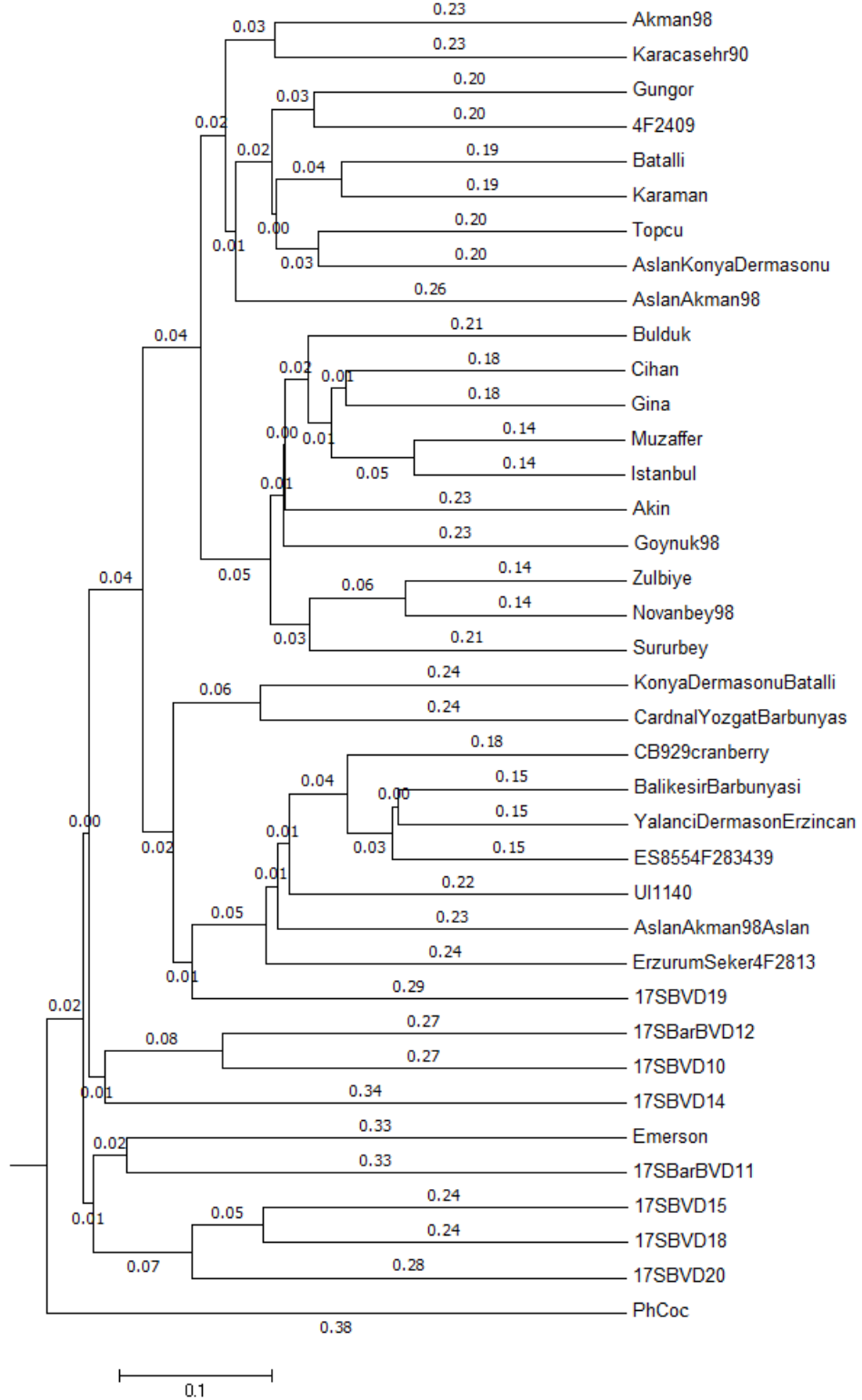
2.4 Biyoinformatik Analiz

Farklı primerler kullanılarak PCR ile çoğaltılmış her bir fasulye genotipine ait DNA fragmentlerinin agaroz jelde oluşturduğu karakteristik bantlaşma, Phoretix1DPro yazılımı (TotalLab, İngiltere) kullanılarak, var (1) ya da yok (0) ikili matris bilgisi oluşturulmuştur. Her bir primer için polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değeri $PIC = 2f(1-f)$ formülü (f : allel frekansı) kullanılarak hesaplanmıştır[27]. Örneklere ait ikili matris bilgisi, UPGMA yöntemi kullanılarak

3.2 Biyoinformatik Analiz

Phoretix1DPro yazılımıyla fasulye genotiplerinin her birinde bulunan DNA bant profillerine göre ikili veri matrisi oluşturulduktan sonra, karşılaştırmalı analiz için UPGMA yöntemi kullanılmış ve Jaccard benzerlik-mesafe matrisi elde edilmiştir. Bu matris verilerinden Jaccard mesafe matrisi Şekil 3’de gösterilmiştir.

Jaccard matrisi verisiyle birlikte oluşturulan Newick formatındaki bilgi, MEGA 6.0 programı kullanılarak genetik çeşitliliği gösteren dendrograma dönüştürülmüştür (Şekil 4).



Şekil 4. Fasulye fenotiplerinin genetik çeşitliliğini gösteren dendrogram

4. Sonuçlar ve tartışma

Klasik bitki ıslahında işlemler sadece gözlem ve seçim ile yürütüldüğünden dolayı çok uzun zaman ve emek gerektirmektedir. Moleküler tekniklerle desteklenen ıslah çalışmalarında, bitkilere ait genetik yapının ve çeşitliliğin belirlenmesi sayesinde, daha hızlı, güvenilir ve ekonomik melezleme yapılarak yeni çeşitler geliştirilebilmektedir [28-29].

Çeşit geliştirilmede önemli kriterler olan yüksek verim ve hastalıklara karşı direnç gibi özelliklerin bir bitkide toplanabilmesi için birbirine genetik olarak yakın bireylerin çaprazlanması istenmeyen bir durumdur [30]. Aynı gen havuzu içinde yapılan melezlemeler, yeni çeşit elde etmede kullanışsız ve anlamsız olmaktadır [31] Moleküler teknikler yardımıyla kısa sürelerde daha uzak akrabaların belirlenmesiyle yapılan çaprazlamalar sonucunda, farklı karakterlerin ve istenilen özelliklerin bir bitkide toplanma olasılığı da artmaktadır [6, 31].

Genellikle 10 baz uzunluğunda sentetik primerlerin kullanıldığı RAPD-PCR tekniği, canlı genomunda rastgele DNA parçalarının çoğaltıldığı ve parmak izi gibi karakteristik bantların elde edildiği bir tekniktir [19, 32] Bu primerler her iki DNA ipliğine de farklı yönlerde oturarak yaklaşık 0.5–5 kb arasında değişen DNA parçalarının çoğaltımını sağlar [33]. Genetik çeşitlilik, primerlerin bağlanma bölgelerinin çeşitlilik durumu ve buna bağlı olarak oluşan farklı uzunluktaki DNA parçalarının analiziyle gerçekleştirilir [19]. Az miktarda DNA'nın genetik çeşitliliği belirlemede yeterli olması ve düşük maliyeti, bu tekniğin önemli avantajlarıdır [23]. Deneysel bant verileri UPGMA gibi geniş veri setlerinin hızlı analizini sağlayan kümelenme temelli algoritma yöntemiyle genetik çeşitlilik verisine dönüştürülmektedir [4, 34].

Bu çalışmada, ülkemizde tarımı yapılan farklı fasulye genotiplerinden RAPD-PCR tekniği kullanılarak elde edilen bant profilleri, UPGMA yöntemiyle genetik çeşitliliği gösteren bir dendrogram oluşturulmasında kullanılmıştır. Dendrogramda, dış grup olarak çalışmaya dahil edilen Ph. coc. (*P. coccineus*)'un genotipinin diğer 37 *P. vulgaris* genotipinden ayrı olarak dallanma yaptığı görülmektedir (Şekil 4). Kullanılan on iki RAPD markörünün PIC değerleri 0.274-0.563 arasında bulunmuştur (Tablo 2). Bu sonuçlar, RAPD-PCR yönteminin iki ayrı türe ait fasulye genotiplerini ayırma gücüne sahip olduğu göstermektedir. Dış grup haricinde, *P. vulgaris* genotipleri kendi içinde iki ana grupta dallanmaktadır. Ana dallanma grubuna bağlı alt gruplarda tane tipi "horoz" olan; Cihan, Zülbiye, Noyanbey-98, Akın, Muzaffer ve Göynük-98 genotiplerinin tamamının aynı alt grupta dallanma göstermeleri dikkat çekmektedir. Jaccard genetik mesafe verileri incelendiğinde birbirine genetik olarak en uzak *P. vulgaris* genotiplerinin 0.805 mesafeye sahip Cardinal-Yozgat Barbunyası ve 17SBVD20 olduğu belirlenmiştir. Çalışılan genotipler arasında en yakın mesafeli olanların da 0.278 ile Muzaffer ve İstanbul; 0.290 genetik mesafe ile de Zülbiye ve Novanbey98 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3). Cardinal-Yozgat Barbunyasının tane yapısı barbunya olup bakteriyel hastalıklara orta toleranslı olduğu bilinmektedir. 17SBVD20 genotipinin de dermason tane yapısında ve bakteriyel hastalıklara karşı orta toleranslı olduğu [35] göz önüne alındığında, bu iki fasulye genotipinin fenotipik karakterler bakımında da sahip birbirinden farklı oldukları anlaşılmaktadır. Horoz tane yapısına sahip oldukları bilinen Zülbiye ve Novanbey98 genotiplerinden Zülbiye'nin Novanbey98'e göre bakteriyel hastalıklara karşı daha hassas olduğu bilinmektedir. Dendrogramda genetik olarak en yakın mesafeye sahip iki genotipten taze fasulye tipinde olan İstanbul'un hassas oluğu, horoz tane yapısına sahip Muzaffer çeşidinin ise orta hassasiyete sahip olduğu rapor edilmiştir [36]. Tüm genom düzeyinde karşılaştırma yapan dominant RAPD markörleriyle oluşturulan dendrogramda, birbirine yakın dallanan iki fasulye genotipinin bakteriyel hastalıklara hassasiyetlerinin yakın olmasına rağmen, tane yapısı bakımından benzer olmadıkları görülmektedir. Dendrogramda melez hatlar olarak bulunan genotiplerin diğer genotiplerden ayrı gruplarda dallanma yaptığı gözlenmektedir. Özellikle 17-SBarBVD-11, 17-SBVD-15, 17-SBVD-18 ve 17-SBVD-20 genotiplerinin Emerson genotipi ile bir arada bulunduğu grup dikkat çekmektedir. 17-SBarBVD-12, 17-SBVD-10 ve 17-SBVD-14 genotiplerinin de diğer fasulye genotiplerinden ayrı dallanma grubu oluşturdukları gözlenmiştir. Bu gruplardaki fasulye genotiplerinin ağırlıklı olarak dermason tane yapısına sahip oldukları göz önüne alındığında [35], barbunya tane yapısına sahip 17-SBarBVD-11 ve 17-SBarBVD-12 dışında, fenotipe yansıyan tane yapısı karakterine göre RAPD markörlerinin genetik çeşitlilik ağacı oluşturmada etkili bir ayırım gücüne sahip olduğu tespit edilmiştir.

Türkiye'de fasulye genotiplerinin karakterizasyonu ile ilgili 1998'den 2017 yılına kadar yapılmış çalışmaların % 42,4'ünün morfolojik, % 21,2'sinin morfolojik+fenolojik, %18,2'sinin moleküler, %15,2'sinin moleküler+morfolojik ve % 3'ünün de sadece fenolojik çalışmaları içerdiği rapor edilmiştir [11]. 2016 yılında Türkiye'nin farklı bölgelerinden belirlenen ümit-var 34 çeşit aday fasulye genotipi ile üç ticari çeşit'in ISSR tekniği ile genetik benzerlik analizi yapılmış ve kullanılan primerlerin yüksek polimorfizm oranına sahip olduğu bildirilmiştir [11]. Erdinç ve ark. tarafından 2017 yılında Türkiye'nin farklı bölgelerine ait 123 fasulye genotipinde sadece antraknoza direnci tespit etme amacıyla SCAR ve RAPD markörlerinin kullanıldığı, ancak genetik çeşitlilik analizinin yapılmadığı görülmüştür [37]. 2020 yılında Erzincan ilinde yaygın olarak yetiştirilen 71 fasulye genotipi (41 barbunya ve 30 taze fasulye genotipi) ve dört ticari çeşit (Aleyna, Gina, Perolar ve Serra) arasındaki genetik çeşitliliği araştırmak için iPBS (primerler arası bağlanma bölgesi) markörleri kullanılmış ve PIC değerleri 0,19-0,42 arasında değişen markörlerin yüksek polimorfizme sahip olduğu bildirilmiştir. iPBS markörlerinin kullanıldığı çalışmada barbunya ve taze fasulye genotiplerinin dendrogramda farklı kümeler halinde dallanma gösterdiği rapor edilmiştir [38]. Çalışmamızda kullanılan RAPD markör primerleriyle oluşturulan dendrogramdaki dermason ve barbunya genotip ayrımının, iPBS markörleriyle oluşturulan

dendrogramdaki barbunya ve taze fasulye genotipleri için rapor edilen ayrı dallanma profili gibi ayırıcı nitelikte olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada elde edilen genetik çeşitlilik analiz verilerine dayalı fasulye genotip ayırımı sonuçlarının, bilinen fenotipik özelliklere göre kıyaslandığında büyük oranda paralellik gösterdiği, ancak tam olarak örtüşme sağlamadığı görülmüştür. iPBS yöntemiyle karşılaştırıldığında primerlerin yakın aralıklarda PIC değerlerine sahip olmaları dikkat çekmektedir. Aynı koşulların sağlandığı tekrarlanabilir sonuçlara sahip RAPD markör verilerinin, tüm genom düzeyinde karşılaştırma yapmasına bağlı olarak, markör destekli fasulye ıslahı çalışmalarında kullanışlı olduğu anlaşılmaktadır.

Teşekkür

Çalışma materyali temininde desteğinden dolayı Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- [1] Madakbaş S.Y. & Ergin, M. (2011). Morphological and phenological characterization of Turkish bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes and their present variation states. *African Journal of Agricultural Research*, 6(28), 6155-6166.114. <https://doi.org/10.5897/AJAR11.1361>
- [2] Górna, B., Szpakowska, M., JNowak, J., & Hołubowicz, R. (2016). Selected breeding characters and seed protein content of adzuki bean (*Phaseolus angularis* W.H. White) grown in central Europe. *Acta Agroph.*, 23(4), 569-582.
- [3] Dupliak O., Barban O., & Pysarets M. (2021). Inheritance of the performance and its constituents by common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hybrids and lines. *Селекція насінництва*, 15-21.
- [4] Gepts P. (2001). The Encyclopedia of Life-Supporting Systems. In Tolba M.K. (eds.), *Origins of plant agriculture and major crop plants in our fragile world* (1st ed., pp. 629–637). Oxford, UK: EOLSS Publishers.
- [5] Kaçar, O., Çakmak, F., Çöplü, N., & Azkan, N. (2004). Bursa koşullarında bazı kuru fasulye çeşitlerinde (*Phaseolus vulgaris* L.) bakteri aşılama ve değişik azot dozlarının verim ve verim unsurları üzerine etkisinin belirlenmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (1), 207-218.
- [6] Marotti, I., Bonetti, A., Minelli, M., Catizone, P., & Dinelli G. (2006). Characterization of some Italian common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) landraces by RAPD, semi-random and ISSR molecular markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54 (1), 175-188.
- [7] Ekinci alp, A., & Şensoy, S. (2018). Phenotypic and molecular determination of anthracnose disease resistance in Lake Van Basin's bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.). *Legume Research*, 41(1), 135-142.
- [8] Rossi, M., Bitocchi, E., Bellucci, E., Nanni, L., Rau, D., Attene, G., & Papa, R. (2009). Linkage disequilibrium and population structure in wild and domesticated populations of *Phaseolus vulgaris* L. *Evol. Appl.*, 2, 504–522.
- [9] Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Rossi, M., Giardini, A., Zeuli, P.S., Logozzo, G., Stougaard, J., McClean, P., & Attene, G.; et al. (2012). Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 109, 788–796.
- [10] Ortwin-Sauer, C. (1966). *The Early Spanish Man*; University of California Press: Berkeley/Los Angeles, CA, USA. Kluwer Academic Publishers, 51–298.
- [11] Karataş, A., Büyükdinç, D.T., İpek, A., Yağcıoğlu, M., Sönmez, K. & Ellialtıoğlu, Ş.Ş. (2017). Türkiye’de fasulyede yapılan morfolojik ve moleküler karakterizasyon çalışmaları. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 10 (1): 16-27.
- [12] Poyraz, İ. , Şahin, B. & Atmaca, E. (2017). Detection of ten resistance genes against *P. syringae* pv. *phaseolicola* and *X. axonopodis* pv. *phaseoli* in twelve local bean varieties using scar markers. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 7 (2), 241-248.
- [13] Veloso, J.S., Silva, W., Pinheiro, L.R., Dos Santos, J.B., Fonseca Jr, N.S., & Euzebio., M.P. et al. (2015). Genetic divergence of common bean cultivars is revealed by sequence data. *Genet. Mol. Res.*, 14 (3), 11281-11291.
- [14] Galvan, M.Z., Menendez-Sevillano, M.C., De Ron, A.M., Santalla, M., & Balatti, P.A. (2006). Genetic diversity among wild common beans from Northwestern Argentina based on morphoagronomic and RAPD data. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 53, 891-900.
- [15] Singh, A., Dikshit, H.K., Mishra, G.P., Aski, M., Kumar, S., & Sarker, A. (2022). Breeding for abiotic stress tolerance in lentil in genomic era. In: Kole, C. (eds). *Genomic Designing for Abiotic Stress Resistant Pulse Crops*. Springer Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-91039-6_5
- [16] Wu, Y.P., Chang, Y.C., Kuo, H.I., Lin, B.N., Wang, S.M., & Tseng, Y.C. (2022). The development of two high-yield and high-quality functional rice cultivars using marker-assisted selection and conventional breeding methods. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 4678. <https://doi.org/10.3390/ijms23094678>

- [17] Bilgin, O., & Korkut, K.Z. (2005). Bazı ekmeklik buğday çeşit ve hatlarının tane verimi ve bazı fenolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2(1), 5765.
- [18] Madakbaş, S.Y., Hız M.C., Gültekin, Y. & Sayar, M.T. (2016). Genetic characterization of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions from Turkey with SCAR and SSR markers. *Biochem. Genet.*, 54: 495-505.
- [19] Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., & Tingey, S.V. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.*, 18, 6531-6535.
- [20] Poyraz, İ. E. , Sözen, E. , Ataşlar, E. & Poyraz, İ. (2012). Determination of genetic relationships among *Velezia* L. *Caryophyllaceae* species using RAPD markers. *Turkish Journal of Biology*, 36 (3), 293-302.
- [21] Sözen, E. & Yücel, E. (2015). Determination of genetic relationships between some endemic *Salvia* species using RAPD markers. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 8 (3), 248-253.
- [22] Hasanah, Y., Mawarni, L., Hanum, H., & Lestami, A. (2022). Genetic diversity of shallots (*Allium ascalonicum* L.) from several locations in North Sumatra, Indonesia based on RAPD markers. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. <https://doi.org/10.13057/biodiv%2Fd230518>
- [23] Chen, J., Zhao, J.T., Erickson, D.L., Xia, N.H., & Kress, W.J. (2015). Testing DNA barcodes in closely related species of Curcuma (*Zingiberaceae*) from Myanmar and China. *Molecular Ecology Resources*, 15, 337–348.
- [24] Amiteye, S. (2021). Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. *Heliyon*, 7 (10), <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08093>
- [25] Al-Khayri, J.M., Mahdy, E.M.B., Taha, H.S.A., Eldomiatty, A.S., Abd-Elfattah, M.A.; Abdel Latef, A.A.H., Rezk, A.A., Shehata, W.F., Almaghasla, M.I., Shalaby, T.A., et al. (2022). Genetic and morphological diversity assessment of five kalanchoe genotypes by SCoT, ISSR and RAPD-PCR markers. *Plants*, 11, 1722. <https://doi.org/10.3390/plants11131722>
- [26] Doyle, J.J., & Doyle, J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.*, 19, 11-15.
- [27] De Riek, J., Calsyn, E., Everaert, I., Van Bockstaele, E., & De Loose, M. (2001). AFLP based alternatives for the assessment of distinctness, uniformity and stability of sugar beet varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 103(8), 1254-1265.
- [28] Pandurangan, S., Workman, C., Nilsen, K., & Kumar, S. (2022). Introduction to marker-assisted selection in wheat breeding. In *Accelerated Breeding of Cereal Crops* (pp. 77-117). New York, NY: Humana.
- [29] Rani, M., Jinda, S.K., Vikal, Y., & Meena, O.P. (2021). Genetic male sterility breeding in heat tolerant bell pepper: Introgression of ms10 gene from hot pepper through marker-assisted backcrossing. *Scientia Horticulturae*, 285, 110172. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110172>.
- [30] Gupta, M., Chyi, Y.S., Romero-Severson, J., & Owen, J.L. (1994). Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. *Theor. Appl. Genetics*, 89, 998-1006.
- [31] Papan, P., Chueakhunthod, W., Jinagool, W., Tharapreuksapong, A., Masari, A., Kaewkasi, C., Ngampongsai, S., Girdthai, T., & Tantasawat, P. (2021). Improvement of *Cercospora* leaf spot and powdery mildew resistance of mungbean variety KING through marker-assisted selection. *The Journal of Agricultural Science*, 159 (9-10), 676-687. <https://doi:10.1017/S0021859621000976>
- [32] Nasution, F., Theanhom, A.A., Sukartini, Bhuyar, P., & Chumpookam, J. (2021). Genetic diversity evaluation in wild *Muntingia calabura* L. based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. *Gene Reports*, 25, 10133, <http://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101335>
- [33] Soufy, H., Laila, A.M., & Iman, M.K.A. (2021). Application of RAPD-PCR for DNA-fingerprinting of Egyptian Tilapia. *New Visions in Science and Technology*, 1, 58-63, <https://doi.org/10.9734/bpi/nvst/v1/10607D>
- [34] Videla, M.E., Iglesias, J., & Bruno, C. (2021). Relative performance of cluster algorithms and validation indices in maize genome-wide structure patterns. *Euphytica*, 217, 195, <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02926-5>
- [35] Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü 2017 Yılı Gelişme Raporu. (2018). Eskişehir, Türkiye: Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü.
- [36] Tarım ve Orman Bakanlığı Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü Yemeklik Tane Baklagiller Tescil raporu. (2017). <https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/TTSM/Belgeler/Yay%C4%B1nlar/2017%20Faliyet/Yemeklik%20Tane%20Baklagiller%202017%20Tescil%20Raporu.pdf>
- [37] Erdinç, C., Turkmen, O., Demir, S., & Sensoy, S. (2017). Determination of the anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. and Magn.) Lambs. Scrib.) resistance in some Turkish bean genotypes by artificial inoculation and molecular methods. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 27(1), 175-185.
- [38] Öztürk, H.İ., Dursun, A., Hosseinpour, A., & Haliloğlu, K. (2020). Genetic diversity of pinto and fresh bean (*Phaseolus vulgaris* L.) germplasm collected from Erzincan province of Turkey by inter-primer binding site (ipbs) retrotransposon markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 44 (4), 417-427.