

## Türkiye'deki Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşitlerinin Köşeli Yaprak Lekesi Hastalığı (*Pseudocercospora griseola*)'na Karşı Dayanıklılık Kaynaklarının Araştırılması \*

Gülsüm PALACIOĞLU<sup>1\*\*</sup>, Göksel ÖZER<sup>2</sup>, Mehmet Zahit YEKEN<sup>3</sup>, Emel ÖREN<sup>4</sup>, Vahdettin ÇİFTÇİ<sup>3</sup>, Harun BAYRAKTAR<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Şırnak Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Şırnak, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bolu, TÜRKİYE

<sup>3</sup>Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Bolu, TÜRKİYE

<sup>4</sup>T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Diyarbakır Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Fitopatoloji Bölümü, Diyarbakır, TÜRKİYE

<sup>5</sup>Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Ankara, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received: 07.06.2022

Kabul Tarihi/Accepted: 21.10.2022

ORCID ID (Yazar sırasına göre / by author order)

[orcid.org/0000-0002-3603-2413](https://orcid.org/0000-0002-3603-2413) [orcid.org/0000-0002-3385-2520](https://orcid.org/0000-0002-3385-2520) [orcid.org/0000-0003-0490-371X](https://orcid.org/0000-0003-0490-371X) [orcid.org/0000-0002-2784-8226](https://orcid.org/0000-0002-2784-8226)

[orcid.org/0000-0002-0440-5959](https://orcid.org/0000-0002-0440-5959) [orcid.org/0000-0003-2562-4461](https://orcid.org/0000-0003-2562-4461)

\*\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: gpalacioglu@sinak.edu.tr

**Öz:** Bu çalışmada, Türkiye'de yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan bazı tescilli fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeşitlerinin köşeli yaprak lekeli hastalığı (*Pseudocercospora griseola*)'na karşı dayanıklılık kaynaklarının SCAR markörler (SN02, SH13 ve g2303) aracılığıyla incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmalar, 2020-2021 yıllarında, Ankara Üniversitesi ve Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bitki Koruma Bölüm laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular, çeşitler arasında en yaygın genin *Phg-2* olduğunu, bunu sırasıyla *Phg-ON* ve *Phg-1* genlerinin izlediğini göstermiştir. Farklı gen kombinasyonları bakımından fasulye çeşitleri incelendiğinde; 18 çeşidin 1 gen, 41 çeşidin 2 gen, 5 çeşidin (Yalova-17, Boncuk, Aslan, Helda, Akman-98) ise her üç dayanıklılık genine sahip olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen dayanıklılık genlerinin ve kombine dayanıklılığa sahip fasulye çeşitlerinin köşeli yaprak lekeli ile ilgili yürütülecek ıslah çalışmalarına katkı sağlayabileceği öngörülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Dayanıklılık geni, fasulye, köşeli yaprak lekeli, moleküler markör

## Investigation of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Varieties in Türkiye for Resistance Sources to Angular Leaf Spot Disease (*Pseudocercospora griseola*)

**Abstract:** This research aimed to investigate resistance sources to angular leaf spot disease (*Pseudocercospora griseola*) on some registered bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties widely grown in Türkiye using SCAR markers (SN02, SH13, and g2303). The studies were carried out in the laboratories of Ankara University and Bolu Abant İzzet Baysal University Plant Protection Department in 2020-2021. The findings revealed that the most common gene among the varieties was *Phg-2*, followed by *Phg-ON* and *Phg-1* genes, respectively. When bean cultivars were examined in terms of different gene combinations, it was determined that 18 cultivars had 1 gene, 41 cultivars had 2 genes, and 5 cultivars (Yalova-17, Boncuk, Aslan, Helda, Akman-98) had all three resistance genes. It is predicted that the determined resistance genes and bean varieties with combined resistance may contribute to the breeding studies to be carried out on angular leaf spot.

**Keywords:** Resistance gene, common bean, angular leaf spot, molecular marker

\*: Bu çalışmanın, ön çalışma verilerinin bir kısmı; 29 Ağustos-01 Eylül 2021 tarihlerinde Edirne'de düzenlenen "III. Balkan Agricultural Congress"de sözlü bildiri olarak sunulmuş olup, adı geçen kongre bildiriler kitabında özet metni yayınlanmıştır.

## 1. Giriş

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) içerdiği protein, karbonhidrat ve mineraller nedeniyle dünyada en fazla tüketilen baklagillerden bir tanesidir. Afrika ve Amerika gibi ülkelerde günlük protein içeriğinin % 36'sını, kalori ihtiyacının ise % 15'ini karşılamaktadır (Schmutz ve ark., 2014). Dünyadaki fasulye üretimi 2017 yılında 30.8 milyon tonluk rekor artışla birlikte, 2012 yılından bu yana % 20.3 artış göstermiştir. Türkiye ise dünya genelinde önemli bir fasulye üreticisi olup; 547.349 ton ile taze fasulyede 4. sırada, 279.518 ton kuru fasulye üretimi ile 19. sırada yer almaktadır (Anonymous, 2021). Türkiye'nin tüm bölgeleri fasulye yetiştiriciliğine uygun olmakla birlikte taze fasulye üretimi başta Samsun, Zonguldak, Çankırı ve Tokat illerini içerisine alan Karadeniz Bölgesi'nde; kuru fasulye üretimi ise Niğde, Konya, Nevşehir, Karaman ve Kayseri illerini kapsayan İç Anadolu Bölgesi'nde yapılmaktadır (Anonim, 2021).

Geniş bir üretim alanına sahip olan fasulye bitkisinde, dünyada ve Türkiye'de verim ve kaliteyi etkileyen çok sayıda hastalık etmeni bulunmaktadır (Hall, 1994). Bunlar arasında *Pseudocercospora griseola*'nın neden olduğu köşeli yaprak lekesi (Angular Leaf Spot, ALS) hastalığı fungal hastalık etmenleri içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. Etmen, tropikal bölgeler başta olmak üzere tüm üretim alanlarında yaygın ve yıkıcı bir hastalık olarak ortaya çıkmakta ve uygun koşullar altında % 40-80 oranında zarar oluşturmaktadır (Correa-Victoria ve ark., 1989; de Jesus ve ark., 2001; Nay ve ark., 2019). Etmen; bitkinin yaprak, kapsül ve tohumlarını kapsayan tüm toprak üstü aksamında enfeksiyon meydana getirmektedir. Bununla birlikte, en fazla enfeksiyon yapraklarda görülmektedir. Yapraklardaki belirtiler gri kahverengi, bazen bir hale ile çevrili düzensiz lekeler şeklinde başlar ve daha sonra hastalığın karakteristik köşeli nekrotik lekeleri oluşmaktadır. Enfeksiyonlar, yaprakların tüm yüzeyini kaplayarak erken yaprak dökümüne neden olmaktadır. Kapsüller üzerinde de benzer şekilde kırmızımsı-kahverengi, yuvarlak lekeler görülmekte ve tohum yüzeyinde beneklenmelere sebep olmaktadır (Hall, 1994).

Fasulyede ALS ile mücadele kültürel önlemler, temiz tohum kullanımı, fungusit uygulamaları şeklinde gerçekleştirilmekle beraber; en etkili, güvenilir ve az maliyetli mücadele yöntemi dayanıklı çeşitlerin kullanımınıdır. Ancak patojenin yüksek genetik varyasyona sahip olması ve buna bağlı olarak çok sayıda patotip içerdiği bilinmektedir. Bu kapsamda yapılan çalışmalarda

Afrika'da 54 izolat arasında 53, Brezilya'da 30 izolatta 13, Orta Amerika'da 112 izolatta 50, Uganda'da ise 80 izolat içerisinde 12 farklı patotip olduğu bildirilmiştir (Busogoro ve ark., 1999a, 1999b; Nietzsche ve ark., 2001; Ddamulira ve ark., 2014). Farklı iklim ve çevre koşullarında yeni patotip oluşumlarının devam etmesi ve bir bölgede dayanıklı olan fasulye çeşidinin diğer bölgelerde hassas olması, ıslah çalışmaları ile mutlak dayanıklı bir çeşit geliştirilmesini zorlaştırmaktadır (Pastor-Corrales ve ark., 1998; Mahuku ve ark., 2002).

Fasulye genomunda etmenin farklı patotiplerine karşı dayanıklılığın kalıtsal olduğu ve genellikle tek bir dominant gen ile yönetildiği bildirilmiştir (Anonymous, 1996; de Carvalho ve ark., 1998; Ferreira ve ark., 2000; Mahuku ve ark., 2004). Bu kapsamda Uluslararası Fasulye Islah Komitesi (Bean Improvement Cooperative, BIC) tarafından *Phg* gen lokusu altında 3 dominant (*Phg-1*, *Phg-2*, *Phg-3*), 2 major (*Phg-4*, *Phg-5*) gen olmak üzere 5 dayanıklı gen lokusu tanımlanmıştır (de Carvalho ve ark., 1998; Sartorato ve ark., 1999; Corrêa ve ark., 2001; Namayanja ve ark., 2006; Gonçalves-Vidigal ve ark., 2011; Oblessuc ve ark., 2012; Keller ve ark., 2015). Bununla birlikte komite tarafından henüz isimlendirilmemiş farklı gen lokusları (*Phg-6*, *Phg-ON*) ve allelleri (*Phg-5<sup>2</sup>*, *Phg-2<sup>2</sup>*, *Phg-3<sup>2</sup>*, *Phg-4<sup>2</sup>*) de tespit edilmiş ve ıslah çalışmalarına dâhil edilmiştir (Teixeira Caixeta ve ark., 2003; Caixeta ve ark., 2005; Gonçalves-Vidigal ve ark., 2011; Mahuku ve ark., 2009, 2011). Bu gen lokusları ile ilişkili Random amplified microsatellite (RAMS), Simple sequence repeats (SSR), Sequence-tagged site (STS), Random amplified polymorphic DNA (RAPD) ve Sequence characterized amplified region (SCAR) gibi farklı moleküler markör yöntemleri geliştirilmiş ve çok sayıda araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Johnson ve ark., 1995; de Carvalho ve ark., 1998; Sartorato ve ark., 1999; Abadio ve ark., 2012). Örneğin; Ragagnin ve ark. (2005), AND 277'de 63-23 nolu patotipe karşı dayanıklılığın *Phg-1* geni ile, Nietzsche ve ark. (2000) Cornell 49-242'de 31-17 nolu patotipe karşı *Phg-2* geni ile Mahuku ve ark. (2004) ise G10474'de patotip 63-63'e karşı dayanıklılığın tek bir dominant gen ile sağlandığını belirtmişlerdir. Ancak Türkiye önemli bir fasulye üreticisi ve zengin bir fasulye çeşitliliğine sahip olmasına rağmen, etmene karşı dayanıklılık kaynaklarının mevcudiyeti hakkında çok az çalışma bulunmaktadır (Palacioğlu, 2021). Bu çalışma kapsamında Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen 64 adet tescilli fasulye (*P. vulgaris* L.) çeşidinin ALS hastalığına karşı dayanıklılık kaynaklarının moleküler markörler aracılığıyla tespit edilerek

ıslah çalışmalarında genitör bitki seçimine katkı sağlamak amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Bitkilerin yetiştirilmesi

Çalışmaya Türkiye'nin farklı bölgelerinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan 36 adet taze, 24 adet kuru ve 4 adet barbunya olmak üzere toplamda 64 adet tescilli fasulye çeşidi dahil edilmiştir. Bununla birlikte USDA (United States Department of Agriculture Research Service, ABD)'dan temin edilen, ilişkili dayanıklılık genlerini taşıdığı bildirilen referans bitkiler (Ouro negro, Cornell, To) de çalışmaya alınmıştır. Denemeler, 2020-2021 yıllarında, Ankara Üniversitesi ve Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Ekim öncesinde tohumlar, sterilizasyon amacıyla % 1'lik sodyumhipoklorit de (NaOCl) 2 dakika tutulmuş ve ardından 3 kez steril saf sudan geçirilmiştir. Steril edilen tohumlar petri kaplarındaki steril kurutma kağıtları üzerinde yaklaşık 5 gün çimlendirilmiş; ardından toprak, kum, gübre karışımı içeren (1:1:1 v/v) 16 cm çapındaki saksılara ekilmiştir. Bitkiler, 23 °C sıcaklık ve 14/10 saatlik ışık periyodu içeren kontrollü koşullardaki bitki yetiştirme odasında 10 gün süreyle yetiştirilmiştir.

### 2.2. DNA ekstraksiyonu

Bitki dokularından DNA ekstraksiyonu Anonymous (2012) tarafından bildirilen DArT (Diversity Arrays Technology) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda her bir fasulye çeşidinin yapraklarından yaklaşık 100 mg bitki dokusu alınarak 1 mL ekstraksiyon solüsyonu [125 mM Tris-HCl pH=8, 25 mM EDTA (etilen diamin tetraasetik asit) pH=8, 0.8 M NaCl (sodyum klorür), % 1 CTAB (setil trimetilamoniyum bromür), % 1 sarcosyl, % 2 PVP-40 (K29-32), % 0.5 sodium disulphite] içerisinde homojenize edilmiş ve ardından 65 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Üzerine eşit hacimde kloroform-isoamilalkol (24:1) karışımı ilave edilerek alt-üst edilmiş ve 10.000 g (gravite) dönme hızı ile 20 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan sıvı temiz eppendorf tüplere aktarılarak eşit hacimde soğuk isopropanol eklenmiş ve 60 dakika -20 °C'de bekletilmiştir. Elde edilen karışım, 10.000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve supernatant dökülmüştür. Tüpün dip kısmında oluşan DNA pelleti 500 µL % 70'lik soğuk etanol ile yıkanmış ve tüpün cidarı kurutulduktan sonra pellet, 100 µL steril su ile çözülmüştür. DNA miktarları spektrofotometrik olarak 260 nm'de ölçüm yapılarak tespit edilmiş ve tüm DNA örnekleri 20

ng µL<sup>-1</sup> olacak şekilde seyreltilerek -20 °C'de saklanmıştır.

### 2.3. Fasulye çeşitlerinin dayanıklılık kaynaklarının moleküler markörler ile tespiti

Fasulye çeşitlerinin dayanıklılık genleri ALS hastalığı ile ilişkili 3 farklı SCAR markör ile araştırılmıştır (Tablo 1). PCR amplifikasyonları 0.2 µM dNTPs (DNA nükleotid bazları), 0.3 µM primer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub> (Magnezyum klorür), PCR tampon çözeltisi, 20-30 ng DNA, 1 U Taq DNA polimeraz içeren 25 µl'lik hacimlerde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri % 1.2'lik agaroz jelde 100 Voltta yaklaşık bir saat elektroforetik olarak ayrılarak gözlenmiş ve beklenen PCR ürünlerinin büyüklükleri 100 bp (baz çifti) DNA ladder kullanılarak görüntülenmiştir. Aranılan dayanıklılık genleri ile ilişkili amplifikasyon ürünlerinin varlığı, referans çeşitler ile kıyaslanarak var (+) ya da yok (-) olarak tespit edilmiştir.

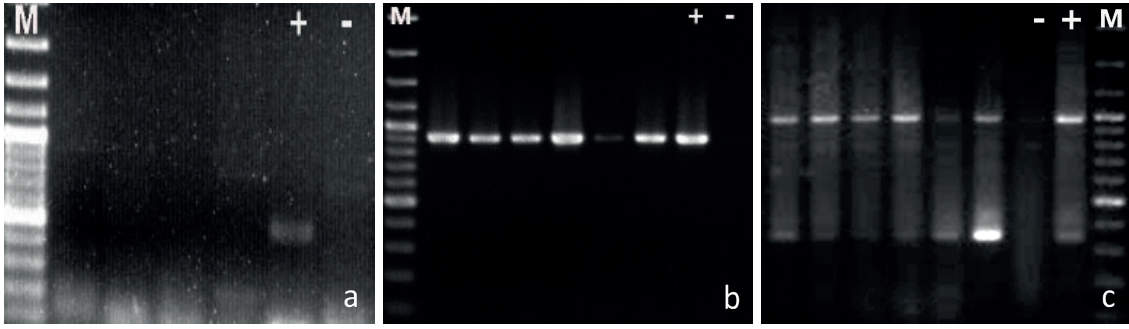
## 3. Bulgular ve Tartışma

*Pseudocercospora griseola*'nın neden olduğu köşeli yaprak lekesi hastalığı Türkiye'de ve dünyada fasulye yetiştirilen tüm alanlarda yaygın olarak görülen ve uygun koşullar altında önemli ekonomik kayıplara neden olan bir hastalıktır. Etmene karşı en etkili mücadele yöntemi dayanıklı çeşit kullanımı olmasına rağmen içerdiği yüksek patojenik varyasyon nedeniyle mutlak bir dayanıklılık sağlamak zorlaşmaktadır (Sartorato ve Alzate-Marin, 2004; Abadio ve ark., 2012). Bu kapsamda dayanıklılığın tek bir dominant gen ile sağlandığı, bunun yanı sıra farklı genlerin bir araya getirilerek oluşturdukları gen piramitlerinin de ıslah çalışmalarında faydalı olduğu bildirilmiştir (Pastor-Corrales ve ark., 1998; Stenglein ve ark., 2003; Ddamulira ve ark., 2015; Nay ve ark., 2019). Fasulye genomunda yapılan araştırmalarda etmene karşı dayanıklılıkta rol oynayan farklı genlerle ilişkili moleküler markörler geliştirilmiş ve ıslah çalışmalarında çok sayıda araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Teixeira Caixeta ve ark., 2003; Mahuku ve ark., 2009, 2011; Rodríguez ve ark., 2019).

Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen bazı tescilli fasulye çeşitlerinin köşeli yaprak lekesine karşı dayanıklılık kaynaklarının SCAR markörler ile incelendiği bu çalışmada, tüm primerlerden istenilen büyüklükte amplifikasyon ürünü elde edilmiştir (Şekil 1). SH13 primeri ile dominant *Phg-1* geni taranmış ve Boncuk, Elkoca-5, Asya, Aslan, Yalova-17, Bulduk, Akman-98, Önceler, Yakutiye, Akdağ, Sazova, Işıklı, Mina, Helda

**Tablo 1. Çalışmada dayanıklılık genlerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan moleküler markörlerin özellikleri ve PCR koşulları**  
 Table 1. Characteristic and PCR conditions of molecular markers used to determine resistance genes in the study

Hastalık etmeni	Markör	Primer	Gen lokusu	Baz çifti	PCR ürünü (bp)	PCR koşulları	Kaynak
<i>Pseudocercospora griseola</i>	SCAR	SH13	<i>Phg-1</i>	5'-GACGCC ACACCCATTATGTT-3' 5'-GCCACACAGATGGAGCTTTA-3'	520	94 °C 5 dk; 94 °C 30 s, 59 °C 60 s, 72 °C 90 s 35 döngü ve 72 °C 5 dk	de Carvalho ve ark. (1998), de Queiroz ve ark. (2004)
<i>Pseudocercospora griseola</i>	SCAR	SN02	<i>Phg-2</i>	5'-ACCAAGG GGCATTATGAAACAG-3' 5'-ACCAGG GGCAACATACTATG-3'	890	94 °C 30 s, 65 °C 60 s ve 72 °C 90 s 30 Döngü	Nietsche ve ark. (2000)
<i>Pseudocercospora griseola</i>	SCAR	g2303	<i>Phg-ON</i>	5'-GGGGGGGAATCAGG TTCACCA -3' 5'-GGTTTAGGACAACTAATG AGAGTGATGTACCCGTGT -3'	350	94 °C 5 dk; 94 °C 30 s, 59 °C 60 s, 72 °C 90 s 35 döngü ve 72 °C 5 dk	Corrêa ve ark. (2001), Gonçalves-Vidigal ve ark. (2013)



**Şekil 1. Fasulye çeşitlerindeki köşeli yaprak lekeli hastalığına karşı dayanıklılık genleri ile ilişkili amplifikasyon ürünleri**

a: SH13 markörü ile 520 bp büyüklüğündeki *Phg-1* geninin amplifikasyonunu gösteren jel görüntüsü, Oure negro-Dayanıklı (+), To-Hassas (-),  
 b: SN02 markörü ile 890 bp büyüklüğündeki *Phg-2* geninin amplifikasyonunu gösteren jel görüntüsü, Cornell-Dayanıklı (+), To-Hassas (-),  
 c: g2303 markörü 350 bp büyüklüğündeki *Phg-ON* geninin amplifikasyonunu gösteren jel görüntüsü, Oure negro-Dayanıklı (+), Cornell-Hassas (-),  
 M: Marker: GeneRuler 100 bp DNA ladder, Thermo Scientific

Figure 1. Amplification products linked with resistance genes against angular leaf spot disease in bean cultivars

a: Gel image showing the amplification of 520 bp *Phg-1* gene with SH13 marker, Oure negro-Resistant (+), To-Susceptible (-),  
 b: Gel image showing the amplification of 890 bp *Phg-2* gene with SN02 marker, Cornell-Resistant (+), To-Susceptible (-),  
 c: Gel image showing the amplification of 350 bp *Phg-ON* gene with g2303 marker, Oure negro-Resistant (+), Cornell- Susceptible (-),  
 M: Marker: GeneRuler 100 bp DNA ladders, Thermo Scientific

olmak üzere 14 fasulye çeşidi ile Oure negro referansından 520 bp büyüklüğünde amplifikasyon ürünü elde edilerek *Phg-1* genini taşıdıkları belirlenmiştir (Tablo 2). *Phg-2* gen lokusu ile ilişkili SN02 primerinden ise 890 bp büyüklüğünde ürün amplifiye edilmiş ve Alman Ayşe haricinde diğer tüm çeşitlerde bu genin var olduğu tespit edilmiştir. USDA'dan elde edilen Cornell referansının bu gen lokusuna sahip olduğu belirlenmiştir. g2303 primeri ile *Phg-ON* gen lokusu taranmış ve ALS ve antraknoz hastalıkları ile ilişkili sırasıyla 350 ve 1072 bp büyüklüğünde iki adet amplifikasyon ürünü elde edilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda 350 bp amplifikasyon ürünü elde edilen 38 fasulye çeşidi ile referans olarak kullanılan Oure negro çeşidinin *Phg-ON* genini taşıdıkları kabul edilmiştir (Gonçalves-Vidigal ve ark., 2013). Genel olarak 64 fasulye çeşidinin köşeli yaprak lekeli hastalığına karşı dayanıklılık kaynakları incelendiğinde, 14 fasulye çeşidinin *Phg-1* genini, Alman Ayşe haricinde diğer tüm çeşitlerin *Phg-2* ve 38 fasulye çeşidinin *Phg-ON* genini taşıdıkları görülmüştür. Bununla birlikte fasulye çeşitlerinde bulunan gen kombinasyonları incelendiğinde, 18 fasulye çeşidinin tek bir gen, 41 çeşidin 2 adet, 5 fasulye çeşidinin ise (Yalova-17, Boncuk, Aslan, Helda, Akman-98) 3 dayanıklılık genine sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2).

Güney Amerika (Andean) gen havuzuna ait AND 277 çeşidinde tespit edilen *Phg-1* geninin test edilen 14 fasulye çeşidi ile birlikte "Oure negro" referansında var olduğu gözlemlenmiştir. "Oure negro" çeşidinde kalıtım ve allel testleri yapan Sanglard ve ark. (2013) AND 277, BAT 332, Cornell 49-242, MAR-2 ve Mexico 54

genotipleri ile geri melezleme yapmış ve burada yapılan çalışmaya benzer şekilde "Oure negro" çeşidinin diğer dayanıklılık kaynaklarından farklı olarak en az bir dayanıklılık lokusu taşıdığını bildirmişlerdir. Aggarwal ve ark. (2004) ise Malawi'de yaptıkları tarla denemelerinde, AND-277 çeşidinin 2 yıl boyunca hastalığa karşı direnç gösterdiğini ve bunun *Phg-1* gen lokusu ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Brezilya'da ise bu gen lokusunun tek başına 31-17, 31-39, 61-31, 63-19, 63-23, 63-31, 63-35 patotiplerine karşı dayanıklılıkta etkin rol oynadığı bildirilmiştir (Caixeta ve ark., 2005). Bu kapsamda elde edilen sonuçlardan yola çıkılarak Türkiye'de dominant *Phg-1* geni taşıyan fasulye çeşitlerinin patojenin farklı patotiplerine karşı reaksiyonlarında önemli bir fark yaratabileceği ve "Oure negro" gibi farklı dayanıklılık lokuslarının araştırılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir. İlk kez Orta Amerika kökenli "Mexico 54" çeşidinin 8. kromozomunun sonunda tespit edilen *Phg-2* geninin ise çok sayıda dayanıklı genotipte bulunduğu ve birçok izolata karşı dayanıklılıkta etkin rolü olan en güçlü ALS direnç lokusunu temsil ettiği bildirilmiştir (Gil ve ark., 2019). Bu çalışma kapsamında da Cornell referansı ile birlikte test edilen çeşitlerden "Alman Ayşe" haricinde tamamının *Phg-2* genini taşıdıkları görülmüştür. "Cornell" ve "Ruda" çeşitlerinin geri melezlenmesi ile elde edilen bireylerin ALS'ye karşı dayanıklılık kaynaklarının kalıtımını RAPD ve SCAR markörleri ile inceleyen Nietzsche ve ark. (2000), çalışma ile uyumlu olarak Cornell'in *Phg-2* gen lokusu taşıdığını ve *P. griseola*'ya karşı dominant dayanıklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. *Phg-ON* gen lokusunun ise 38 fasulye çeşidi ve "Oure

**Tablo 2. Çalışma kapsamında ele alınan taze, kuru ve barbunya fasulye çeşitlerindeki dayanıklılık genlerinin dağılımı**

Table 2. Distribution of resistance genes in green, dry and pinto bean cultivars investigated within the study

Fasulye çeşidi	<i>Phg-1</i>	<i>Phg-2</i>	<i>Phg-ON</i>	Fasulye çeşidi	<i>Phg-1</i>	<i>Phg-2</i>	<i>Phg-ON</i>		
Taze fasulye tipi				Taze fasulye tipi					
1	Seher yıldızı	-	+	-	34	Gina	-	+	+
2	Zeynebim	-	+	-	35	Işıklı	+	+	-
3	Boncuk	+	+	+	36	Askız	-	+	-
4	Magnum	-	+	+	Kuru fasulye tipi				
5	Java	-	+	-	37	Bulduk	+	+	-
6	Asya	+	+	-	38	Akın	-	+	+
7	Sofia	-	+	+	39	Akman 98	+	+	+
8	Volare	-	+	+	40	Terzibaba	-	+	+
9	Özayşe	-	+	+	41	Önceler	+	+	-
10	Yalova 5	-	+	+	42	Berrak	-	+	+
11	Yalova 17	+	+	+	43	Yakutiye	+	+	-
12	Perolar	-	+	+	44	Akdağ	+	+	-
13	Gelincik	-	+	+	45	Göynük	-	+	-
14	Hanımteni	-	+	+	46	Güngör	-	+	+
15	Tavil	-	+	+	47	Elkoca-5	+	+	-
16	Miray	-	+	+	48	Aras 98	-	+	+
17	Nazende	-	+	+	49	Sururbey	-	+	+
18	Alman Ayşe	-	-	+	50	Cihan	-	+	+
19	Mina	+	+	-	51	Özdemir	-	+	-
20	Sarıköz	-	+	-	52	Kantar-5	-	+	+
21	Helda	+	+	+	53	Selim	-	+	+
22	Albeni	-	+	-	54	Aslan	+	+	+
23	Bona	-	+	+	55	Göksun	-	+	+
24	Romano	-	+	-	56	Mecidiye	-	+	+
25	Remi	-	+	-	57	Karacaşehir-9	-	+	+
26	Sülün	-	+	-	58	Zirve	-	+	+
27	Bourgoundia	-	+	+	59	Batallı	-	+	-
28	4f 89 Fransız	-	+	-	60	Zülbiye	-	+	-
29	Sembol	-	+	+	Barbunya fasulye tipi				
30	Nina	-	+	+	61	Belinay Sırık	-	+	+
31	40 günlük	-	+	+	62	Sırık barbunya	-	+	-
32	Karabacak	-	+	+	63	Klas	-	+	-
33	Sazova	+	+	-	64	Buse Oturak	-	+	-

negro” referansında bulunduğu belirlenmiştir. Referans olarak kullanılan “Oure negro” çeşidinin antraknoza karşı dayanıklılıkla ilişkili *Co-10* (1072 bp) ve ALS’ye karşı *Phg-ON* (350 bp) dayanıklılık lokuslarını kromozomda yakın bulundurması nedeniyle birlikte kalıtım sağladığı ve g2303 markörünün her iki dayanıklılık geninin taranmasında faydalı olduğu bildirilmiştir (Gonçalves-Vidigal ve ark., 2013). Yapılan PCR çalışmalarında her iki hastalığa karşı dayanıklılık genleri ile ilişkili olduğu bildirilen büyüklüklerde amplifikasyon ürünleri elde edilmiş ve iki gen lokusu birlikte tespit edilmiştir.

Köşeli yaprak lekesine karşı dayanıklılığın genellikle tek bir dominant gen ile yönetildiği bildirilmektedir (Anonymous, 1996; de Carvalho ve ark., 1998; Ferreira ve ark., 2000; Mahuku ve ark., 2004). Ancak bitkilerde hastalıklara karşı farklı gen kombinasyonlarının piramitlenmesi ile genler arasındaki sinerjik etkileşimlerin meydana geldiği ve buna bağlı olarak tek bir genin

etkisinden daha yüksek bir direnç sağlandığı bilinmektedir (Miklas ve ark., 2000; Padder ve ark., 2017; Nay ve ark., 2019). Türkiye’de yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan fasulye çeşitlerindeki *Phg-1*, *Phg-2* ve *Phg-ON* dayanıklılık genlerinin incelendiği bu çalışmada farklı gen kombinasyonlarının olduğu belirlenmiştir. Sazova, Işıklı, Mina, Elkoca-5, Bulduk, Önceler, Yakutiye, Akdağ ve Asya olmak üzere 9 çeşidin *Phg-1+Phg-2* genlerini içerdiği, 32 çeşidin ise *Phg-2+Phg-ON* kombinasyonuna sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra Yalova-17, Boncuk, Aslan, Helda ve Akman-98 çeşitlerinin incelenen tüm gen kaynaklarına (*Phg-1+Phg-2+Phg-ON*) sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). Benzer şekilde gen kombinasyonlarının ALS’nin 61-63 patotipine karşı etkinliğini inceleyen Ddamulira ve ark. (2015) dayanıklı ve hassas fasulye çeşitlerinin çaprazlanması ile elde edilen hatlarda 4 gen içerenlerin, iki veya üç gen içerenlere göre daha dayanıklı olduğunu ve hassas çeşitlerde direnci

sağlamada kombine dayanıklılığa sahip bireylerin, bireysel dayanıklılıktan daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

#### 4. Sonuçlar

Elde edilen sonuçlar, incelenen fasulye çeşitlerindeki dayanıklılık genlerinin tek başına ve farklı gen kombinasyonlarını farklı sayılarda sahip olduğunu göstermiş ve her birinin bu hastalığa karşı dayanıklılıkta potansiyel bir gen kaynağı olduğunu ortaya koymuştur. Özellikle *Phg-1+Phg-2+Phg-ON* gen kombinasyonunu birarada barındıran Yalova-17, Boncuk, Aslan, Helda ve Akman-98 çeşitlerinin yapılacak ıslah çalışmalarında genitör bitki olarak kullanılmasının oldukça faydalı olacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte Türkiye’de yetiştirilen diğer yerel çeşit ve genotiplerin de farklı dayanıklılık kaynaklarının incelenmesi ve gen kombinasyonlarının belirlenmesi bu etmenle mücadelede daha başarılı sonuçlar sağlayacaktır. Ayrıca markör destekli seleksiyon yöntemi ile dayanıklılık kaynakları belirlenen fasulye çeşit ve genotiplerinin etmene karşı reaksiyonlarının belirlenmesi üzerine yapılacak ilave çalışmaların da ıslah çalışmalarının etkinliğinin artırılmasında önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

#### Yazarların Katkı Beyanı

Yazarlar makaleye eşit katkıda bulduklarını, makalenin yayına hazır son halini gördüklerini/okuduklarını ve onayladıklarını beyan ederler.

#### Finansman

Bu çalışma, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından “2016.10.07.1091” ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından “120O576” nolu proje ile desteklenmiştir.

#### Çıkar Çatışması Beyanı

Tüm yazarlar, bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

#### Kaynaklar

Abadio, A.K.R., Lima, S.S., Santana, M.F., Salomão, T.M.F., Sartorato, A., Mizubuti, E.S.G., Araújo, E.F., de Queiroz, M.V., 2012. Genetic diversity analysis of isolates of the fungal bean pathogen *Pseudocercospora griseola* from central and southern Brazil. *Genetic and Molecular Research*, 11(2): 1272-1279.

Aggarwal, V.D., Pastor-Corrales, M.A., Chirwa, R.M., Buruchara, R.A., 2004. Andean beans (*Phaseolus vulgaris* L.) with resistance to the angular leaf spot pathogen (*Phaeoisariopsis griseola*) in southern and eastern Africa. *Euphytica*, 136(2): 201-210.

Anonim, 2021. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Türkiye İstatistik Kurumu, (<http://www.tuik.gov.tr>), (Erişim tarihi: 20.02.2021).

Anonymous, 1996. Fasulye Dayanıklılık Kaynakları. International Center for Tropical Agriculture (CIAT), (<https://www.ciat.com/>), (Erişim tarihi: 10.01.2022).

Anonymous, 2012. DNA Ekstraksiyon Yöntemi. Diversity Arrays Technology, (<http://www.diversityarrays.com>), (Erişim tarihi: 20.03.2021).

Anonymous, 2021. Crops and Livestock Products. Food and Agriculture Organization of the United Nations, (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>), (Erişim tarihi: 20.04.2021).

Busogoro, J.P., Jijakli, M.H., Lepoivre, P., 1999a. Identification of a novel source of resistance to angular leaf spot disease of common bean within the secondary gene pool. *Plant Breeding*, 118(5): 417-423.

Busogoro, J.P., Jijakli, M.H., Lepoivre, P., 1999b. Virulence variation and RAPD polymorphism in African isolates of *Phaeoisariopsis griseola* (Sacc.) Ferr., the causal agent of angular leaf spot of common bean. *European Journal of Plant Pathology*, 105(6): 559-569.

Caixeta, E.T., Borém, A., Alzate-Marin, A.L., Fagundes, S.D.A., Silva, M.G.D.M., de Barros, E.G., Moreira, M.A., 2005. Allelic relationships for genes that confer resistance to angular leaf spot in common bean. *Euphytica*, 145(3): 237-245.

Corrêa, R.X., Good-God, P.I., Oliveira, M.L., Nietzsche, S., Moreira, M.A., Barros, E.G., 2001. Inheritance of resistance to the common bean angular leaf spot and identification of molecular markers flanking the resistance locus. *Fitopatologia Brasileira*, 26(1): 27-32.

Correa-Victoria, F.J., Pastor-Corrales, M.A., Saettler, A.W., 1989. Angular leaf spot. In: H.F. Schwartz and M.A. Pastor-Corrales (Eds.), *Bean Production Problems in the Tropics*, CIAT, Cali, Colombia, pp. 59-75.

Ddamulira, G., Mukankusi, C., Edema, R., Sseruwagi, P., Gepts, P., 2014. Identification of new sources of resistance to angular leaf spot among Uganda common bean landraces. *Canadian Journal of Plant Breeding*, 2(2): 55-65.

Ddamulira, G., Mukankusi, C., Ochwo-Ssemakula, M., Edema, R., Sseruwagi, P., Gepts, P., 2015. Gene pyramiding improved resistance to angular leaf spot in common bean. *American Journal of Experimental Agriculture*, 9(2): 1-12.

de Carvalho, G.A., Paula Junior, T.J., Alzate-Marin, A.L., Nietzsche, S., Barros, E.G., Moreira, M.A., 1998. Inheritance of resistance of the Andean bean line AND-277 to race 63-23 of *Phaeoisariopsis griseola* and identification of a RAPD marker linked

- to the resistance gene. *Fitopatologia Brasileira*, 23: 482-485.
- de Jesus, W.C., do Vale, F.X.R., Coelho, R.R., Hau, B., Zambolim, L., Costa, L.C., Filho, A.B., 2001. Effects of angular leaf spot and rust on yield loss of *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology*, 91(11): 1045-1053.
- de Queiroz, V.T., de Sousa, C.S., Costa, M.R., Sanglad, D.A., Arruda, K.M.A., de Souza, T.L.P.O., Ragagnin, V.A., de Barros, E.G., Moreira, M.A., 2004. Development of SCAR markers linked to common bean angular leaf spot resistance genes. *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 47: 237-238.
- Ferreira, C.F., Borém, A., Carvalho, G.A., Nietsche, S., Paula, T.J., Jr., Barros, E.G., Moreira, M.A., 2000. Inheritance of angular leaf spot resistance in common bean and identification of a RAPD marker linked to a resistance gene. *Crop Science*, 40(4): 1130-1133.
- Gil, J., Solarte, D., Lobaton, J.D., Mayor, V., Barrera, S., Jara, C., Raatz, B., 2019. Fine-mapping of angular leaf spot resistance gene *Phg-2* in common bean and development of molecular breeding tools. *Theoretical and Applied Genetics*, 132(7): 2003-2016.
- Gonçalves-Vidigal, M.C., Cruz, A.S., Garcia, A., Kami, J., Vidigal Filho, P.S., Sousa, L.L., 2011. Linkage mapping of the *Phg-1* and *Co-14* genes for resistance to angular leaf spot and anthracnose in the common bean cultivar AND 277. *Theoretical and Applied Genetics*, 122(5): 893-903.
- Gonçalves-Vidigal, M.C., Cruz, A.S., Lacanallo, G.F., Vidigal Filho, P.S., Sousa, L.L., Pacheco, C.M.N.A., Pastor-Corrales, M.A., 2013. Co-segregation analysis and mapping of the anthracnose *Co-10* and angular leaf spot *Phg-ON* disease-resistance genes in the common bean cultivar Ouro Negro. *Theoretical and Applied Genetics*, 126(9): 2245-2255.
- Hall, R., 1994. Compendium of bean diseases. In: R. Hall (Ed.), *Infectious Diseases*, APS Press, Minnesota, pp. 15-16.
- Johnson, E., Miklas, P.N., Stavely, J.R., Martinez-Cruzado, J.C., 1995. Coupling-and repulsion-phase RAPDs for marker-assisted selection of PI 181996 rust resistance in common bean. *Theoretical and Applied Genetics*, 90(5): 659-664.
- Keller, B., Manzanares, C., Jara, C., Lobaton, J.D., Studer, B., Raatz, B., 2015. Fine-mapping of a major QTL controlling angular leaf spot resistance in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 128(5): 813-826.
- Mahuku, G.S., Henríquez, M.A., Montoya, C., Jara, C., Teran, H., Beebe, S., 2011. Inheritance and development of molecular markers linked to angular leaf spot resistance genes in the common bean accession G10909. *Molecular Breeding*, 28(1): 57-71.
- Mahuku, G.S., Iglesias, Á.M., Jara, C., 2009. Genetics of angular leaf spot resistance in the Andean common bean accession G5686 and identification of markers linked to the resistance genes. *Euphytica*, 167(3): 381-396.
- Mahuku, G.S., Jara, C., Cuasquer, J.B., Castellanos, G., 2002. Genetic variability within *Phaeoisariopsis griseola* from Central America and its implications for resistance breeding of common bean. *Plant Pathology*, 51(5): 594-604.
- Mahuku, G.S., Montoya, C., Henríquez, M.A., Jara, C., Teran, H., Beebe, S., 2004. Inheritance and characterization of angular leaf spot resistance gene present in common bean accession G 10474 and identification of an AFLP marker linked to the resistance gene. *Crop Science*, 44(5): 1817-1824.
- Miklas, P.N., Larsen, R.C., Riley, R., Kelly, J.D., 2000. Potential marker-assisted selection for bc-1 2 resistance to beancommon mosaic potyvirus in common bean. *Euphytica*, 116(3): 211-219.
- Namayanja, A., Buruchara, R., Mahuku, G., Rubaihayo, P., Kimani, P., Mayanja, S., Eyedu, H., 2006. Inheritance of resistance to angular leaf spot in common bean and validation of the utility of resistance linked markers for marker assisted selection outside the mapping population. *Euphytica*, 151(3): 361-369.
- Nay, M.M., Souza, T.L., Raatz, B., Mukankusi, C.M., Gonçalves-Vidigal, M.C., Abreu, A.F., Pastor-Corrales, M.A., 2019. A review of angular leaf spot resistance in common bean. *Crop Science*, 59(4): 1376-1391.
- Nietsche, S., Borém, A., Assis De Carvalhos, G., De Paula Júnior, T.J., Fortes Ferreira, C., Gonçalves De Barros, E., Alves Moreira, M., 2001. Genetic diversity of *Phaeoisariopsis griseola* in the state of Minas Gerais, Brazil. *Euphytica*, 117(1): 77-84.
- Nietsche, S., Borém, A., Carvalho, G.A., Rocha, R.C., Paula, T.J., De Barros, E.G., Moreira, M.A., 2000. RAPD and SCAR markers linked to a gene conferring resistance to angular leaf spot in common bean. *Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift*, 148(2): 117-121.
- Oblessuc, P.R., Baroni, R.M., Garcia, A.A.F., Chioratto, A.F., Carbonell, S.A.M., Camargo, L.E.A., Benchimol, L.L., 2012. Mapping of angular leaf spot resistance QTL in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under different environments. *BMC Genetic*, 13(1): 1-9.
- Padder, B.A., Sharma, P.N., Awale, H.E., Kelly, J.D., 2017. *Colletotrichum lindemuthianum*, the causal agent of bean anthracnose. *Journal of Plant Pathology*, 99(2): 317-330.
- Palacioğlu, G., 2021. Evaluation of Phg-resistance genes in common bean cultivars in Turkey to *Pseudocercospora griseola*, the causal agent of ALS disease. III. *Balkan Agricultural Congress*, 29 August-01 September, Edirne, Turkey, pp. 144.
- Pastor-Corrales, M.A., Jara, C., Singh, S.P., 1998. Pathogenic variation in, source of, and breeding for resistance to *Phaeoisariopsis griseola* causing angular leaf spot in common bean. *Euphytica*, 103(2): 161-171.



- Ragagnin, V.A., Sanglard, D.A., de Souza, T.L.P.O., Costa, M.R., Moreira, M.A., de Barros, E.G., 2005. A new inoculation procedure to evaluate angular leaf spot disease in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) for breeding purposes. *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 48: 90-91.
- Rodríguez, D., Beaver, J., Jensen, C.E.D., Porch, T., 2019. Identification of resistance sources of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to angular leaf spot (*Pseudocercospora griseola*). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 72(2): 8785-8791.
- Sanglard, D.A., Ribeiro, C.A.G., Balbi, B.P., Arruda, K.M.A., de Barros, E.G., Moreira, M.A., 2013. Characterization of the angular leaf spot resistance gene present in common bean cultivar Ouro Negro. *Journal of Agricultural Science*, 5(2): 19-23.
- Sartorato, A., Alzate-Marin, A.L., 2004. Analysis of the pathogenic variability of *Phaeosariopsis griseola* in Brazil. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, 47: 235-237.
- Sartorato, A., Nietsche, S., Barros, E.G., Moreira, M.A., 1999. Inheritance of angular leaf spot resistance and RAPD markers linked to disease resistance gene in common beans. *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative*, 42: 21-22.
- Schmutz, J., McClean, P.E., Mamidi, S., Wu, G.A., Cannon, S.B., Grimwood, J., 2014. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications. *Nature Genetics*, 46(7): 707-713.
- Stenglein, S., Ploper, L.D., Vizgarra, O., Balatti, P., 2003. Angular leaf spot: a disease caused by the fungus *Phaeosariopsis griseola* (Sacc.) Ferraris on *Phaseolus vulgaris* L. *Advances in Applied Microbiology*, 52: 209-243.
- Teixeira Caixeta, E., Borém, A., de Azevedo Fagundes, S., Nietsche, S., Gonçalves de Barros, E., Alves Moreira, M., 2003. Inheritance of angular leaf spot resistance in common bean line BAT 332 and identification of RAPD markers linked to the resistance gene. *Euphytica*, 134(3): 297-303.

**ALINTI:** Palacioğlu, G., Özer, G., Yeken, M.Z., Ören, E., Çiftçi, V., Bayraktar, H., 2022. Türkiye'deki Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşitlerinin Köşeli Yaprak Lekesi Hastalığı (*Pseudocercospora griseola*)'na Karşı Dayanıklılık Kaynaklarının Araştırılması. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 9(3): 295-303.

**CITATION:** Palacioğlu, G., Özer, G., Yeken, M.Z., Ören, E., Çiftçi, V., Bayraktar, H., 2022. Investigation of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Varieties in Türkiye for Resistance Sources to Angular Leaf Spot Disease (*Pseudocercospora griseola*). *Turkish Journal of Agricultural Research*, 9(3): 295-303. (In Turkish).