

T.C.

BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

BAZI YEREL FASULYE HAT VE ÇEŞİTLERİNDE BCMV (BEAN COMMON MOSAIC VIRUS), BGYMV (BEAN GOLDEN YELLOW MOSAIC VIRUS) VE CTV (CURLY TOP VIRUS) HASTALIKLARINA KARŞI DAYANIKLILIK GENLERİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERNA SİVİL

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. İSMAİL POYRAZ

BİLECİK, 2022

10480827

T.C.

BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

BAZI YEREL FASULYE HAT VE ÇEŞİTLERİNDE BCMV (BEAN COMMON MOSAIC VIRUS), BGYMV (BEAN GOLDEN YELLOW MOSAIC VIRUS) VE CTV (CURLY TOP VIRUS) HASTALIKLARINA KARŞI DAYANIKLILIK GENLERİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BERNA SİVİL

TEZ DANIŞMANI

DOÇ. DR. İSMAİL POYRAZ

BİLECİK, 2022

10480827

BEYAN

Bazı yerel fasulye hat ve çeşitlerinde BCMV (bean common mosaic virus), BGYMV (bean golden yellow mosaic virus) ve CTV (curly top virus) hastalıklarına karşı dayanıklılık genlerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi adlı yüksek lisans tezimin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

| | |
|---|----------------------------|
| Bu çalışmanın, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte, ETİK KURUL onayı alınması durumunda ise ETİK KURUL tarih karar ve sayı bilgilerinin beyan edilmesi gerekmektedir. | |
| DESTEK ALINMIŞTIR | DESTEK ALINMAMIŞTIR |
| Destek alındı ise; | |
| Destekleyen kurum; | |
| Desteğin Türü | Proje Numarası |
| 1- BAP (Bilimsel Araştırma Projesi) | |
| 2- TÜBİTAK | |
| Diğer;..... | |
| ETİK KURUL onayı var ise; | |
| ETİK KURUL karar tarih/sayı: |/..... |

Berna Sivil

Tarih

.....

İmza

.....

ÖN SÖZ

Lisans eğitimimde olduğu gibi yüksek lisans eğitimimde de tez çalışma ve sunma imkânı veren, değerli bilgilerinden yararlandığım, ilgi ve desteğini esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. İsmail POYRAZ' a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışma aşamalarında bilgilerinden yararlandığım, laboratuvar çalışmalarında desteğiyle yanımda olan Burcu BOZ ÖZMEN'e teşekkür ederim.

Manevi anlamda hep yanımda olan, tez çalışmam sırasında desteklerinden dolayı Ali Kaan ACAR'a ve Sevim SİVİL'e derin duygularıyla teşekkür ederim.

Berna Sivil
2022

ÖZET

BAZI YEREL FASULYE HAT VE ÇEŞİTLERİNDE BCMV (BEAN COMMON MOSAİC VİRUS), BGYM (BEAN GOLDEN YELLOW MOSAİC VİRUS) VE CTV (CURLY TOP VİRUS) HASTALIKLARINA KARŞI DAYANIKLILIK GENLERİNİN MOLEKÜLER YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Baklagiller arasında dünyada en fazla yetiştirilen tür fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)'dir ve bakliyat üretiminin %75'ini kapsadığı bildirilmektedir. Ülkemizde ve dünyada yaygın kullanılan ve temel besin maddeleri arasında yer alan baklagillerden fasulyenin üretiminde, viral hastalıklardan kaynaklanan ciddi ekonomik kayıplar yaşanmaktadır. Bean Common Mosaic Virus (BCMV), Bean Golden Yellow Mosaic Virus (BGYMV) ve Curly Top Virus (CTV), fasulye üretim alanlarında yaygın olarak görülen ve önemli verim kayıplarına neden olan viral hastalıklardır. Viral kökenli fasulye hastalıklarıyla mücadelede, günümüzde kimyasal ilaçlar yaygın olarak kullanılsa da bu yöntemin hem ekonomik hem de sağlıklı olmadığı görülmektedir. Bu hastalık etmenlerine karşı etkili, sağlıklı ve pratik alternatif bir mücadele yöntemi ise, ıslah çalışmalarıyla doğal dirençli çeşitlerin kullanılmasıdır. Fasulye viral etmenlerine karşı tanımlanmış farklı dayanıklılık genleri bulunmaktadır. Bitkilerde dayanıklılık genlerinin tespitinde kullanılan moleküler markörler, günümüz ıslah çalışmalarında da yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, otuz yedi farklı yerel fasulye (*Phaseolus vulgaris*) hat ve çeşidinde BCMV, BGYMV ve CTV'nin neden olduğu hastalıklara karşı dayanıklılık genleri SCAR (diziye karakterize çoğaltılan bölgeler) moleküler markörler (SBD5, Q14, ROC11, SAS8, elf4E, SW12, SG6, SW13, SR2) kullanılarak araştırılmıştır. Kontrol grubu (dış grup) olarak *Phaseolus coccineus* türü kullanılmıştır. Bitkilerden DNA izolasyonları klasik CTAB (Cetyltrimethylammonium Bromide) yöntemiyle yapılmıştır. Her bir direnç gen markörü için ayrı ayrı gerçekleştirilen PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) amplifikasyonları, Etidyum Bromür içeren %1,3'lük agaroz jelde yürütülmüş ve dijital olarak görüntülenmiştir. PCR amplifikasyon sonuçlarına göre, farklı fasulye hat ve çeşitlerinin direnç gen durumları belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen verilerin, ülkemiz ve dünyada viral hastalıklara karşı dayanıklı fasulye çeşitlerinin ıslahına önemli katkı sağlayacağı ve önemli bir veri tabanı niteliğinde olacağı öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fasulye, BCMV, BGYMV, CTV, SCAR Markör.

ABSTRACT

DETERMINATION OF RESISTANCE GENES AGAINST BCMV (BEAN COMMON MOSAIC VIRUS), BGYMV (BEAN GOLDEN YELLOW MOSAIC VIRUS) VE CTV (CURLY TOP VIRUS) BY MOLECULAR METHODS IN SOME LOCAL BEAN LINES AND VARIETIES

Among legumes, bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the most grown type in the world and it is reported that it covers 75% of pulses production. Serious economic losses are experienced due to viral diseases in the production of beans from legumes, which are widely used in our country and in the world and are among the basic nutrients. Bean Common Mosaic Virus (BCMV), Bean Golden Yellow Mosaic Virus (BGYMV), and Curly Top Virus (CTV) are viral diseases that are common in bean production areas and cause significant yield losses. In the fight against viral bean diseases, although chemical drugs are widely used today, it is seen that this method is not both economical and healthy. An effective, healthy, and practical alternative control method against these disease agents is the use of naturally resistant varieties through breeding studies. There are different resistance genes identified against bean viral agents. Molecular markers used in the detection of resistance genes in plants are also widely used in today's breeding studies. In this study, SCAR (sequence characterized amplified regions) molecular markers (SBD5, Q14, ROC11, SAS8, elf4E, SW12, SG6, SW13, SR2) genes for resistance to diseases caused by BCMV, BGYMV, and CTV in thirty-seven different native bean (*Phaseolus vulgaris*) lines and cultivars. was investigated using *Phaseolus vulgaris* species was used as the control group (outgroup). DNA isolations from plants were made by the classical CTAB (Cetyltrimethylammonium Bromide) method. PCR (polymerase chain reaction) amplifications performed separately for each resistance gene marker were run on a 1.3% agarose gel containing Ethidium Bromide and digitally visualized. According to PCR amplification results, the resistance gene status of different bean lines and cultivars was determined. It is predicted that the data obtained from the study will contribute to the breeding of bean varieties resistant to viral diseases in our country and in the world and will be an important database.

Keywords: Bean, BCMV, BGYMV, CTV, SCAR Marker.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| ÖN SÖZ..... | i |
| ÖZET..... | ii |
| ABSTRACT..... | iii |
| İÇİNDEKİLER..... | iv |
| ÇİZELGELER LİSTESİ..... | vi |
| ŞEKİLLER LİSTESİ..... | vii |
| KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ..... | viii |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİ..... | 4 |
| 2.1. Bakliyatlar..... | 4 |
| 2.2. Fasulye (<i>Phaseolus vulgaris</i>)..... | 5 |
| 2.3. Fasulye Bitkisel Özelliği..... | 7 |
| 2.4. Fasulye Yetiştiriciliği..... | 9 |
| 2.5. Fasulyede Toprak İsteği..... | 10 |
| 2.6. Fasulyenin Sıcaklık İsteği..... | 10 |
| 2.7. Fasulyenin Üretimi..... | 11 |
| 2.7.1. Fasulyenin Ekonomik Önemi..... | 11 |
| 2.8. Bitki Savunma Sistemi..... | 12 |
| 2.8.1. Bitkilerde Virüslere Karşı Yapısal Dayanıklılık..... | 14 |
| 2.8.2. Bitkilerde Virüslere Karşı Biyokimyasal Dayanıklılık..... | 14 |
| 2.8.3. Bitkide Virüslere Karşı Kalıtsal Dayanıklılık..... | 14 |
| 2.8.4. Bitkilerde Virüslere Karşı Protein Kaynaklı Koruma..... | 14 |
| 2.9. Fasulye Bitkisinde Hastalık Oluşturan Virüsler..... | 17 |
| 2.9.1. BCMV (Bean Common Mosaic Virus)..... | 17 |
| 2.9.2. BGYMV (Bean Golden Yellow Mosaic Virus)..... | 19 |
| 2.9.3. BCTV (Curly Top Virus)..... | 20 |
| 2.10. Bitki Direnç Genlerinin Tespitinde Kullanılan Moleküler Markörler..... | 21 |
| 2.10.1. SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) Markör..... | 23 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM..... | 24 |
| 3.1. Çalışmada Kullanılan Fasulye Hat ve Çeşitleri..... | 24 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2.DNA İzolasyonu..... | 24 |
| 3.3.PCR (Polymerase Chain Reaction) ve Kullanılan Primerler..... | 25 |
| 3.4. PCR Ürünlerinin AgaroZ Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi..... | 27 |
| 4. BULGULAR | 29 |
| 5.TARTIŞMA/SONUÇ | 34 |
| KAYNAKÇA | 40 |

ÇİZELGELER LİSTESİ

| | |
|--|-----------|
| Çizelge 2.1. Fasulye bitkisinin sistematigi | 5 |
| Çizelge 2.2. Fasulyenin içeriğindeki bileşenler | 6 |
| Çizelge 2.3. Fasulyenin içeriğindeki vitaminler | 6 |
| Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan fasulye hat ve çeşitleri | 24 |
| Çizelge 3.2. CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) Tampon Hazırlığı | 25 |
| Çizelge 3.3. PCR Bileşenleri ve Kullanım Miktarları | 26 |
| Çizelge 3.4. Çalışmada Kullanılan SCAR Primerleri ve Dizi Bilgisi | 26 |
| Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan SCAR primerler için direnç gen tipi, PCR bant ürün boyutu ve patojen tipi | 27 |
| Çizelge 5.1. Çalışmada kullanılan fasulye hat ve çeşitlerinin BCMV, BGYMV ve CTV enfeksiyonlarına karşı dayanıklılık gen durumları | 35 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | |
|--|-----------|
| Şekil 2.1. Fasulye Baklası ve Danesi | 6 |
| Şekil 2.2. Kuru Fasulye Çeşitleri..... | 8 |
| Şekil 2.3. Bombay ve Sıra Fasulye | 9 |
| Şekil 2.4. Sıra ve Ocak usulü fasulye ekimi..... | 9 |
| Şekil 2.5. Bitki Hücresinin Patojen Enfeksiyonu ve Savunma Mekanizması | 15 |
| Şekil 2.6. GYMV Enfeksiyonu | 19 |
| Şekil 3.1. 100 bç plus DNA Ladder Marker..... | 28 |
| Şekil 4.1. SAS8 primeri ile kurulan PCR jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri | 29 |
| Şekil 4.2. eIF4E primeri ile kurulan PCR jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri | 30 |
| Şekil 4.3. SG6 primeri ile kurulan PCR jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri | 30 |
| Şekil 4.4. SR2 primeri ile kurulan PCR jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri | 31 |
| Şekil 4.5. SW13 primeri ile kurulan PCR jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38:Fasulye hat ve çeşitleri | 31 |
| Şekil 4.6. Q14 primeri ile kurulan PCR jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38:Fasulye hat ve çeşitleri | 32 |
| Şekil 4.7. SBD5 primeri ile kurulan PCR jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38:Fasulye hat ve çeşitleri | 32 |
| Şekil 4.8. SW12 primeri ile kurulan PCR jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38:Fasulye hat ve çeşitleri | 33 |
| Şekil 4.9. ROC11 primeri ile kurulan PCR jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38:Fasulye hat ve çeşitleri..... | 33 |

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

| | |
|-------------------------|--|
| kg | : Kilogram |
| % | : Yüzde |
| yy | : Yüzyıl |
| DNA | : Deoksiribonükleik Asit |
| ark. | : Arkadaşları |
| °C | : Santigrat |
| mg | : Miligram |
| g | : Gram |
| kcal | : Kilokalori |
| ha | : Hektar |
| cm | : Santimetre |
| vir | : Virülent |
| avir | : Avirülent |
| HPZG | : Hidroksi prolince zengin glikoproteinler |
| sn | : Saniye |
| µl | : Mikrolitre |
| F | : Forward |
| R | : Rewers |
| bç | : Baz çifti |
| ng | : Nanogram |
| PCR | : Polymerase Chain Reaction- Polimeraz Zincir Reaksiyonu |
| P. | : <i>Phaseolus</i> |
| dk | : Dakika |
| NaCl | : Sodyum klorür |
| HCl | : Hidrojen klorür |
| EDTA | : Etilendiamin-Tetra Asetik Asit |
| β | : Beta |
| MgCl₂ | : Magnezyum klorür |
| Taq | : Taq polimeraz enzim |
| TBE | : Tris/Borik asit/EDTA |
| EtBr | : Etidyum Bromür |
| UV | : Ultraviole |

1. GİRİŞ

Yemelik olarak kullandığımız baklagiller insan beslenmesinde hem ülkemizde hem de dünyada önemli bir yere sahiptir. Tarla bitkilerinin üretiminde ilk sırada tahıllar var iken ikinci sırada yemelik baklagiller yer almaktadır (Gülümser, A., 2016).Eski çağlardan bugüne kadar yapılagelen çalışmalarda insan diyetinde önemli bir yere sahip olan baklagillerin, mezar kazı çalışmalarında ve mısır piramitlerinde bulgularına rastlanıldığı bildirilmiştir (Kızmaz ve Gümüş, 2021).

Dünyada tane baklagillerden, insan diyetinde karbonhidrat bakımından %7'si, bitkisel protein bakımından %22'si karşılanırken; hayvan diyetinde karbonhidratların %5'i, proteinlerin %38'i karşılanmaktadır. Bakliyatların yapılarındaki protein içeriğinin büyük oranda olması, beslenmedeki eksikliğin karşılanmasında etkin bir rol oynamaktadır. Ayrıca diğer protein gruplarıyla karşılaştırıldığında kolay elde edilebilir olması, ucuz olması, yağ miktarının az, posa değerinin yüksek olması gibi nedenler bu ürün gruplarına talebi arttırmaktadır (Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2020). Dünya da protein ihtiyacının %70'i bitkisel kaynaklardan sağlanırken; bitkisel proteinlerin %48,5'i yemelik tane baklagillerden, %66'sı tahıllardan karşılanmaktadır (Doğan vd., 2011). Yemelik baklagillerden ortalama %18-%36 değerlerinde protein karşılaması ayrıca A, B ve D vitaminlerini bolca bulundurması; kalsiyum, demir, fosfor ve potasyum gibi elementler içermesinden dolayı da beslenmede önemli bir yere sahiptir (Yolci, M, 2020).

Baklagillerden fasulye (*Phaseolus vulgaris*)'nin kolay yetiştirilmesi ve gıda pazarında değerinin yüksek olması nedeniyle dünya genelinde en fazla ekim alanına sahip olan baklagillerdir (Avican, Ö., 2019). Baklagillerin tüketimi incelendiğinde yıllık ortalama kişi başına 3 kg fasulye tüketimi izlenmektedir (Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2015).

Bitki botaniğinde fasulye, baklagiller (*Leguminose*) ailesine bağlı olan ve aynı tür ismi taşıyıp ancak meyve, tohum, çiçek ve şekil bakımından farklılıkları olan bir kültür bitkisidir (Demir, C., 2011). Fasulye, Asya ve Amerika orjinli olmasına rağmen ülkemizde Karadeniz bölgesinde yayılış göstermiş ve ortam koşullarına iyi uyum sağlamış bir bitkidir ancak ülkemizin birçok yerinde ana ürün iken kıyı bölgelerde ikinci üründür. İkinci ürün olmasının sebebi ise verim bakımından iki kez ürün alınması ve ekonomik anlamda yarar sağlamasıdır (Demir, C., 2011). Fasulyenin besin olarak kullanılmasına ek olarak topraktaki organik madde içeriğini arttırması, çapa bitkisi olması, toprağın yapısını düzeltmesi, toprakta azot miktarını arttırması, bitki artıklarının sanayi endüstrisinde kullanılabilmesinden dolayı önemli bir bitki

türüdür (Kızmaz ve Gümüş, 2021). Kuru fasulye üretimi ülkemizde en fazla şu illerde yapılmaktadır; Niğde, Nevşehir, Kahramanmaraş, Aksaray, Balıkesir, Gümüşhane, Karaman, Erzincan, Samsun ve Kütahya'dır. Kuru fasulye üretiminin %76,9'u bu illerden karşılanmaktadır (Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2015). Dünya genelinde en fazla yetiştirilen fasulyeler ise *Phaseolus vulgaris* var. *nanus* ve *Phaseolus vulgaris* var. *comminus*'tur. Halk arasında *Phaseolus vulgaris* var. *nanus*: bodur (yer) fasulyesi olarak bilinirken; *Phaseolus vulgaris* var. *Comminus* ise sırık fasulye olarak bilinmektedir (Demir, C., 2011).

Bitkiler doğadaki bakteri, virüs, viroid, nematodlar ve funguslardan dolayı olumsuz bir şekilde etkilenebilmektedir. Aynı zamanda bu organizmalardan etkilenebildikleri gibi de insanoğlunun yanlış tarımsal faaliyetleri de bitkileri etkilemektedir. Bitkiler doğada birlikte bulunduğu diğer canlılarla buldukları ortamı paylaşmakta ve bazen de bu organizmalarla rekabet etmek zorundadır. Bu organizmalara karşı bazı savunma yöntemleri geliştirmek durumunda kalmaktadır (İlbağı ve Çıtır, 2006). Bitkiler patojen saldırılarına karşı savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Patojenler bitkiye karşı toksin, kimyasal bileşik ve hidrolitik enzim kullanırken bitkilerde patojenlere karşı savunma peptidleri, sekonder metabolitler, antioksidanlar, antimikrobiyal proteinlerini kullanır. Bitkinin patojenlere karşı savunma mekanizması sayesinde oluşacak zarar minimum seviyeye indirilir (Koç ve Üstün, 2008). Bitki patojen enfeksiyonuna karşı yapılan çalışmalarda; enfeksiyona karşı vejetatif organların değişimi şeklinde gözlenen dış-morfolojik değişimler, kutikulanın kalınlaşması gibi iç değişimler, bitki özsuyunun değişimi gibi kimyasal değişimler gözlenebilir. Birçok bitki yüzeyinde, ince mum tabakası bulunur ki bu tabaka su dengesini sağlaması yanında patojenin bitkiye girmesine engel olur. Bu mum tabakası dış-morfolojik uyarılara da örnek olarak gösterilebilir (Keçeci vd., 2007).

Hastalıklar, fasulye bitkisinde kalite ve verim kaybına sebep olan en önemli etkenler arasında gelmektedir. Dünyada ve Türkiye de fasulye yetiştirilmesinde üretimi sınırlayan çok sayıda viral, fungal ve bakteriyel etmenler bulunmaktadır. Virüslere karşı etkin bir mücadelenin olmayışı da bu hastalıkların önemini günden güne arttırmaktadır (Ulum vd., 2020). Fasulye bitkisinde ülkemizde virüsler konusunda birçok araştırma yapılmış ve bunların içinde en önemli virüs hastalığı olarak şunlar bildirilmiştir; Bean common mosaic virus (BCMV- Fasulye adi mozaik virüsü), Bean golden yellow mosaic virus (BGYMV- Fasulye altın sarısı mozaik virüsü), Bean yellow mosaic virus (BYMV- Fasulye sarı mozaik virüsü), Alfalfa mozaik virus (AMV- Yonca mozaik virüsü) Tobacco streak virus (TSV- Tütün şerit virüsü), Tomato aspermy

virus (TAV- Domates aspermi virüsü), Cucumber mosaic virus (CMV- Hıyar mozaik virüsü), Southern bean mosaic virus (SBMV- Güney fasulyesi mozaik virüsü) (Kılıç ve Yardımcı, 2012). Fasulye bitkisinde 14'den fazla sayıda virüsün tohumla taşındığı ve tohumda virüsten kaynaklanan renk değişikliği ile şekil bozukluğu saptanmıştır. Tohum ile taşınan virüslere örnek olarak da; yonca mozaik virüsü (Alfalfa mosaic virüs) ve adi mozaik virüsü (Bean common mosaic virüs) gösterilmektedir (Kutluk Yılmaz vd., 2002).

Bitkinin yapısında hastalık oluşturan virüslere karşı tarımda kimyasal mücadelenin olmayışı, bu etmenlere karşı direncin sağlanamayışı da zamanla hastalığa karşı dayanıklı çeşitlerin kullanıldığı bir mücadelenin önemini arttırmıştır (Kılıç ve Yardımcı, 2012).

Bu çalışmada, özgül markör primerlerinin kullanıldığı PCR analizleriyle bazı yerel fasulye hat ve çeşitlerinin BCMV, BGYMV ve CTV viral etmenlerinin oluşturduğu hastalıklara karşı direnç (dayanıklılık) gen durumlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Elde edilen verilerin viral hastalıklara karşı dayanıklı fasulye çeşitlerinin ıslahında doğrudan kullanılacağı öngörülmektedir.

2. GENEL BİLGİ

2.1. Bakliyatlar

Baklagiller ailesine giren bütün bitkiler, kutup bölgeleri dahil olmamasına rağmen dünyanın çeşitli bölgelerinde yetişme imkanı bulan 12000 türü kapsamaktadır. Baklagiller hem ülkemizde hem de dünyada bitkisel proteinin ana kaynağı olarak kullanılmaktadır. Yemelik tane baklagiller kireççe zengin ve humuslu, fosfor ve azot bakımından zengin, pH'sı 6 ile 8 arasında olan toprakları isterler. Baklagiller besin değeri bakımından zengin olduğu gibi yetiştirildikleri topraklara da çok önemli katkıları vardır (Avican, Ö., 2019).

Baklagil latince kabuklu baklanın hasat edilen tohumları anlamına gelen 'legumen' den türemişken; bakliyat ise yulaf lapası anlamına gelen 'puls' kelimesinden türemiştir. Dünyada tarımsal ticarete baklagillerin önemli bir yeri olmasıyla birlikte; obeziteyi engellemek, diyabet, kanser, kalp hastalıkları gibi bulaşıcı olmayan hastalıkları önlemesi gibi sağlığa olumlu etkilerinden dolayı dünya sağlık örgütü bakliyat tüketimini önermektedir. Ayrıca sağlığa yararlı etkisine katkı olarak düşük fiyatlı olması da baklagillerin tüketimini arttırmaktadır (Sarioğlu ve Velioglu, 2018). Baklagiller insan gıdası olarak tüketilmesi dışında mobilya ve kâğıt üretimi, ilaç ve kozmetik sanayi, boya ve reçine yapımı ve hayvan yetiştiriciliği gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (Kaplan vd., 2018).

Mercimek, nohut, bezelye, börülce ve fasulye gibi yemek yapımında kullanılabilen baklagillerin ham protein içeriği, çeşidine göre değişmektedir ve genellikle protein değeri %20'den fazladır. Örneğin; fasulyede bu oran %25,5 iken soya fasulyesinde %43,7'dir. Kılıç fasulyesinde ise %21 oranında protein içeriği vardır (Avican, Ö., 2019).

Fasulye hem kuru hem taze hem de konserve olarak tüketilebilen, içeriğinde B vitamini demir, fosfor ve protein olması nedeniyle besin içeriği yüksek önemli bir gıdadır. Olgun ve kuru tanelerinde %23-24 oranında yüksek protein içermesi ek olarak lezzetli olmasından dolayı da dünyada yaygın olarak tüketilmektedir (Altıkardeşler, A., 2006).

Fasulyenin *P. vulgaris* ve *P. lunatus* olarak adlandırılan iki türü Amerika'nın keşfinden sonra İspanyollar tarafından dünyaya yayılmış ve 16.yy'de ise İtalya'ya ulaşmış olup; Türkiye, Yunanistan ve İran'da büyük oranda tarım yapılmaya başlanmıştır. Baklagil üretiminin dünya geneline bakıldığında büyük bir çoğunluğunun %67,5 ile fasulye, nohut ve bezelye olduğu görülmektedir (Altıkardeşler, A., 2006).

2.2. Fasulye (*Phaseolus vulgaris*)

Phaseolus vulgaris'e ait en eski bulgular Peru'da bulunmuş olup, bu bulgular 7680-10000 yıl öncesine aittir (Altıkardaşler, A., 2006). *Phaseolus vulgaris* küçük bir genoma sahip olmakla birlikte kromozom sayısı 22 olan diploit bir türdür. Fasulye genellikle kendine döllenmesine rağmen %1'den daha az oranda yabancı döllenme görülebilmektedir (Kızmaz ve Gümüş, 2021).

Çizelge 2.1. Fasulye bitkisinin sistematigi

| | |
|-------------------|------------------------------------|
| Kingdom | Plantae (Bitkiler) |
| Subkingdom | Tracheobionta (Vasküler bitkiler) |
| Division | Magnoliophyta (Çiçekli bitkiler) |
| Class | Magnoliopsida (Dikotiledonlar) |
| Subclass | Rosidae |
| Order | Fabales |
| Family | Fabaceae/Leguminosae (Baklagiller) |
| Genus | <i>Phaseolus</i> L. (Fasulye) |
| Species | <i>Phaseolus vulgaris</i> L. |

Kaynak: (Çil, E., 2006)

Phaseolus cinsine ait dünyada 5 türün; *P. vulgaris* L. (common bean), *P. coccineus* L. (runner bean), *P. lunatus* L. (lima bean), *P. acutifolius* A. Gray (teparty bean) ve *P. polyanthus* Greeman (year bean) ıslahı yapılabilmıştır *P. vulgaris* ile *P. coccineus* arasındaki farklılıkları Linnaeus ve Mendel çalışarak *P. coccineus*'un kökeni bulunmuştur. *P. vulgaris* ile *P. coccineus*'un nükleer DNA'sının benzerlik gösterdiğini Schmit ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile bulunmuştur. *P. polyanthus* ile yakın olan bir tür *P. vulgaris* 'tir. Başarıyla kültüre alınmış olan *P. lunatus*, tropikal şartlara uyumu olan ve verimi çok iyi olan bir türdür. *P. acutifolius* ise yaygın bakteri yanıklığına, kuraklığa ve yüksek sıcaklığa dayanıklıdır (Kızmaz ve Gümüş, 2021).



Şekil 2.1. Fasulye Baklası ve Danesi

Kaynak: (Wikipedia, 2021)

Fasulyenin besin değerine bakıldığında; B₁ vitamini 0.7 (mg/100g), B₂ vitamini 2.4 (mg/100g), kalsiyum 144 (mg/100g), demir 7.8 (g/100g)'dır (Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2015).

Çizelge 2.2. Fasulyenin içeriğindeki bileşenler (verilen değerler gıdanın yenilebilir 100 gr içindir)

| Fasulye (dermason) | |
|--------------------|-------|
| Enerji (kcal) | 281 |
| Protein (g) | 21.75 |
| Karbonhidrat (g) | 29.42 |
| Yağ (g) | 1.35 |
| Fosfor (mg) | 367 |

Kaynak: (Sarioğlu ve Velioglu, 2018)

Çizelge 2.3. Fasulyenin içeriğindeki vitaminler (mg/g)

| | |
|---------------------|---------|
| Alfa-Takofenol (E): | 0,0021 |
| Askorbik asit (C): | 0,45 |
| Tiamin (B1): | 0,00608 |
| Riboflavin (B2): | 0,00215 |
| Niasin (B3): | 0,0211 |
| Piridoksin (B6): | 0,00397 |

Kaynak: (Saleem vd., 2016)

Phaseolus vulgaris L.(fasulye) besin içerikleri ve zengin proteini ile gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Kardeş vd., 2019). Fasulye bitkisinin geçmişten günümüze yapılan çalışmalara bakıldığında genetik bilimine de büyük ölçüde katkı sağlamıştır. Mendel bezelye ile yaptığı çalışmayı doğrulamak için Johnsen ise tohum ağırlıklarının nicel ifadesi için yaptığı çalışmada fasulyeyi kullanmıştır (Gepts, P., 2001).

2.3. Fasulye Bitkisel Özelliği

Kök: Fasulyenin gelişiminde kökler zayıf bir yapıya sahiptir. Kök gelişiminde 3 evre vardır; fasulyenin çiçeklenme dönemine kadar kökler hızla uzar, çiçeklenme evresinde yavaşlar ve meyve olarak adlandırdığımız fasulye ürünleri oluştuğunda duraklama dönemine girer (Keleş, D., 2015).

Gövde: Fasulyenin gövdesi çalı ve bodur olarak 2 farklı yapı gösterir (Keleş, D., 2015). Yer tipi olarak adlandırılan oturak fasulyede ana sapın 15-20 cm'lik kısmında dallanma olmaz, bu noktadan yukarı doğru çıkıldıkça dal oluşumu görülür. Gövde ucu, gelişimin durduğu çiçek salkımı ile son bulur. Oturak (yer tipi) fasulyede 4-8 arasında boğum sayısı varken, sırik fasulyede boğum sayısı sınırsızdır. Yer tipi fasulyede boğum araları kısa iken sırik fasulyede boğum araları uzundur. Gövde şekli gözlemlendiğinde ana dal şeklinde olup sarılcı bir yapısı vardır (Mızrak, G., 2020). Yer tipi fasulye gövdesi: bodur; sırik fasulye gövdesi: çalı olarak adlandırılır (Keleş, D., 2015).

Yaprak: fasulye gelişiminde 2 tip yaprak vardır. İlk gelişen yapraklar embriyonik yaprak, daha sonra gelişip olgunlaşan yaprak gerçek yapraklardır (Mızrak, G., 2020). Fasulye tohumundan ilk gelişen embriyonik yaprak çimlenme (kotiledon) yapraklardır (Keleş, D., 2015). Gerçek yaprak ise kalp şeklinde olup alt kısımları tüylerle kaplıdır ve bu tüyler sayesinde bitki temas ettiği yüzeye yapışır (Mızrak, G., 2020).

Çiçek: bodur fasulye tiplerinde çıkıştan 20-30 gün sonra çiçeklenme başlayıp 15-30 gün arasında vejetasyon sürerken, sırik fasulye tiplerinde 50-60 gün sonra çiçeklenme gözlenir ve vejetasyon süresinin sonuna kadar çiçeklenme devam eder (Keleş, D., 2015).

Meyve: fasulye tohumlarından gelişen meyveler bakla şeklinde olup uzunluğu, genişliği, dolgun veya yassılık, kılçıklılık ve renk bakımından farklılık gösterebilirler (Keleş, D., 2015).

Türk Standartları Enstitüsü (TSE) tarafından Türkiye de yetiştirilen kuru fasulye çeşitleri Pazar durumu ve morfolojik özellikleri bakımından 10 gruba ayrılmıştır çeşitlerine ve ayrılma durumlarına bakıldığında;

1) Barbunya: bu tip kuru fasulyeler yuvarlağa yakın oval şekilli, büyük taneli, tanelerinin üzerinde alacalı renk veya düz bej rengindeki tanelerinde kırmızı çizgiler bulunmaktadır.

2) Çalı: böbrek şeklinde genellikle orta büyüklükte ve beyaz renkteki kuru fasulye çeşididir.

3) Dermason: basık(yassı) şekilli olup ancak bir ucu düz diğer ucu ise yuvarlaktır. Beyaz renkli ve genellikle büyük tanelidir.

4) Selanik: basık(yassı) şekilli olup iki ucu da yuvarlak yapıdadır. Beyaz renkte ve genellikle büyük tanelidir.

5) Horoz: uzun, silindirik şekilli, beyaz renkli ve genellikle orta büyüklükteki kuru fasulyelerdir.

6) Battal: böbrek şeklinde basık(yassı), beyaz renkte, Selanik çeşidinden büyük tanelidir.

7) Şeker: yuvarlak şeklinde olan kuru fasulyeler, büyük taneli ve beyaz renktedir.

8) Tombul: oval şekilde olan kuru fasulyeler beyaz renkte olup genelde küçük tanelidir.

9) Bombay: yapıları oval ve şişkin şekilli, beyaz renkli ve battal çeşidinden büyük taneli kuru fasulyelerdir.

10) Sıra: yapıları basık(yassı), bir ucu yuvarlak bir ucu düz olan, beyaz renkli ve küçük taneli kuru fasulyelerdir (Mızrak, G., 2020).



Şekil 2.2. Kuru fasulye çeşitleri

Kaynak: (Anonim a, Erişim:28.03.2022)



Şekil 2.3. Bombay ve Sıra Fasulye

Kaynak: (Anonim c; Anonim b)

2.4. Fasulye Yetiştiriciliği

Tohumların ekimi iki tipte yapılır: sıra usulü ve ocak usulü.

Sıra usulü: toprak belirli genişlikte dikdörtgen şeklinde bölümlere ayrılır. Bu toprak bölümleri üzerinde belirli aralıklarla ekim yapılır. Bodur tipteki fasulyede ekim aralığı 15-20 cm iken sırk fasulyede ekim aralığı 20-30 cm bırakılır (Isparta tarım orman, Erişim: 25.03.2022)

Ocak usulü: bu tip fasulye ekiminde parseller üzerine açılan 2-3 cm'lik açıklıktaki ocaklara harç konularak tohum ekimi yapılır (Isparta tarım orman, Erişim:25.03.2022)



Şekil 2.4. Sıra ve Ocak usulü fasulye ekimi

Kaynak: (Anonim d, Erişim:28.03.2022; TÜRKTOB, 2014)

Fasulye bitkisinin ekilip geliştikten sonra hasatına kadar geçen sürede yapılması gereken işlemler;

-Fasulye tohumunun yeterli iklim koşulunda ekimi,

- Tohumun çimlenip toprak yüzeyine çıkması
- Tohumun yüzeye çıktıktan sonra etrafındaki yabancı otların çapasının yapılması
- 2 veya 3 hafta sonra toprağın ikinci çapasının yapılması
- Fasulye tohumundan ilk meyve verilmesinden sonra sulama
- Tohumun ilk gelişme evresinde ihtiyaç duyulan minerallerin buna ek olarak hastalıklarla mücadeleye karşı gübrelemedir (Keleş, D., 2015).

2.5. Fasulyede Toprak İsteği

Fasulyenin verimini ve kalitesini arttıran topraklar, organik madde bakımından zengin, su tutma kapasitesi yüksek olan, havalanma koşullarının iyi olduğu yumuşak topraklardır (Isparta Tarım Orman, Erişim:25.03.2022).

Tohum makro elementlerden olan karbon, hidrojen ve oksijen elementlerini havadaki karbondioksitten ve topraktaki sudan sağlar. İhtiyaç duyduğu azotu (N) ise köklerindeki nodoziteler (yumrular) ile havadaki serbest azottan sağlanır. Diğer mikro elementler ise topraktan karşılanır. Ancak bazı durumlar makro ve mikro elementlerin alınımı üzerinde olumsuz etkiler yaratır. Sıcaklığın belirli bir düzeyine kadar topraktan element alınımı artarken, bu düzeyin üzerindeki sıcaklıklarda elementin alınımı olumsuz etkilenir. Işığın yeterli koşullarda alınamaması ise meyve veriminin düşüklüğü ile sonuçlanabilir. Toprak element alınımını etkileyen diğer bir durum, toprak pH'sıdır. Toprak elementlerin alınımında en uygun pH değeri 6,5-7,5 arasındadır. Bu değer üstünde topraktan fosfor alımı zorlaşırken; düşük pH'larda birçok elementin topraktan alınımı zorlaşır bu da gelişim üzerinde olumsuz etkiler yaratır (Mızrak, G., 2020).

2.6. Fasulyenin Sıcaklık İsteği

Fasulye çiçeklenme için yüksek sıcaklık ister. Çimlenme için sıcaklıklar incelendiğinde 15-20 °C'da çiçeklenme olduğu, 15 °C'ın altında çimlenmenin yavaşladığı, 10 derecenin altında veya 35 derecenin üzerinde ise çimlenmenin olmadığı gözlemlenmiştir. Olgunlaşma zamanında hava kuru olmalıdır ayrıca yüksek sıcaklık ve düşük nem çimlenmeyi engeller ve çiçeklerin dökülmesine neden olur. Böylelikle verim ve kalite etkilenir. Gelişim evresinde topraktan yeterli nem karşılanamadığında çiçeklenme azalır. Aynı zamanda nemin fazla olması da baklaların boş olmasıyla sonuçlanır (Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, 2015).

Konsen ve ark. yaptığı çalışmada, çiçek tomurcuk üretiminin 17-27 °C'lık gece-gündüz sıcaklığında durduğu ayrıca tomurcukların dökülmesinde artış olduğunu gözlemlemiştir.

Başka bir yönden bakıldığında yine aynı sıcaklıkta (17-25 °C) bakla tane sayısının ve bakla oluşumunun azaldığını, bakla boyunun gelişimi üzerinde de etki ettiğini gözlemlemişlerdir (Demir, C., 2011).

Fasulye ılıman iklim bitkisidir. Gelişimi için sıcaklığın 20-26 °C'den fazla olması durumunda gelişiminde yavaşlama görülmektedir. Sırik fasulyede 46 gün sonra çiçeklenme olurken; bodur fasulye çeşidinde 43 gün sonra çiçeklenme görülür. Çiçeklenme oluşumuna kadar sıcaklık 20 °C den az, 27 °C den fazla olması ayrıca nemin %50'den az olması da hem çiçeklenme hem de dölleme üzerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Sıcaklık ve gün uzunluğu çiçek tomurcuğunun büyümesinde başlama, devam ettirme ve durdurma gibi gelişim üzerinde önemli etkileri vardır (Demir, C., 2011).

2.7. Fasulyenin Üretimi

Dünya geneline bakıldığında; doğu ve batı Avrupa; doğu Asya; doğu ve güney Afrika; kuzey, güney ve orta Amerika fasulye üretimi yapılan kıtalar olarak karşımıza çıkmaktadır (Kızmaz ve Gümüş,2021). Kuru fasulye üretimi Türkiye'de kuru baklagillerden olan mercimek ve nohuttan sonra üçüncü sıradır (Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü Tarla ve Bahçe Bitkileri Daire Başkanlığı, 2022). 2017 yılında yemeklik baklagillerden dünyada en çok yetiştirilen fasulyenin üretimi 31,5 milyon ton iken ekim alanı 36,5 milyon ha'dır. 2018 yılında Türkiye'de fasulye 220 bin ton üretim ve 84 bin ha ekim alanına sahiptir (Kardeş vd., 2019).

Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2020 yılında kuru fasulye üretim oranlarını %43 oranla Asya kıtası, %30 oranla Amerika, %26 oranla Afrika ve %1 oranla Avrupa kıtası olarak bildirilmiştir. 2020 yılı kuru fasulye üretimi ülke bazında bakıldığında %20 oranla Hindistan, %11 oranla Brezilya ve Myanmar, %5 oranla Çin ve ABD gözlenirken %48 oranında diğer ülkelerin yer aldığı görülmektedir (Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü Tarla ve Bahçe Bitkileri Daire Başkanlığı, 2022).

Kuru fasulye üretimi Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2021 yılında 305 bin ton; Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nün 2020 yılı verilerine göre 27,55 milyon ton kuru fasulye üretimi yapıldığı bildirilmiştir (Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü Tarla ve Bahçe Bitkileri Daire Başkanlığı, 2022).

2.7.1. Fasulyenin Ekonomik Önemi

Türkiye kuru fasulyenin ana vatanı olmadığı halde mikro gen merkezlerine sahip olmasıyla fasulye için hem genetik çeşitlilik hem de yemek kültürü bakımından önemli bir ülke konumundadır (Kan vd., 2019). Ülkemizin her bölgesinde yetişme imkânı bulan fasulye, en çok

İç Anadolu bölgesinde yaygındır. Ekonomide çok önemli bir yeri olan fasulye, çiftçi için önemli bir gelir kaynağıdır (Ulum vd., 2020).

Fasulye bitkisinin içeriğindeki vitaminler, zengin protein miktarı ve karbonhidrat içeriği ile sağladığı yüksek enerjiye ek olarak lezzetinin de beğenilmesinden kaynaklı ülkemizde ve dünyada sıkça tüketilmektedir. Fasulye, Türkiye’de ekim alanı ve üretim bakımından yemeklik tane baklagiller içerisinde nohut ve mercimekten sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Yemeklik baklagillerin hasat ve harman işlerinde makine kullanılmaması ekim alanlarını sınırlandıran en önemli etkenlerde biridir. Hasat işleminde makine kullanılmamasından kaynaklı gerekli iş gücünün sağlanamaması, sağlanması durumunda ise maliyetteki artış bitkinin ekim alanlarındaki artışı etkilemektedir. Bu nedenle yemeklik tane baklagil ıslah araştırmalarında makine kullanılarak gerçekleştirilen tarıma elverişli çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Mevcut alet ve gereç bazı yeniliklerle üreticiye ekonomik olarak temin edilmelidir (Özkaya, E., 2013).

Ülkemizde hem baklagil üretimindeki azalmanın hem de yerel çeşitlerin yok olmasının temel sebepleri arasında maliyetlerdeki artış, fiyatlardaki dalgalanmalar, makul olmayan fiyat politikaları ve döllenmede oluşan sorunlardan kaynaklı verim düşüklüğü yer almaktadır (Kan vd., 2019).

Fasulye üreticilerine sağlanan ekonomik şartların iyileştirilmesi, üretim uygulamalarında yapılan yenilikler, dayanıklı ve verimli fasulye bitkilerinin geliştirilmesi, ekonomide olumlu etkiler yaratır. Her geçen yıl nüfus artışına bağlı olarak hem bitkisel protein kaynağı hem de Türk mutfağının temel gıdalarından biri olmasından kaynaklanan tüketim miktarı bir önceki yıla göre fazla olmaktadır. Bu yüzden geçen yıla göre üretim miktarı bir sonraki yıl üretim miktarına kıyasla daha fazla olması öngörülmektedir (Bolat vd., 2017).

2.8. Bitki Savunma Sistemi

Doğa koşullarında bitkiler sürekli olarak biyotik ve abiyotik stres faktörleriyle karşı karşıya kalmaktadır. Abiyotik faktörler topraktan veya hava koşullarından kaynaklı olup genellikle sorunu gübreleme veya sulama ile giderilebilmektedir. Ancak biyotik stres faktörleri virüs, bakteri veya fungus kaynaklı olmasından dolayı bitkide stres oluşmaması açısından kısmen dış etmenlerle yardımcı olunmaya çalışılsa da, tam anlamıyla stres ortadan kaldırılamamaktadır. Bitkide hastalık kaynaklı oluşan stres, bitkide ürün verimini önemli seviyede etkilemektedir (Gökdemir, F., 2019). Bitkiler virüsler, patojenler, funguslar, nematodlar ve birçok organizma için besin kaynağıdır. Bitkiler evrim sürecinde kendilerine

karşı oluşacak tehdit durumlarına karşı savunma mekanizması geliştirmiştir (Koç ve Üstün, 2008).

Bitki savunma mekanizmasını 3 duruma karşı geliştirmiştir;

-Bitki, tehdit oluşturacak herhangi bir etmene karşı onu tanımamasına izin vermemelidir.

-Bitki, tehdit oluşturacak etmenin hücre içine girmesini önlemelidir

-Bitki, hücre içyapısına ulaşmış etmenin gelişmesini engellemelidir (Koç ve Üstün, 2008).

Patojenler için bol besin ve suyun bulunduğu kaynaklardan biride bitkilerdir. Patojenlerin yaşamları için gerekli olan kaynaklara ulaşmak için canlıların savunma mekanizmalarını geçmeleri gerekmektedir. Yani bitkinin fiziksel ve kimyasal engelini, bitkinin hücre membranında bulunan ve patojeni tanıyan özel bölgeleri ayrıca bitkideki efektör proteinleri algılayan bölgeleri aşması gerekmektedir. Bitkinin dış yüzeyinde bulunan mumsu tabaka, epidermis hücrelerinin etrafındaki proteinler, fenolik bileşikler ve polisakkaritler bitkideki fiziksel ve kimyasal engellere örnektir. Patojenler bu fiziksel ve kimyasal engelleri doğal açıklık, yaralar veya kendi enzimlerinin parçalayıcı özellikleriyle aşarlar (Aksoy ve Armağan, 2012).

Bir bitkide hastalık oluşturabilecek etmen başka bir bitkide hastalık oluşturmayabilir buna genel(temel) dayanıklılık denilirken; konukçunun bitkide oluşturacağı hastalığa karşı geliştirdiği savunma mekanizmasına özel dayanıklılık denir. Genel dayanıklılık, özel dayanıklığa göre daha uzun ömürlüdür (Koç ve Üstün, 2008)

Virüslerin konak bitkide hastalık başlatabilmesi için mutlaka canlı hücre yapısına girmesi gerekmektedir. Virüsler canlı hücre yapısına katılamadığı durumda hastalık oluşturamaz (İlbağı ve Çıtır, 2006). Bitkinin bakteri virüs veya funguslar ile enfeksiyonu sonucunda; enfekte olmuş kısımda oksidatif stres meydana gelmekte ve hücre ölümü gerçekleşmektedir. Böylelikle virüsler ölü hücrelerin olduğu kısımda kalmakta ve diğer bölgelerin enfekte durumu engellenmektedir. Enfekte olan kısımda oluşan bölgesel cevaplar ile bitkide bir dizi sinyal yolları uyarılarak hücre duvarının yapısında değişimler olmaktadır. Böylece hastalık etmeninin hücre içine girişi engellenmektedir (Koç ve Üstün, 2008).

Bitkide enfeksiyona neden olan virüslerle mücadele etmek ve enfeksiyonu kontrol altına almak kolay değildir. Çünkü fiziksel veya kimyasal olarak kullanılacak bir etmenin olmayışı ve ürün veriminin de etkilenmesinden kaynaklı çözüm yolları aranmaktadır. Fasulye bitkisinin üretim koşullarında virüsten kaynaklı enfeksiyonun kontrol altına alınmasında

kültürel yöntemlerin uygulanması, enfeksiyona dirençli çeşitlerin kullanılması mücadelede önemli bir yer tutmaktadır. Ancak virüs kaynaklı hastalığın tamamen kontrol altına alınamaması hastalığın önemini giderek arttırmaktadır. Bitkide virüs kaynaklı oluşan hastalık mevsimden mevsime hatta yıldan yıla yayılışı değişmekte ve sonucunda ortaya çıkan zararın en az seviyeye indirilmesi için öncelikle hastalığı oluşturan virüsün tespiti yapılmalıdır (Kılıç vd., 2013).

Bitkide virüsün hastalık oluşturmada iki durum söz konusudur. Birincisi, bitki ile hastalığı oluşturan virüs arasında kurulacak ilişki sonucunda patojenin yararı ile sonuçlanabilir ve bitkinin ölümü gerçekleşir. İkinci durumda ise bitki histolojik özelliğiyle veya biyokimyasal özelliği ile virüsün hücre içine girişini engellemesi ile sonuçlanır. Bitki virüsün hücre içine girişini engellerken çeşitli dayanıklılık yöntemleri sergilerler (İlbağı ve Çıtır, 2006).

2.8.1. Bitkilerde virüslere karşı yapısal dayanıklılık: Bitkinin anatomik ve morfolojik yapısı, bitkiyi virüs enfeksiyonuna karşı dayanıklı yapmaktadır. Bitkide yaprak yüzeyinin tüylü olması, kutikula tabakasının kalın olması virüsün bağlanmasını engellemektedir. Tüylü dış yapıya sahip olan bitki styletle bulaşarak taşınan mozaik virüs enfeksiyonlarına karşı dirençli olduğu gözlemlenmiştir (İlbağı ve Çıtır, 2006). Bitkide generatif ve vejetatif gelişmenin tamamlanmasından sonra olgun bitki dayanıklılığı meydana gelir ve bitki yapısal dayanıklılık sınıfı içerisinde yer alır (Yeşil ve Ertunç, 2012).

2.8.2. Bitkilerde virüslere karşı biyokimyasal dayanıklılık: Bu tür dayanıklılık bitkide 2 şekilde olmaktadır. Bitkinin virüs enfeksiyonundan önce sentezlediği biyokimyasal bileşenlerle patojeni engellemesidir. Virüs çoğalmasını engelleyen moleküller, virüs sentezini durdurarak bitkiyi korur. Diğer bir durum ise virüsün çoğalması için gerekli olan bileşenlerin eksikliğidir.

2.8.3. Bitkide virüslere karşı kalıtsal dayanıklılık: Bitkiler sert hücre duvarlarıyla virüslere karşı pasif savunma yaparken ayrıca virüsü tanıması sonucu aktif savunmada gösterir. Bunlardan en çok aşırı duyarlılık reaksiyonları(hypersensitive response, HR)'dir. Bu reaksiyonda virüsün enfekte olduğu hücrelerde apoptoz gerçekleşir ve virüsün yayılması engellenir. Bunun gerçekleşebilmesi için önce bitki tarafından virüs tanınmalı ve sonucunda HR cevabı oluşmalıdır (Yeşil ve Ertunç, 2012).

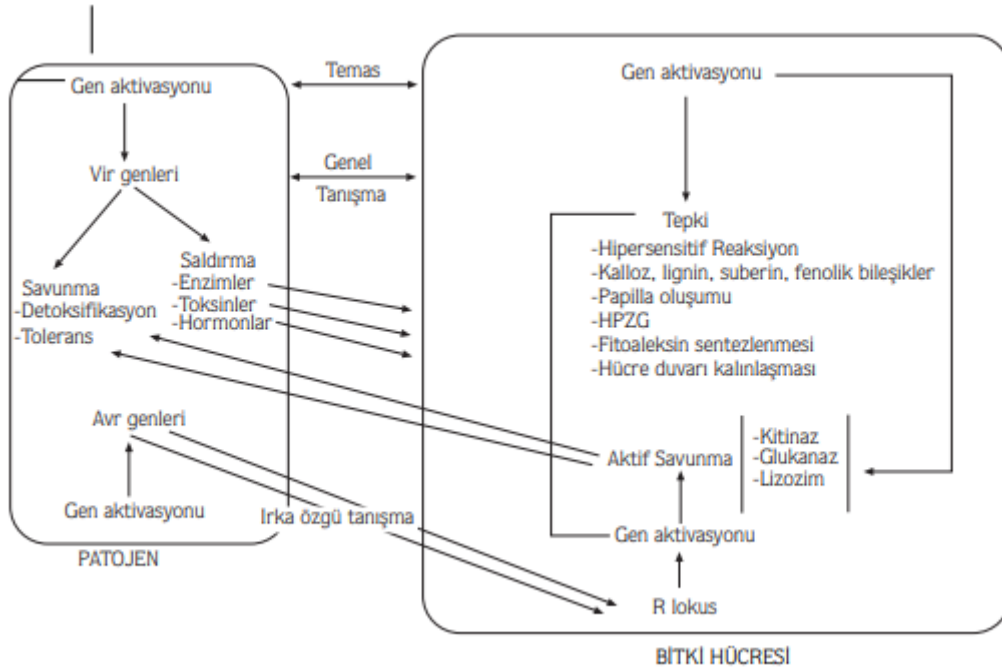
2.8.4. Bitkide virüslere karşı protein kaynaklı koruma:

-Kılıf proteinleri: bitkide virüse karşı direnç sağlanması için viral kılıf proteinlerini kodlayan genler, partikül bombardımanı veya *Agrobacterium tumefaciens* kullanılarak bitkilere

aktarılmaktadır. Gen aktarımı sonucu bitki genomuyla bütünleşen dizilerin ifadesi sonucu enfeksiyonu gerçekleştirecek virüse karşı dayanıklılık meydana gelmektedir

-Virüsün hareketinden sorumlu viral proteinler: bitki hücrelerinde plazmodezmatanın geçirgenliği artırılarak, virüsün hücreden hücreye geçişini sağlayan proteinlere karşı mutant protein üretilmesi ile virüsün hücreler arası yayılışının engellenmesi (Yeşil ve Ertunç, 2012).

Bitkiler buldukları doğa koşullarında birçok biyotik ve abiyotik faktör tarafından uyarılmaktadır. Bitkiyi uyaran bu etmenler hücre zarında bulunan reseptörler tarafından algılanır ve birçok sinyal yollarıyla hücrede uyarıya cevap oluşturacak bölgelere iletilir. Patojenin *avr* genlerini bitkideki R geninin proteinleri aracılığıyla tanınır, fosforilasyon ile diğer genler uyarılarak konukçunun tepki ve savunma mekanizması harekete geçirilir (Tör, M., 1996).



Şekil 2.5. Bitki Hücresinin Patojen Enfeksiyonu ve Savunma Mekanizması

Kaynak: (Tör, M., 1996)

Şekil 2.5. de patojen ile temas okuyla ifade edilen bitki yüzeyi ile patojenin etkileşimidir. İrka özgü tanışma okuyla ifade edilen, patojendeki avr genleri bitkide R genlerini harekete geçirir ve savunma başlatır. Genel tanışma oklarıyla ifade edilen, enfeksiyonun ilk evrelerinde görülür ve patojen kaynaklı hücre parçaları ile bitki savunma mekanizması sinyal yolları uyarılır sinyal yollarının uyarımı ile gen aktivasyonu başlar (Tör, M., 1996)

Virüsler bitkide hastalık meydana getirerek, yemeklik baklagil üretimini sınırlar. Tohum kaynaklı virüs hastalıklarında baklagillerin verim ve gelişimi üzerinde; enfeksiyon zamanı, virüsün türü, iklim etkilidir. Bazı çalışmalara bakıldığında BYMV baklada %45, mercimekte %96; CMV fasulyede %5-75 arası, nohutta %80; AMV ise mercimekte %81-87, baklada %45 verim kaybına neden olduğu bildirilmiştir. Virüs enfeksiyonu sonucunda tohumun çimlenme durumunun azalması veya tamamen durması, tohum oluşumuna veya tohumda renk-şekil bozukluğuna neden olarak üretimde kalitesini düşürür veya ürün miktarını etkiler (Kızmaz ve Gümü, 2021). Bitkileri virüslere karşı dirençli duruma getirmek için 3 adet transgen kaynağından yararlanılmaktadır. Bunlar viral dizilerden üretilen genler (patojen kaynaklı dayanıklılık), farklı kaynaklardan elde edilen virüs enfeksiyonunu engelleyen genler ve doğal dayanıklılık genleridir (Yeşil ve Ertunç, 2012). Bitki ıslah çalışmalarında geniş konak direncine sahip dirençli bitki çeşitlerinin kullanılması, ekinlere patojen saldırılarını kontrol etmede hem en dayanıklı hem de en ekonomik yoldur (Ruhimbana ve Mutlu, 2019).

Fasulyenin uygun toprak ve iklim koşullarında yetişmesi ve yüksek verim göstermesi, bulunduğu bölgenin hastalık ve zararlılarına karşı dayanıklı ve duyarlı olduğunu gösterir (Altıkardeşler, A., 2006). Fasulye gelişiminde en çok rastlanılan hastalıklar; pas hastalığı, antroknöz (fide hastalığı) ve kök çürüklüğüdür (Keleş, D.,2015). Fasulye üretiminde önemli kayıplara yol açan virüsler: bean common mosaic virus (BCMV), bean common mosaic necrosis virus (BCMNV), bean yellow mosaic virus (BYMV), bean golden yellow mosaic virus (BGYMV), southern bean mosaic virus (SBMV), cucumber mosaic virus (CMV), tobacco streak virus (TSV), tomato aspermy virus(TAV) olduğu bildirilmektedir (Kılıç ve Yardımcı, 2014). Fasulye bitkisinin kullanıldığı enfeksiyona sebep olan virüslerin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalara bakıldığında farklı yöntemlerin kullanıldığı gözlenmektedir. Fajarda, BCMV için fasulye tohumlarında simptomatoloji yöntemini uygulamış; Spence ve Walkey BCMV için DAS-ELISA yöntemini kullanırken; Sengooba ve arkadaşları BCMNV için serolojik yöntem ve inokulasyon yapmıştır (Saraçoğlu ve Erkan, 2016).

Fasulyede başlıca; BCTV, BCMV, BYMV, BGMV, CYVV, CMV ve TSV gibi viral hastalıklara rastlanmaktadır. Bu virüsler fasulye bitkisine genel olarak beyaz sinekler aracılığıyla bulaşır ve genellikle yaprak uçlarında kıvrılma ve mozaik motifi gözlenirken ayrıca bitkide bodurluğa da rastlanır (Akbulut, S.E., 2021).

2.9. Fasulye Bitkisinde Hastalık Oluşturan Virüsler

Viral hastalıklarla mücadelede kimyasal ilaç kullanımını etkili olamamaktadır. Ancak bu hastalık etmenlerine karşı alınan tedbirler; viral etmenlere dirençli çeşitlerin kullanılması, kültürel tedbirler, konukçu yabancı otların ve vektörlerin kontrolü ile hastalık etmenlerine karşı mücadele edilebilmektedir (Mızrak, G., 2020).

Dünyada ve Türkiye’de daha önce yapılan çalışmalardan tespit edilen virüsler; Bean leaf roll virus(BLRV), Bean mild mosaic virus(BMMV), Broad bean mottle virus(BBMV), Bean golden yellow mosaic virus(BGYMV), Alfalfa mosaic virus(AMV), Bean rugose mosaic virus (BRMV), Bean common mosaic virus(BCMV), Bean common mosaic necrosis virus(BCMNV), Bean pod mottle virus(BPMV), Bean curly dwarf virus (BCDV), Bean golden mosaic virus(BGMV), Cucumber mosaic virus(CMV), Pea early browning virus(PEBV), Cowpea severe mosaic virus(CSMV), Tomato block ring virus (TBRV), Tomato ring spot virus(TorSV) fasulye bitkisinde enfeksiyona sebep olan viral hastalık etmenleri olarak bilinmektedir (Saraçoğlu ve Erkan, 2016).

Fasulye adi mozaik virüsü (Bean common mosaic necrosis Potyvirus, BCMNV) ve fasulye sarı mozaik virüsü (Bean yellow mosaic potyvirus, BYMV) bitkinin yapraklarını enfekte ederken (Mızrak, G., 2020); yonca mozaik virüsü (alfalfa mosaic virus ,AMV) ve fasulye sarı mozaik virüsü (Bean yellow mosaic virus, BYMV) fasulyenin tohumunu enfekte eden virüslerdir (Kutluk Yılmaz vd., 2002).

Bu çalışmada fasulye bitkisini enfekte ettiklerinde büyük ölçüde verim kaybına neden olan, tüketimiyle sağlık bakımından risk oluşturabilecek ve üretim maliyetinin artmasına neden olan viral hastalık etmenlerinden BCMV, BGYMV ve CTV’nin neden oldukları hastalıklara karşı dayanıklılık gen durumlarının araştırılması amaçlanmıştır.

2.9.1. BCMV (Bean Common Mosaic Virus- Fasulye Adi Mozaik Virüsü): Fasulye bitkinde birçok virüs hastalığı görülmesine rağmen en çok zararı potyviruslerin neden olduğu bilinmektedir. Potyvirus içerisinde en sık rastlanan ve ekonomik anlamda en çok zarara neden olan fasulye adi mozaik virüsü(BCMV)’dür (Aydoğan vd., 2020). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda BCMV’ye ait 8 adet streyn tespit edilmiştir. Bunlar; US2, US5, NL1, NL2, NL4, NL6, NL7 ve RU-1’dir (Deligöz ve Sökmen, 2011).

BCMV, potyviridae familyasında yer alır. Fasulye üretim alanlarında BCMV ile enfekteli tohum, yaprak bitleri, polen veya bitki özsuyla taşınmaktadır. BCMV, fasulye bitkisinin kalitesini ve verimini düşürerek %80’e varan ürün kaybına neden olmaktadır. BCMV ile

enfekteli bitkilerde yaprak kıvrılması, açık-koyu yeşil mozaik görüntüsü, kloroz ve şekil bozukluğu gibi semptomlar gözlenmektedir. Fasulye bitkisinde dayanıklılık genine bağlı olarak bu etmenler tarafından siyah kök (black root) ve sistemik nekroz(tepe nekrozu) oluşmaktadır. Yaprak bitlerinin yaprağı virüsle enfekte ettiği noktadan sistemik nekroz başlamakta ve bitki ölümlerine neden olmaktadır (Palacıoğlu vd., 2020). BCMV ile mücadelede yaprak bitleri ile mücadele edilmesi ve hastalıktan arı tohumların kullanılması önerilmektedir. Buna ek olarak dünyada hem çevre dostu hem de pratik kullanımlarından dolayı dayanıklı çeşitlerin kullanılması öngörülmektedir. BCMV'ye karşı 6 farklı resesif gen (*bc-3*, *bc-u*, *bc-1*, *bc-1²*, *bc-2*, *bc-2²*) ve bir tanede dominant *I* geni virüse karşı direnç kapsamında kullanılmaktadır. BCMV'nin tüm streynlerine karşı dominant *I* geni tek başına dayanıklılık göstermektedir ancak BCMNV (Bean common mosaic necrosis virus) streynleri dominant *I* genini kırdığı için diğer resesif genlerle birlikte kullanılması gerekmektedir (Palacıoğlu vd., 2020).

BCMV'nin enfeksiyonunda dominant *I* geni uyarılır. Dominant *I* geni BCMV ile enfekte yaprağın iletim dokusunda ve bitki sürgün ucunda BCMV virüsüne karşı büyük miktarda phaseolin üreterek cevap verir. Phaseolin tarafından kontrol edilen fitoaleksinler, bitkinin vasküler sistemi boyunca aşağı doğru hareket eder. Böylelikle vasküler dokuların renginin değişmesine neden olur ve sonunda bitki ölümü gerçekleşir (Kelly, J.D., 1997).

Resesif genlerden BCMV'ye karşı üretilen '*bc*' genlerinin ekspresyonu için '*bc-u*' geninin varlığı gereklidir. *bc-u* geninin tek başına BCMV'ye karşı etkisi yoktur ancak *bc* genlerinin ekspresyonu için şarttır (Kelly, J.D., 1997). *bc-u* geninin yokluğunda *bc-1²* ve *bc-3* genleri dominant *I* geni ile birlikte bulduklarında da dayanıklılık gösterebilmektedirler.

- *bc-1*: fasulye bitkisinde BCMV'nin NL1 suşuna karşı dayanıklılık gösterir.
- *bc-1²*: BCMV'nin NL1, NL2, US2 ve NL7 suşlarına karşı dayanıklılık gösterir.
- *bc-2*: BCMV'nin US5, NL4, NL1, NL6 ve NL7 suşlarına karşı direnç sağlar.
- *bc-2²*: BCMV'nin RU1, NL6, NL7, NL1 ve NL2 suşlarına karşı direnç gösterir.
- *bc-3*: BCMV'nin tüm streynlerine karşı direnç sağlar.
- *bc-u*: Virüs streynine spesifik olmayan, resesif özellikte tamamlayıcı bir gendir. Virüs enfeksiyonuna karşı dayanıklılığın oluşumunda tek başına rolü yoktur. Diğer resesif genlerle birlikte bulunduğu dayanıklılığın oluşmasını sağlar (Deligöz ve Sökmen, 2011).

BCMV; yaprak bitleriyle stylet kökenli taşıma gözlenirken tohumla, polenle ve bitki özsuyu ile de enfeksiyon gözlenir. BCMV'nin tüm ırklarına karşı 30 °C altındaki sıcaklıklarda,

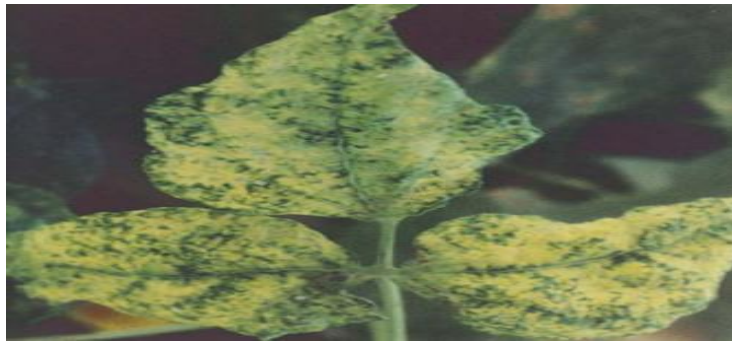
dominant *I* geninin virüs enfeksiyonuna karşı dayanıklılık sergilediği bildirilmiştir (Yeken vd., 2018). 30 °C üzerindeki sıcaklıklarda BCMV'nin NL2, NL6 ve RU1 streynleri *I* geninin direncini kırarak enfeksiyon oluşturur (Deligöz ve Sökmen, 2011).

Bu çalışmada ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen fasulye çeşitlerinde BCMV virüsüne karşı muhtemel 3 farklı dayanıklılık geni (*bc-1²*, *I*, *bc-3*) ile ilişkili 4 farklı markör SBD-5, SW13, ROC11, elf4E primerleri kullanılarak incelenmiştir.

2.9.2. BGYMV (Bean Golden Yellow Mosaic Virus- Fasulye Altın Sarısı Mozaik Virüsü):

Bean golden yellow mosaic virüsü (fasulye altın sarısı mozaik virüsü), Karaip ve orta Amerikada *Phaseolus vulgaris*'in en önemli hastalıklarından biridir. Geminiviridae ailesinden olan BGYMV, tropik bölgelerde mahsulün tahribatına yol açan hastalığa sebep olur. Hastalığın konak bitkiye bulaşmasına, Bemisia cinsine bağlı beyaz sinekler sebep olmaktadır (Bracero vd., 2003). Bean golden yellow mosaic virus genomu halkasal olup tek sarmalıdır. Virüs parçacıkları zarfsızdır. Nükleokapsitleri 38 nanometre (nm) uzunluğunda olup her bir kapsit 22 kapsomere sahiptir BGYMV, Geminiviridae (ikizler virüsü) familyasından begamovirüs içerisinde yer alan bir türdür. Çok geniş konukçu aralığına sahiptir ve dikotiledonlu bitkileri enfekte eder. Fasulye, kabak, domates, pamuk gibi birçok tarla ürününde ekonomik anlamda büyük kayıplara neden olmaktadır (Anonim e, 25.03.2022).

GYMV, farklı fasulye hat ve çeşitlerinde bitkilerde bodurluğa, hafif sararma ve kıvrılmaya neden olmaktadır. Virüs geniş konak yelpazesine sahiptir ve konak olarak bütün bitkisini enfekte ettiğinde büyük oranda yaprak kıvrılması görülmüştür (Bird vd, 1972).



Şekil 2.6. GYMV Enfeksiyonu

Kaynak: (Bracero vd., 2003).

Virüsün enfekte bitkide belirtileri; yaprak yapısında bozulma, yoğun sararma, bodurluk ve mozaik yapı oluşumudur. Fauquet tarafından ortaya atılan altın sarısı mozaik terimi ilk kez Bird tarafından lima fasulyesinde (*Phaseolus lunatus*) hastalığın semptomlarını tanımlamak için kullanılmıştır. 1971 yılında Gamez birçok fasulye çeşidinde ve baklagillerde, bu virüs ile

enfekte olmuş bitkileri inceleyerek geminivirüsten kaynaklanabileceğini ileri sürmüştür. Roye ve ark., (1997) *macroptilium lotiroidlerini* enfekte eden geminivirüsleri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), DNA hibridizasyonu ve nükleotid dizi analizi kullanarak karakterize etmişlerdir (Bracero vd., 2003).

Bitkiler gelişim evresinde BGYMV ile enfekte olursa ürün kaybı %100'e ulaşabilir. Hastalık insidansı ve ürün kaybı, beyaz sinek ile taşınan vektörün çevresel koşullarına, popülasyonlarına ve kültürel uygulamalara göre değişir. Fasulye altın mozaik virüsünün kontrolü çok zordur. Bu yüzden BGYMV'nin neden olduğu hastalığa karşı direnç için fasulye germ plazması taranmış ve orta Amerika'da küçük siyah tohumlu fasulyelerinin dirençli olduğu saptanmıştır (Garrido-Ramirez vd., 2000). 1998 yılında Molina Castenada ve Beauer, 2003 yılında Acevedo Roman şiddetli hastalık baskısı varlığında normal bakla gelişimine izin veren baskın gen Bgp-1'i tanımladılar. Bununla birlikte Bgp-1'in ifadesi için çekinik gen bgm-1'in varlığı gereklidir (Osorno vd., 2004).

Bitki yetiştiricileri BGYM virüse karşı dirençli fasulye çeşitleri geliştirmiş ve piyasaya sürmüştür. Araştırmacılar yaprak klorozuna direnç sağlayan bgm ve bgm-2'yi bakla deformasyonuna direnç sağlayan Bgp-1 spesifik direnç genlerini tanımlamışlardır. BGYMV direnci için ek genlerin tanımlanması, fasulye yetiştiricilerinin bu önemli hastalığa karşı direncin genetik tabanını genişletmesine izin verecektir (Osorno vd.,2007).Orta Amerika'da 'Dorado' olarak piyasaya sürülen küçük kırmızı fasulye hattı DOR364 hattını sera koşullarında virüslü beyaz sinekler ile aşılandığında hastalığın semptomlarının ifadesinin geciktiğini bulmuşlardır. Ayrıca yaprak klorozuna neden olan BGYM virüsüne karşı yaygın olarak kullanılan direnç geni bgm-1'dir (Osorno vd., 2004).

Fasulye altın sarısı mozaik virüsü (BGYMV) ile tehdit altında olan bölgelerde fasulye üretimi için hem üretim maliyetini arttıran hem de sağlık açısından da tehlike oluşturabilecek insektisitlerin kullanılması gereklidir (Roman vd., 2004).

2.9.3. BCTV (Bean Curly Top Virus- Fasulye Tepe Kıvrıkcık Virüsü): BCTV, Geminivirüs familyasındandır. İn vitro yaşam süresi 8 gün olup termal aktivasyon derecesi 80 °C dır. Virüsün genom yapısı dairesel DNA'ya sahiptir. Virionları kaplanmamış bir kapsitten oluşur. Türkiye, Kıbrıs, Mısır, Hindistan, İran, Brezilya, Amerika, İspanya, Arjantin ve Uruguay ülkelerinde bu hastalık yaygındır. Virüsün enfekte olduğu bitkilerin yapraklarında damar açılması, kıvrılma, sertlik, sararma ve bodur gibi bir yapı gözlenir. Enfekte ettiği konak bitkilere şunlar örnek

verilebilir: *Phaseolus vulgaris*, *Beta vulgaris*, *Cucurbitaceae*, *Linum spp.*, *Capsicum spp.*, *Solanum tuberosum*, *Lycopersicon esculentum* (Alan, B., 2012).

BCTV, curtovirus cinsinin üyesidir. Genomları 3 kb büyüklüğündedir. Genomun tamamı 2993 nükleotitden oluşur. Virüse ait virionların kapsitleri 22 kapsomerden oluşur (Kaya, R., 2012). International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)'in yayınladığı VIII. raporuna göre Geminiviridae ailesine ve curtovirus cinsine ait beet curly top virus, tek iplikli bir DNA yapısına sahiptir (Uzunoğulları ve Gümüş, 2017). BCTV virüsü ile enfekte bitkilerde kıvrıklanma meydana getirdiğinden dolayı curly top virus olarak isimlendirilmiştir. Şeker pancarı tepe kıvrırcığı virüsü ilk defa ABD Nebraska'da 1888 yılında ortaya çıkmıştır. Türkiye'de ise ilk defa Eskişehir ve Erzincan'da 1955-1956 yıllarında görülmüştür. 1955'den beri zaman zaman ortaya çıkan hastalık 2008 yılında Nevşehir Kozaklı ilçesinde ve Ankara'nın Haymana ilçesinde bazı tarlalarda %50'ye varan oranlarda kök verim kaybına yol açmıştır (Kaya, R., 2012). Bitkide virüsün varlığını işaret eden belirtiler hemen hemen enfekte bütün bitkilerde aynıdır. Bitki erken gelişim döneminde yaprakların damarlarında şişme, renk açılması gözlenir. En genç yapraklarda ise şekil bozukluğu ve kıvrılma gözlenir. Enfekte bitkide ölüme yol açan diğer belirtiler genç yaprakların sürgün uçlarında kıvrılma ve şekil bozukluğu, bodurlaşma, floemden sıvı akıntısı ve floemde nekroz, bitkide sararma ve sertleşme görülür. Curly top virüsü, vektörlerle ve virüsle enfekte bitkilerin sağlıklı alanlara ekilmesiyle yayılır (Kaya, R., 2012).

Curly top virus ile enfekte bitkilerin meyvelerinde deformasyon ve çalimsı bitki gelişimi görülmektedir aynı zamanda bitkinin floem dokusuna kesit atıldığında da ortaya çıkan siyah ve yuvarlak daireler bitkinin curly top virus(CTV) ile enfekte olduğunu gösterir (Ahmed, E., 2008). Ağustos böcekleriyle taşınan curly top virüsünün konukçu bitkilerine *Salsola kali* (soda otu) ve *Artiplex spp.* (yabani pazı) örnek gösterilebilir (Çal, G., 2013). Beet curly top virüs(BCTV) ABD'nin batı bölgesinde çölde yetişen bazı bitkilerde görülmesine rağmen kısa zamanda bu bölgede varlığını yitirmiştir. Çünkü virüsün virionları uzak mesafeye taşınmasında ancak ergin bireyler etkilidir (Sökmen, M.,2002).

2.10. Bitki Direnç Genlerinin Tespitinde Kullanılan Moleküler Markörler

Genomda herhangi bir gen veya gen bölgesi ile bağlantılı DNA fragmanlarına moleküler markörler denir. Nükleik asit temelli olduklarından DNA markörleri olarak da bilinirler. Bitki biyoteknolojisinde morfolojik olarak birbirine çok benzeyen çeşitler, DNA tabanlı markörler kullanılarak tanımlanabilir ve çeşitler arasında ayırım yapmada kullanılabilir. Genom

analizinde kullanılan markörler için gereken DNA miktarı, az miktarda bitki doku örneği ile karşılanabilmektedir. Moleküler markörler, biyokimyasal ve morfolojik markörler ile kıyaslandığında çevresel etmenlerden ve bitki gelişim evrelerinden etkilenmezler (Yorgancılar ve ark., 2015).

Genomda herhangi bir genin veya fenotipik özelliğin birçok formu varsa o gen veya özellik polimorfik kabul edilir. Genomda karşılaşılan polimorfizm nükleik asit dizisinde, kromozomal yapıda, protein temelli aminoasit dizisinde veya fenotipik özellik gibi farklı varyasyonlarda görülebilir ve polimorfik bölgelerin tanımlanması için moleküler markör yöntemleri uygulanır (Yorgancılar ve ark., 2015).

Moleküler markörler; filogenetik çalışmalarda, bir genin keşfinde ve etiketlenmesinde, fiziksel haritalama çalışmalarında kullanılabilir (Filiz ve Koç, 2011). Ayrıca bitki çeşitlerinin tanımlanmasında, duplike olan genotiplerin belirlenmesinde, ıslah çalışmalarında kullanılacak ebeveynlerin belirlenmesinde, stres faktörleriyle ilişkili genom bölgelerinin belirlendiği çalışmalarda da kullanılabilir (Yorgancılar ve ark. 2015).

Moleküler markörler hibridizasyona dayalı markörler ve polimeraz zincir reaksiyona (PCR) dayalı markörler olarak ikiye ayrılırlar. Hibridizasyona dayalı markörler; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism/Sınırlı Parça Uzunlukları Polimorfizmi) örnek olarak verilebilir. PCR tabanlı markörler; RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA/Rastgele Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi), SSR (Simple Sequence Repeat/Basit Tekrarlı Diziler), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat/ Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm ve AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism/Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi) örnek olarak verilebilir. Ayrıca bu markörlere ek olarak SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions/Dizisi karakterize edilmiş çoğaltılmış bölgeler), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic), SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ve SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) markörleri polimorfizmin belirlenmesinde kullanılmaktadır (Yorgancılar ve ark., 2015).

Bu çalışmada araştırılan direnç gen durumlarının tespitinde SCAR markörler kullanılmıştır. Yüksek derecede polimorfik davranış göstermesi, tüm dokularda gözlemlenebilirliği, genomda sıkça bulunması, yüksek miktarda tekrarlanabilirlik özelliğine sahip olması ve hem ulaşım kolaylığı hem de uygulama maliyetinin düşük olmasından kaynaklı SCAR markörler tercih edilmiştir.

2.10.1 SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) Markör

SCAR (dizisi karakterize edilmiş çoğaltılmış bölgeler) markörler, virüs inokülasyonuna gerek duymadan, markör kullanarak dayanıklılık genlerinin tespit çalışmaları, bitkilerde söz konusu direnç genlerinin belirlenmesine imkan sağlaması nedeniyle günümüzde yoğun olarak kullanılmaktadır (Yeken vd., 2018). SCAR tekniği, belli bir genin baz dizisine bakarak diziyeye özgü 15-30 baz çifti primerlerin dizayn edilerek polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılması sistemine dayanır. Genomda lokus özellikli olan SCAR'lar, bitki türlerinin genetik haritalarının karşılaştırılmasında ve homoloji çalışmalarında kullanılan genetik belirteçlerdir (Dovletova, A., 2019). SCAR markörleri genomik DNA'da rastgele çoğaltılmış dizilere (RAPD) kıyasla daha fazla tekrarlanabilir (Turunç ve Kaçar, 2010).

SCAR markörlerin kullanımındaki avantaj, kolay ve hızlı olmasıdır. Ayrıca lokusa özgü olup yüksek tekrarlanabilirliğe sahiptir. PCR'da kullanılmasından dolayı az miktarda DNA kullanılır ancak SCAR primerlerini tasarlamak için baz dizi verileri gereklidir. SCAR'lar lokusa spesifik olmasından dolayı gen haritalama çalışmalarında sıklıkla kullanılır (Wageningen University Research, Erişim: 25.03.2022).

Bu çalışmada SCAR markörler kullanılarak fasulye bitkisinde verim kaybına neden olan BCMV, BGYMV ve CTV'nin oluşturduğu hastalığa karşı direnç genlerinin tespiti amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Fasulye Hat ve Çeşitleri

Araştırmada kullanılan fasulye hat ve çeşitler Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan Fasulye Hat ve Çeşitleri

| | | |
|------------------|-------------------------------|--|
| 1.Akman-98 | 14.Muzaffer | 27.(ES-855/4F-2834)-39 |
| 2.Bulduk | 15.Karaman | 28.Erzurum Şekeri/4F-2813 |
| 3.Cihan | 16.Göynük-98 | 29.Aslan/Akman-98//Aslan |
| 4.Gina | 17.İstanbul | 30.17 SBarBVD-11 |
| 5.Güngör | 18.Aslan/ Konya Dermasonu | 31.17 SBarBVD-12 |
| 6.Karacaşehir-90 | 19.Aslan/Akman98 | 32.17 SBVD-10 |
| 7.Zülbiye | 20.Emerson | 33.17 SBVD -14 |
| 8.Noyanbey-98 | 21.Konya Dermasonu/Batallı | 34.17 SBVD-15 |
| 9.Sururbey | 22.Cardinal/Yozgat Barbunyası | 35.17 SBVD-18 |
| 10.4F-2409 | 23.CB_929 Cranberry | 36.17 SBVD-19 |
| 11.Şehirali-90 | 24.U1-1140 | 37.17 SBVD-20 |
| 12.Akın | 25.Balıkesir Barbunyası | 38.Ph-Corh (<i>Phaseolus coccineus</i>) |
| 13.Batallı | 26.Yalancı Dermason(Erzincan) | |

3.2.DNA İzolasyonu

Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen fasulye yapraklarından genomik DNA elde etmek için CTAB tamponu kullanılmış ve klasik DNA izolasyonu yöntemi uygulanmıştır. DNA izolasyon aşamaları şunlardır:

1. CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) tamponu 65 °C 'de ısıtılarak hazır hale getirildi. CTAB tampon içeriği Tablo 3.2.1 de verilmiştir.
2. Sıvı azotta öğütülmüş 100 mg bitki dokusu 1,5 ml'lik ependorf tüplerine alınarak üzerine 1000 mikrolitre (µl) CTAB tamponu eklendi ve homojen hale gelene kadar yavaşça pipetlenir.
3. 62 °C'de 30 dk inkübe edildi ve belli zaman aralıklarıyla tüpler altüst edildi.
4. Ependorf tüpüne eşit miktarlarda kloroform: izoamil alkol eklendi. 10 dk boyunca alt üst edilerek karıştırıldı.

5. Karışım 7500 rpm'de 10 dk santrifüjlendi ve üstte kalan süpernatant kısmı 1,5 ml'lik ependorfa aktarıldı. Aktarılan miktar μ l cinsinde kayıt edildi.
6. Aktarılan miktarın 2/3'ü kadar -20 °C olan isopropanole eklendi ve alt üst edildi. Daha sonra -20 °C'de 2 saat inkübe edildi.
7. İnkübasyon sonunda karışımı içeren ependorf 10000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.
8. DNA pelleti 300 mikrolitre %70'lik etil alkol ile yıkanır ve kuruyana kadar bekletilir. Kuruyan DNA peleti istenilen DNA konsantrasyonuna göre steril deiyonize suda veya TE buffer' da çözdürüldü.

İzolasyonu gerçekleştirilen DNA'ların kalitesi ve miktarları spektrofotometre ile (Nanodrop ND 100) ölçümler yapılarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.2. CTAB (Cetyl trimethylammonium bromide) Tampon Hazırlığı

| | |
|-------------------------|--------------------------|
| CTAB | 1 g |
| NaCl | 1.4 M 14 ml veya 4.095 g |
| Tris- HCl | 5 ml |
| EDTA | 2 ml |
| PVP | 0.5 g |
| β -Merkaptoetanol | 200 μ l |

200 μ l B-merkaptoetanol (15 dk otoklavlandıktan sonra eklenir) 20 ml dH₂O ile 50 ml'ye tamamlanır.

3.3.PCR (Polymerase Chain Reaction) ve Kullanılan Primerler

DNA konsantrasyonları 2 ng'a kadar seyreltilmiştir. Bu şekilde 38 adet fasulye yerel hat ve çeşitleri için DNA çalışma solüsyonu hazırlanmış olmaktadır. BCMV, BGYMV ve CTV enfeksiyonuna karşı dayanıklılık genlerinin belirteci olan primerler kullanılarak PCR reaksiyonları (Şekil 3.3.1.) gerçekleştirilmiştir. Her bir primer için farklı pcr modifikasyonları uygulanmıştır. Tek bir PCR tüpü için kullanılan bileşenler ve miktarları Çizelge 3.3. de verilmiştir.

Çizelge 3.3. PCR Bileşenleri ve Kullanım Miktarları

| Bileşen | Miktar (µl) |
|----------------------|--------------------|
| dH ₂ O | 10,8 |
| 10X Buffer | 2,5 |
| MgCl ₂ | 1,5 |
| dNTP | 2 |
| Forward Primer | 2,5 |
| Reverse Primer | 2,5 |
| Taq polimeraz | 0,2 |
| DNA | 3 |
| Toplam: 25 µl | |

PCR bileşenleri 38 adet fasulye örneği için yukarıdaki miktarlar doğrultusunda hazırlanıp 10sn spin atılarak PCR cihazlarına aktarılmıştır.

PCR ısı döngüleyicilerinde reaksiyon temelde 3 basamakta gerçekleşir.

1. Denatürasyon: 94 °C’de çift iplikli DNA’nın ayrılması ve iki ayrı tek iplikçik oluşması.
2. Annealing: 52-65 °C’de Primerlerin tek iplikçik DNA’lara spesifik bölgelerden bağlanması.
3. Elongation (sentez) 72 °C’de primerler ile sınırlandırılmış bölgelerin Taq polimeraz tarafından amplifikasyonu.

BCMV, BGYMV ve CTV’ye karşı dayanıklılık genlerinin analizinde kullanılan primerlerin baz dizi bilgisi Çizelge 3.4. de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Çalışmada Kullanılan SCAR Primerleri ve Dizi Bilgisi

| Primer adı | Baz dizisi | Primer Isısı |
|-------------------|--------------------------------|---------------------|
| SW13 F | 5’-CACAGCGACATTAATTTTCCTTTC-3’ | 58°C |
| SW13 R | 5’-CACAGCGACAGGAGGAGCTTATTA-3’ | |
| ROC11 F | 5’-CCAATTCTCTTTCACCTTGTAACC-3’ | 52°C |
| ROC11 R | 5’-GCATGTTCCAGCAAACC-3’ | |
| elf4E F | 5’-ACCGATGAGCAAACCCTA-3’ | 52°C |
| elf4E R | 5’-CAACCAACTGGTATCGGATT-3’ | |
| SG6 F | 5’-GTGCCTAACCGAGTTATCTAGAGT-3’ | 63°C |
| SG6 R | 5’-GTGCCTAACCTCCTAAATGACCT-3’ | |
| SBD5 F | 5’-GTGCGGAGAGGCCATCCATTGGTG-3’ | 65°C |
| SBD5 R | 5’-GTGCGGAGAGTTTCAGTGTTGACA-3’ | |

| | | |
|--------|-----------------------------------|------|
| SR2 F | 5'-CACAGCTGCCCTAACAAAAT-3' | 56°C |
| SR2 R | 5'-CACAGCTGCCACAGGTGGGA-3' | |
| SW12 F | 5'-TGGGCAGAAGTTCTAGCATGTGGC-3' | 63°C |
| SW12 R | 5'-TGGGCAGAAGCACAGTATGATTTG-3' | |
| SAS8 F | 5'-GGCTGCCAGTATCTTGTCTAACACC-3' | 65°C |
| SAS8 R | 5'-GGCTGCCAGTGACGCAATTCTGCAG-3' | |
| Q14 F | 5'-GGACGCTTCATGACATTGGATGAACAG-3' | 65°C |
| Q14 R | 5'-GGACGCTTCACCCTTGTGGTATTG-3' | |

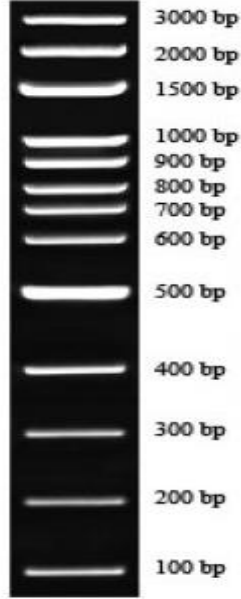
Çizelge 3.5. Çalışmada kullanılan SCAR primerler için direnç gen tipi, PCR bant ürün boyutu ve patojen tipi.

| Primer adı | Direnç geni | Bant boyutu (bç) | Patojen | Kaynak |
|--------------------|-------------------|------------------|---------|---|
| SW13 F SW13 R | I geni | 690 | BCMV | Miklas, P.,2005 Palacioğlu ve ark., 2020 Miklas, P., 2010 Miklas, P., 2005 |
| ROC11 F ROC11 R | bc-3 | 350/420 | BCMV | Palacioğlu ve ark., 2020 Miklas, P., 2010 Rahman et al., 2021 |
| elf4E F elf4E R | bc-3 | 381/541 | BCMV | Miklas, P., 2010 Palacioğlu ve ark., 2020 |
| SG6 F SG6 R | bc-3 | 595 | BCMV | Miklas, P.,2010 Rahman et al., 2021 |
| SBD5 F SBD5 R | bc-1 ² | 1250 | BCMV | Miklas, P., 2005 Palacioğlu ve ark.,2020 Miklas, P.,2010 Miklas, P., 2005 |
| SR2 F SR2 R | bgm-1 | 530/570 | BGYMV | Osorno et al., 2007 Miklas, P., 2010 Miklas, P., 2005 |
| SW12 F SW12 R | Co-3/Co-9 | 700 | BGYMV | Erdoğan, Ç., 2012 Miklas, P., 2010 Miklas, P., 2005 |
| SAS8 F SAS8 R | Bct | 1550 | BCTV | Larsen et. al., 2010 Miklas, P., 2010 Larsen and Miklas, 2003 |
| Q14 F Q14 R | Bct | 973 | BCTV | Larsen et al., 2010 Miklas, P., 2010 |

3.4. PCR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi ve Görüntülenmesi

Fasulye DNA PCR ürünleri yatay jel elektroforezi kullanılarak 1 saat 30 dakika, 90 volt, 300mA de yürütüldü. Bunun için ilk olarak 1.3 agaroz tartılıp 100 ml 0.5x'lik TBE tampon solüsyonu içerisine konulduktan sonra mikrodalga fırında kaynatıldı. Agaroz jel yaklaşık 70 °C dereceye geldiğinde 5 µl EtBr eklendi. Jel tarak düzeneği kuruldu hazırlanan agaroz jel yavaşça

hava kabarcığı kalmayacak şekilde yatay jel tablasına döküldü. 30 dk jelin donması beklendi. Yarım saat sonra taraklar yavaşça jeli zedelemekten tabladan çıkarıldı ve 6 µl PCR ürünü 1 µl Loading Dye olmak üzere toplamda 7 µl PCR ürünü kuyucuklar içerisine yüklendi. İlk kuyucuğa 100 bç plus DNA ladder 'den 3 µl yüklendi. Elektroforez tankında tampon olarak 0.5x'lik TBE tamponu kullanıldı. PCR ürünleri elektroforez tankında 1 saat 30 dk yürütüldükten sonra UV transilüminatör altında görüntüleri elde edildi.

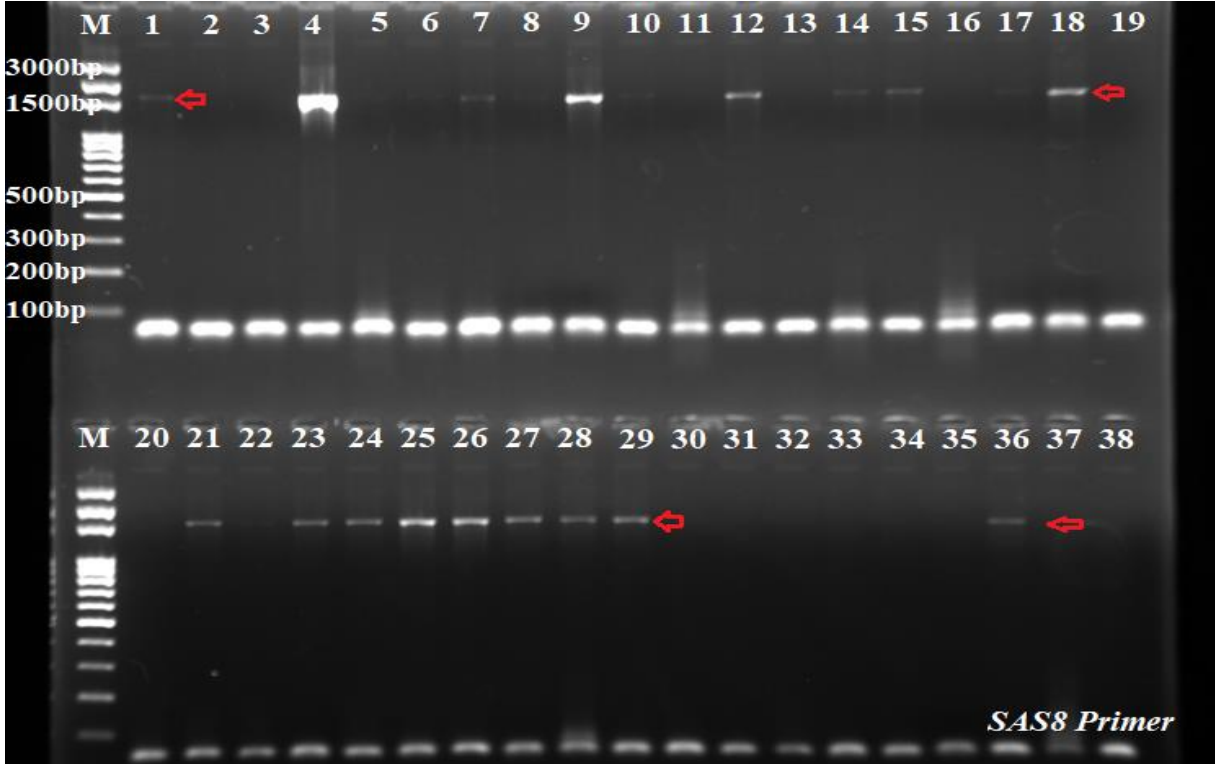


Şekil 3.1. 100 bç plus DNA Ladder Marker

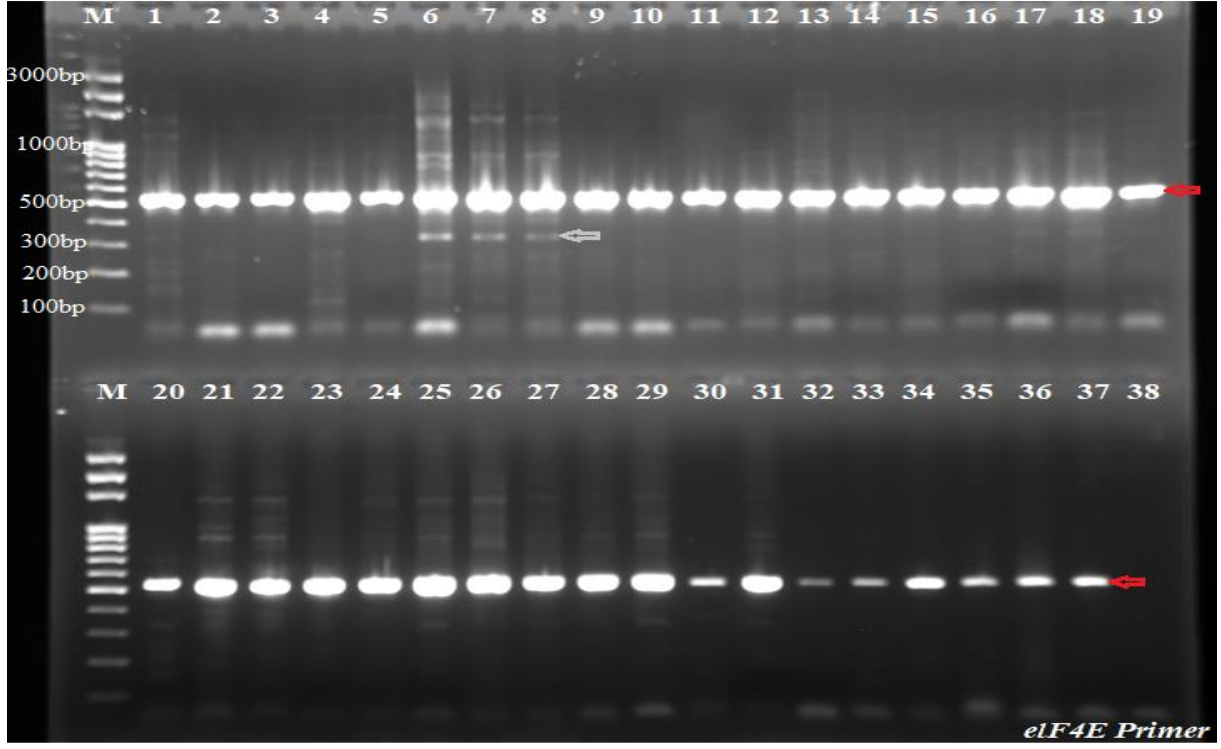
Kaynak: (Anonim f, Erişim:01.05.22)

4. BULGULAR

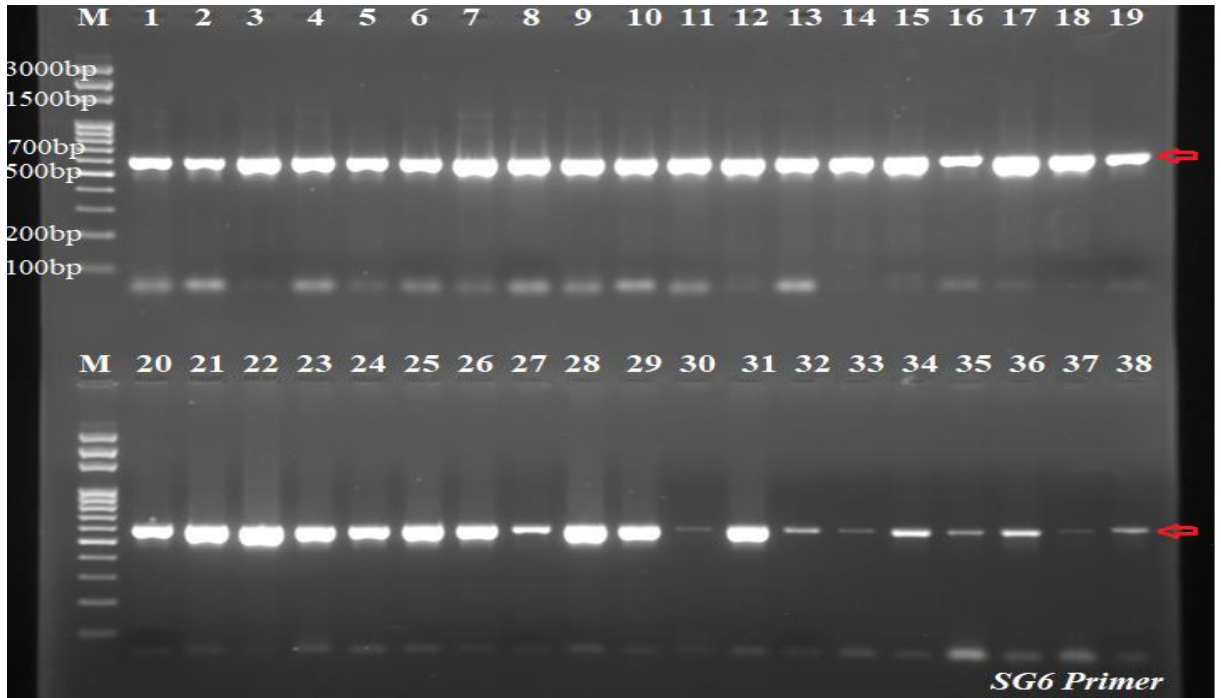
Her bir fasulye hat ve çeşidinin BCMV, BGYMV ve BCTV enfeksiyonuna karşı dayanıklılık genlerinin tespiti için SCAR primerleri ile gerçekleştirilen PCR'ların ürünleri, %1.3 'lük agaroz jelde yürütülüp görüntülenmiş ve Şekil 4.1.-Şekil 4.9. daki görüntüler per sonucu elde edilen jel görüntüleridir. Her bir primere özgül bantlar kontrol edilerek dayanıklılık genlerinin varlık-yokluk durumlarının tespiti yapılmıştır.



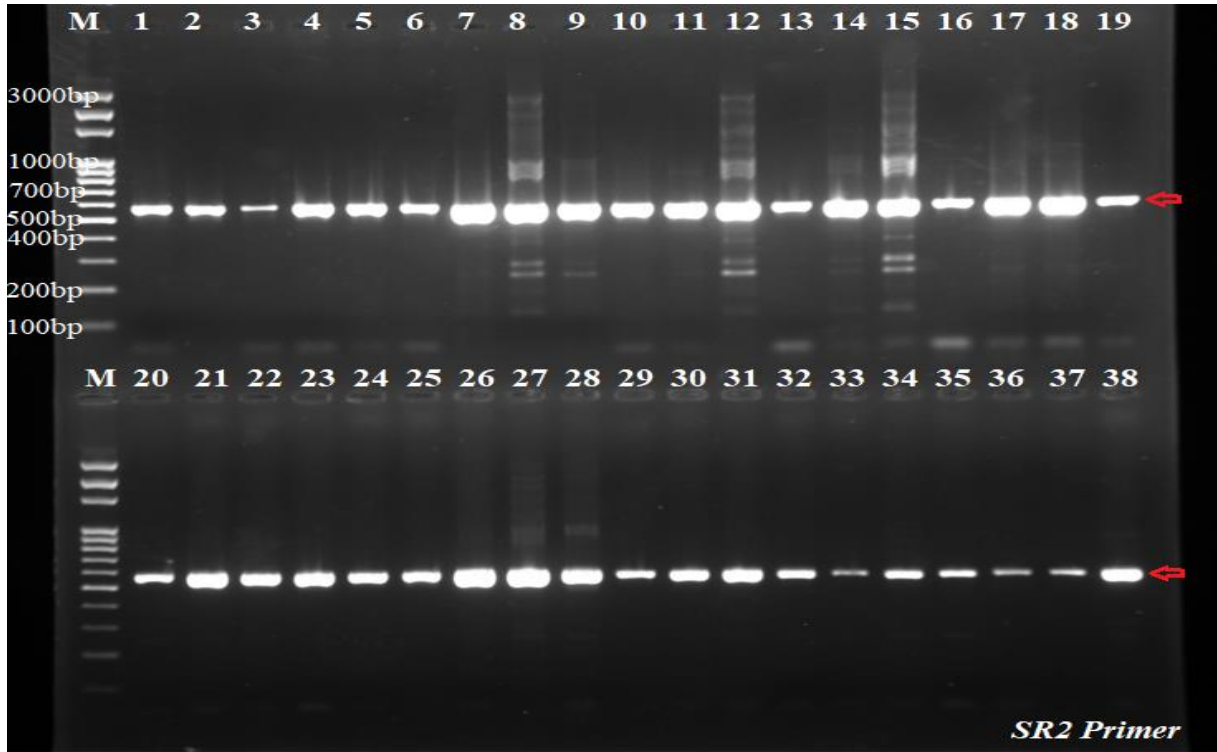
Şekil 4.1. SAS8 primeri ile kurulan pcr jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri (↔ : 1550 bç bant)



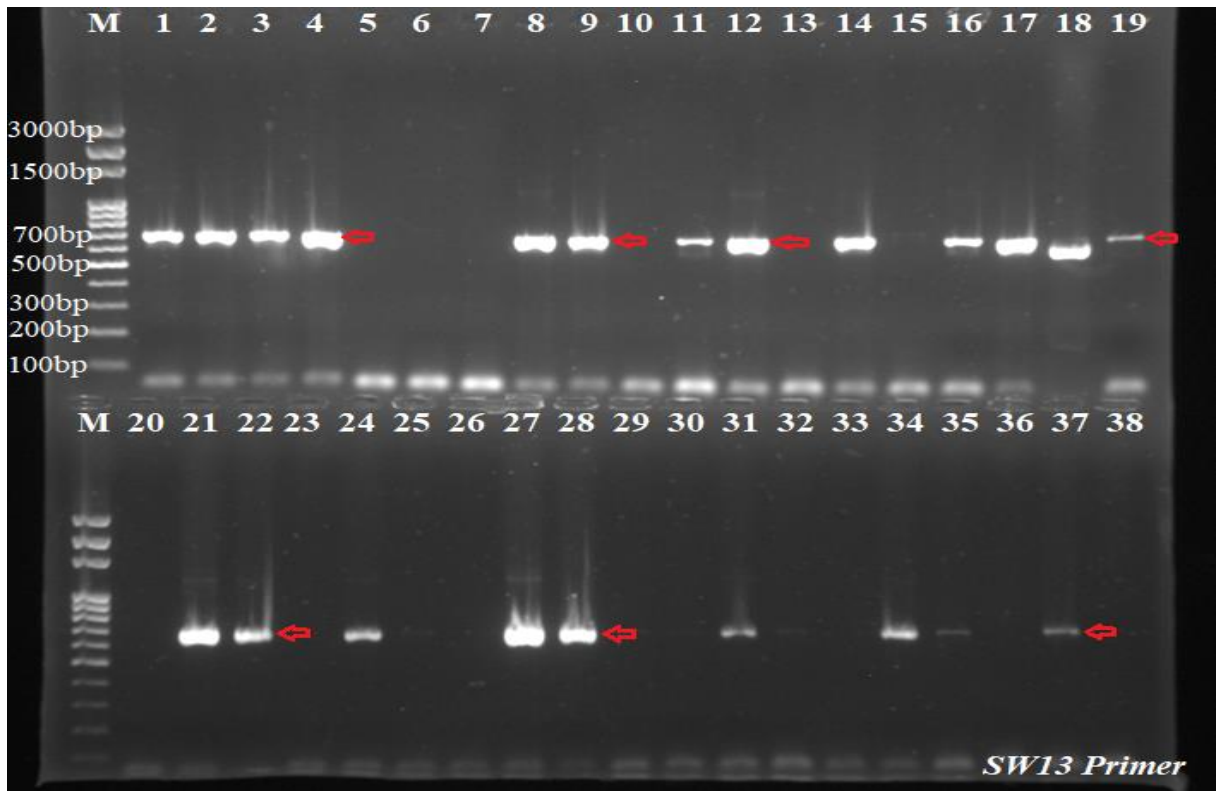
Şekil 4.2. eIF4E primeri ile kurulan pcr jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri (↔: 381/541 bç bant)



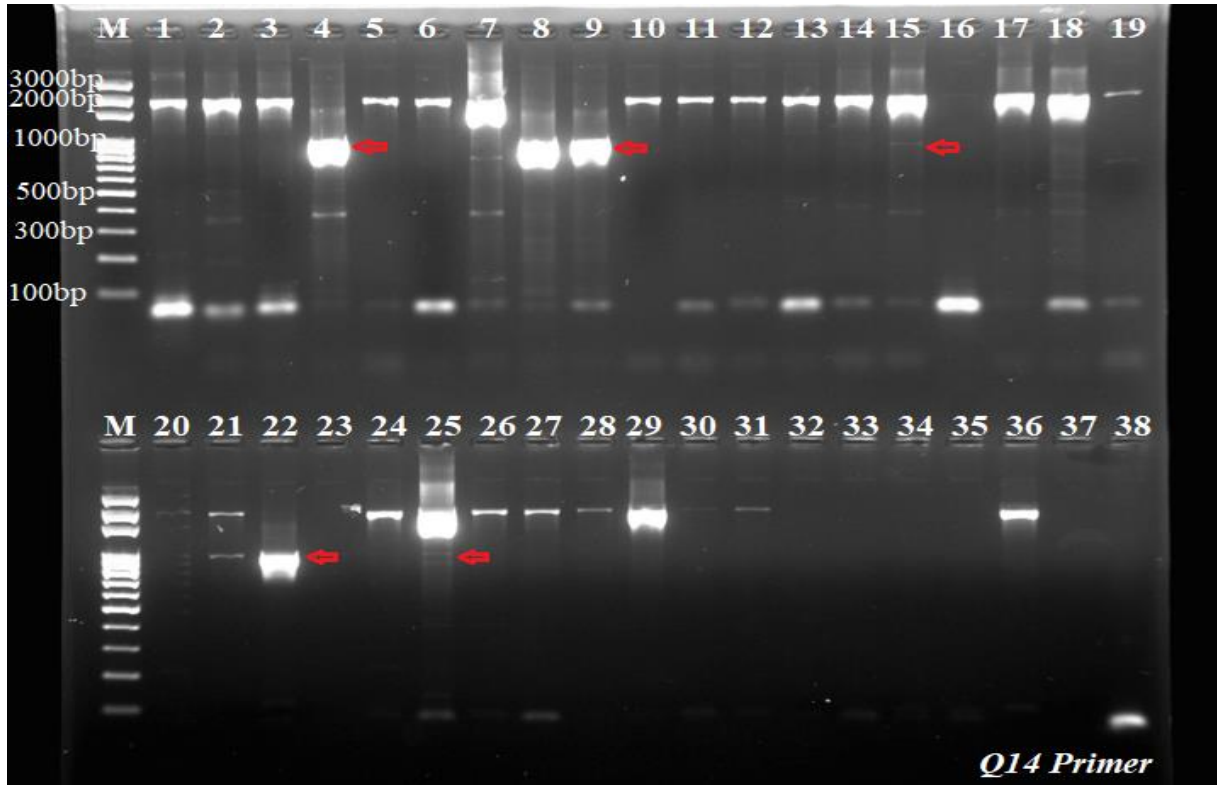
Şekil 4.3. SG6 primeri ile kurulan pcr jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri (↔ : 595 bç bant)



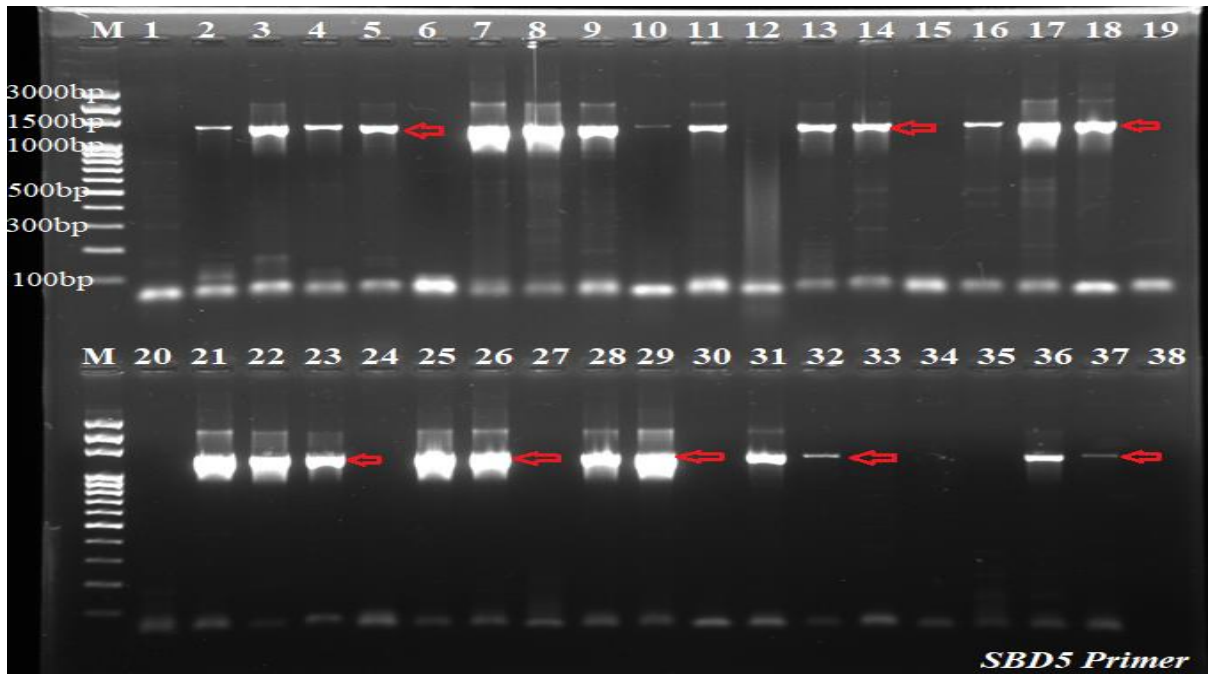
Şekil 4.4. SR2 primeri ile kurulan pcr jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri (↔ : 530/570 bç bant)



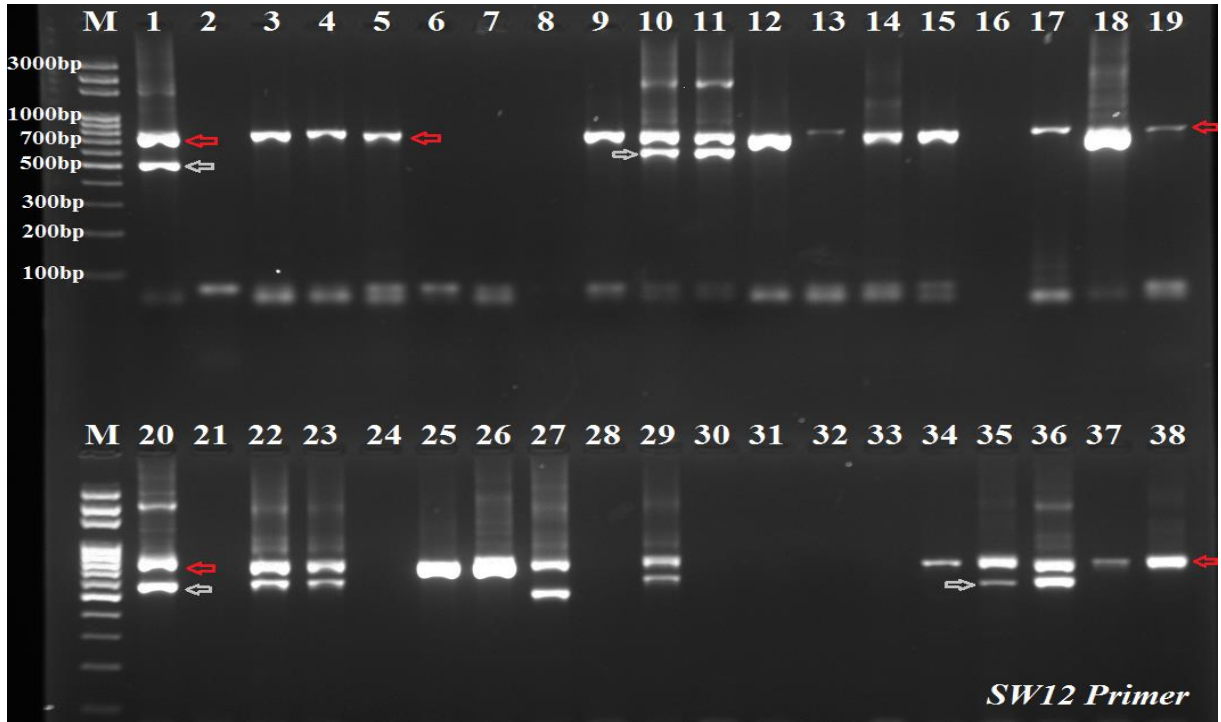
Şekil 4.5. SW13 primeri ile kurulan pcr jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri (↔ : 690 bç bant)



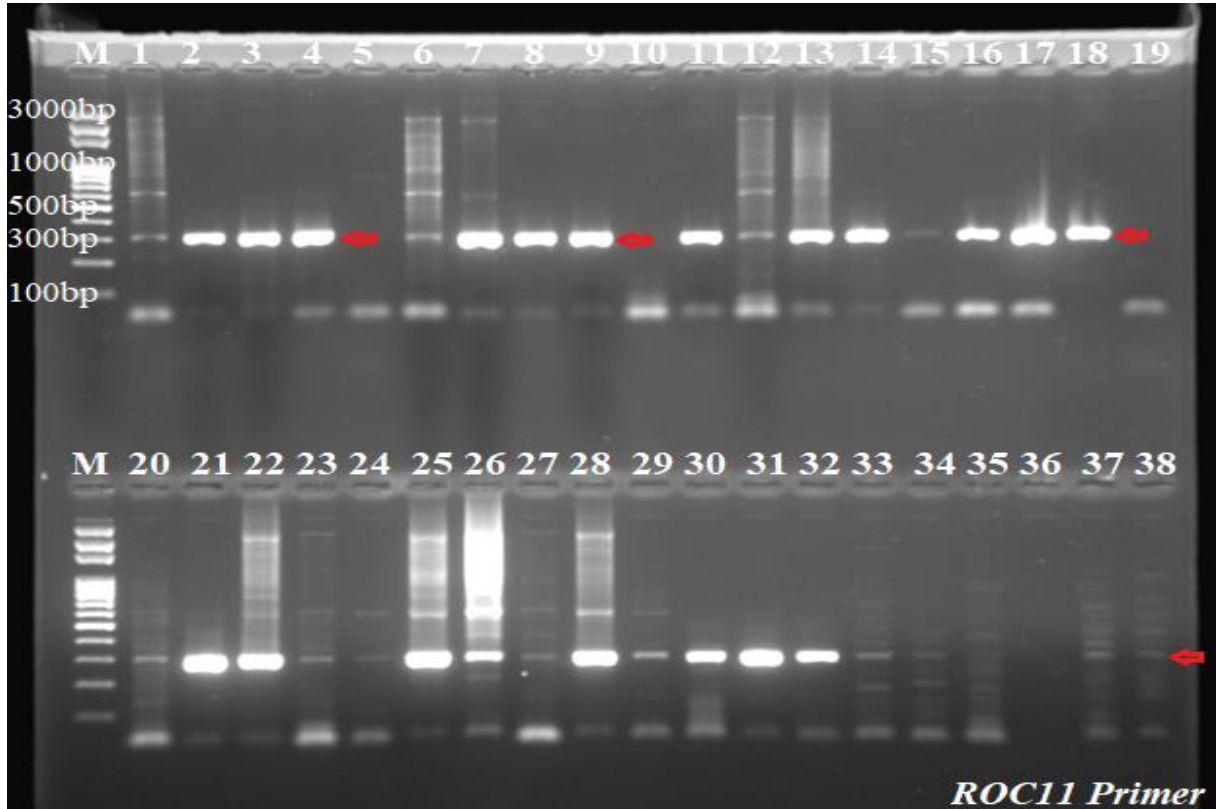
Şekil 4.6. Q14 primeri ile kurulan pcr jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri (↔ : 973 bç bant)



Şekil 4.7. SBD5 primeri ile kurulan pcr jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri (↔ : 1250 bç bant)



Şekil 4.8. SW12 primeri ile kurulan pcr jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri (↔ : 700 bç bant)



Şekil 4.9. ROC11 primeri ile kurulan pcr jel görüntüsü, M:100bç DNA Ladder, 1-38: Fasulye hat ve çeşitleri (↔ : 350/420 bç bant)

5. TARTIŞMA/SONUÇ

Hem dünyada hem ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen fasulye bitkisi, ekim alanı ve üretim miktarı bakımından yemeklik tane baklagillerin içerisinde ilk sırada yer almaktadır. Ülkemizin neredeyse her bölgesinde yetişme imkânı bulan ve bulunduğu bölgeye adaptasyonu sonucu *Phaseolus vulgaris* zamanla geniş yelpazede çeşitlilik göstermiştir. Yüksek protein içermesi; D, A, B1, B2 vitaminlerine sahip olması; lif içeriğinin fazla olması; potasyum, demir, magnezyum gibi mineralleri içermesi sebebiyle insan diyetinde önemli ölçüde yer edinmiştir (Aydoğan ve ark., 2020).

Nüfusun zamanla artması sonucu besin maddelerine duyulan ihtiyaç da artmaktadır. Bu durumda üretimi arttırmak gerekli olup, en iyi ve sağlıklı yolun da bitki ıslahı olduğu görülmektedir (Güleç ve ark., 2010). Bitki ıslahında amaç; hastalık etmenine dayanıklı, adaptasyon yeteneği yüksek, kalite ve verimi arttırmaya yönelik genetik yapıda gerçekleştirilen değişim sonucu yeni çeşitlerin elde edilmesidir (Yorgancılar ve ark., 2015). Klasik ıslah yönteminde hastalık etmelerine dayanıklılığı sağlayan genleri belirlemek için, duyarlı ve dayanıklı bitkilerin melezlenmesi esasına dayanır. Melezleme sonucu dayanıklı bireylerin tespiti için patojen ile test edilmesi gerekmektedir. Bu yöntem, ıslah sürecinde zorluk çıkarmakta ve fazla iş gücü gerektirmektedir. Aynı zamanda bitkinin birden fazla patojenle test edilmesi de mümkün değildir. Ancak, ıslah çalışmasında moleküler markörlerin kullanımıyla dayanıklı çeşitlerin tespiti hızlı olmakta ve bu uygulama iş yükünü de azaltmaktadır. Moleküler markörlerle aynı zamanda birden fazla dayanıklılık geni belirlenebilmektedir (Devran, Z., 2016).

Fasulye üretiminde yaygın olarak gözlenen yapraklarda kıvrılma, mozaik yapı oluşumu ve sistemik nekrozun gözlenmesi ekonomik anlamda büyük kayıplara neden olmaktadır. Bitkinin yapısında bu faktörlere neden olan hastalık etmenlerine karşı dayanıklı bitkilerin kullanılması, bu etkenlerle mücadelede büyük öneme sahiptir (Palacıoğlu ve ark., 2020).

Bu çalışmada, ülkemizde mevcut 38 farklı fasulye hat ve çeşidinde; BCMV, BGYMV ve CTV virüslerine karşı dayanıklılığı sağlayan direnç genlerinin moleküler markörlerle tespiti amaçlanmıştır. Örneklere ait DNA'lar, dokuz farklı SCAR markör kullanılarak PCR amplifikasyonları gerçekleştirilmiş ve elde edilen bulgular sonucunda fasulye örneklerine ait direnç gen profili çizelge 5.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 5.1.Çalışmada kullanılan fasulye hat ve çeşitlerinin BCMV, BGYMV ve CTV enfeksiyonlarına karşı dayanıklılık gen durumları

| Gen-primer Fasulye çeşit ve hat | bc-3 (Roc11) | bc-3 (elf4E) | bc-1 ² (SBD5) | bc-3 (SG6) | I geni (SW13) | bgm-1 (SR2) | Co-3 /Co-9 (SW12) | bct (SAS8) | bct (Q14) |
|---------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------------------|---------------|------------------|----------------|-------------------------|---------------|--------------|
| 1. Akman-98 | ✓* | ✓+ | - | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 2. Bulduk | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - | - |
| 3. Cihan | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - |
| 4. Gina | ✓* | ✓+ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| 5. Güngör | - | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | ✓ | - | - |
| 6. Karacaşehir- 90 | ✓+* | ✓+ | - | ✓ | - | ✓ | - | ✓ | - |
| 7. Zülbiye | ✓* | ✓+ | ✓ | ✓ | - | ✓ | - | ✓ | - |
| 8. Noyanbey- 98 | ✓* | ✓+ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | ✓ |
| 9. Sururbey | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| 10. 4F-2409 | - | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 11. Akın | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - |
| 12. Batallı | ✓* | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 13. Muzaffer | ✓+* | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | ✓ | - | - |
| 14. Topçu | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | |
| 15. Karaman | ✓* | ✓ | - | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| 16. Göynük- 98 | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - | - |
| 17. İstanbul | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 18.Aslan/Ko nya Dermasonu | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 19.Aslan/Ak man98 | - | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - |
| 20. Emerson | ✓+* | ✓ | - | ✓ | - | ✓ | ✓ | - | - |
| 21.Konya Dermason/Ba tallı | ✓* | ✓+ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | ✓ |

| | | | | | | | | | |
|---|-----|----|---|---|---|---|---|---|---|
| 22. Cardinal/ Yozgat Barbunyası | ✓* | ✓+ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ |
| 23. CB-929 Cranberry | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 24. UI-1140 | ✓* | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | - |
| 25. Balıkesir Barbunyası | ✓* | ✓+ | ✓ | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| 26. Yalancı Dermason(Er zincan) | ✓+* | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 27. (ES- 855/4F- 2834)-39 | ✓+* | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 28. Erzurum Şekeri/4F- 2813 | ✓+* | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | - | ✓ | - |
| 29. Aslan/Ak man- 98//Aslan | ✓* | ✓+ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 30.17 SBarBVD-11 | ✓+* | ✓ | - | ✓ | - | ✓ | - | - | - |
| 31.17 SBarBVD-12 | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - | - |
| 32. 17 SBVD-10 | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - | - |
| 33. 17 SBVD -14 | ✓+* | ✓ | - | ✓ | - | ✓ | - | - | - |
| 34. 17 SBVD-15 | ✓+* | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - |
| 35. 17 SBVD-18 | ✓* | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - |
| 36. 17 SBVD-19 | - | ✓ | ✓ | ✓ | - | ✓ | ✓ | ✓ | - |
| 37. 17 SBVD-20 | ✓* | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | - | - |
| 38. Ph-Corh (<i>Phaseolus coccineus</i>) | ✓* | - | - | ✓ | - | ✓ | ✓ | - | - |

✓: Direnç geni var, -: Direnç geni yok ✓+: Heterozigot form, ✓*: Mutant/şüpheli form
✓+*: Mutant/şüpheli Heterozigot form.

Fasulye örneklerine ait direnç gen profilini gösteren çizelge incelendiğinde; SAS8 markörünün kullanıldığı PCR amplifikasyonu ile toplam 21 adet fasulye hat ve çeşidinde 1550 bç büyüklüğünde ürün bandı elde edilmiştir. Bu ürün bandı, SAS8 markörü için beklenen özgül ürün büyüklüğüne sahip olup, bu markör için Larsen ve ark (2010) ile Miklas P., (2005)'nin yaptıkları deneysel çalışmalarda elde edilen bant büyüklükleriyle de örtüşmektedir. SAS8 markörü ile yapılan gen taramasında BCTV'e karşı *Bct* dayanıklılık geninin varlığı saptanabilmektedir (Larsen ve ark., 2010; Miklas P., 2005; Miklas P., 2010). Bilimsel literatürlerde BCTV hastalık etmenine karşı yine *Bct* dayanıklılık geninin varlığını gösterdiği ifade edilen Q14 markörü ile gerçekleştirilen amplifikasyonlar sonucunda sadece 7 adet fasulye bitkisinde (Gina, Noyanbey-98, Sururbey, Karaman, Konya Dermason/Batallı, Cardinal/Yozgat Barbunyası, Balıkesir Barbunyası) 973 bç büyüklüğünde beklenen özgül bant ürünü gözlenmiştir (Şekil 4.6.). Aynı direnç geni için farklı DNA dizilerine göre tanımlanan Q14 markörüne göre diğer 31 adet fasulye bitkisinde *Bct* geninin varlığı saptanamazken; aynı gen için SAS8 markörüne göre daha az sayıda fasulye bitkisinde direnç geni olduğu verisi elde edilmiştir. Aynı direnç geni için farklı markörler ile bitki de varlık/yokluk durumunun teyit edilmesi önemli olmakla birlikte; bu sonuçların tarladaki dayanıklılık verileri ile doğrulanması gerekmektedir. Bu markörlerde gözlenen (farklı ve çelişkili sonuçlara) benzer sonuçlar, Larsen ve ark. (2010)'nın yaptıkları çalışmada da gözlenmekte olup; bu çalışmanın verileri ile anlamlılık bakımından paralel nitelikte olduğu anlaşılmaktadır.

SR2 ve SW12 markörleri kullanılarak fasulye bitkilerinin BGYMV hastalık etmenine karşı direnç gen durumu incelenmiş, SR2 markörüyle *bgm-1* dayanıklılık geni için amplifikasyon sonuçları elde edilen veriler Şekil 4.4'de verilmiştir. Kodominant özellikteki SR2 markörüyle test edilen fasulye örneklerinde, literatüre göre 530 ve 570 bç büyüklüğünde iki bant profili de gözlenirken, bu çalışmada yalnızca 570 bç büyüklüğünde tek bant ürünü edilmiştir. Bu sonuç, çalışmada kullanılan fasulye örneklerinin tek bant profiline bağlı olarak homozigot yapıda olduklarını düşündürmektedir. Bu markörle yapılan amplifikasyonlar sonucunda tüm örneklerin *bgm-1* dayanıklılık genini içerdiği tespit edilmiştir. Aynı hastalık etmenine farklı dayanıklılık geni olan *Co-3/Co-9*'a sahip çeşitlerin tespiti için SW12 markörü de kullanılmış ve PCR amplifikasyonları sonucunda Şekil 4.8'de gözlenen ürün bantları elde edilmiştir. Toplam 26 fasulye çeşidinde beklenen 700 bç boyutundaki özgül bant gözlenmiştir. Bulduk, Karacaşehir-90, Zülbiye, Noyanbey-98, Göynük-98, Konya Dermason/ Batallı, U1-1140, Erzurum şekeri/4F-2813, 17 SBarBVD- 11, 17 SBarBVD-12, 17 SBVD-10, 17 SBVD-14 örneklerinin *Co-3/Co-9* genlerine sahip olmadığı anlaşılmaktadır (Çizelge 5.1). Bu markör için mevcut literatür verilerinden farklı olarak, bazı fasulye örneklerinde 500 ve 600 bç

büyükliğinde özgül ve yoğun ürün amplifikasyonunun var olduğu görülmüştür. Beklenenden farklı ürün bantlarının yoğunluğunun fazla olması; bu markör primerlerinin bazı örnek DNA'ları için yüksek oranda eşleşme/özgüllük gösterdiğini göstermektedir. Dolayısıyla, *Co-3/Co-9* direnç geniyle ilgili olma ihtimali söz konusu olan bir bölgenin farklı büyüklükte ve yüksek orandaki amplifikasyonu; bu örneklerin, 700 bç'lik tek bant homozigot bir gen profili dışında, 500-600 bç'lik heterozigot ya da mutant formlu olma ihtimalini ortaya çıkarmıştır.

Fasulye örneklerinde *I* direnç geninin varlığının tespitinde kullanılan SW13 markörü ile yapılan amplifikasyonlar sonucunda 690 bç büyüklüğünde özgül PCR ürün bantı gözlenmiştir (Şekil 4.5). Toplam 22 fasulye örneğinin *I* genine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5.1). Ancak, bu markör için Aslan/Konya Dermasonu örneğinde (18. örnek) 600-700 bç arasında ve 690 bç'den daha küçük, literatürde bahsedilmeyen beklenmedik yoğun ürün bandının görülmesi; bu örnekte *I* geninin olası mutant bir formunun olabileceği ihtimalini düşündürmektedir.

BCMV'e karşı fasulye bitkilerinde *bc-3* direnç geninin tespitinde; ROC11, eIF4E ve SG6 markörleri kullanılarak PCR amplifikasyonları gerçekleştirilmiştir. SG6 markörü, tüm örneklerde 595 bç boyutunda beklenen özgül PCR ürün bandını vermiştir (Şekil 4.3). Bu sonuca göre tüm fasulye örneklerinde *bc-3* dayanıklılık geninin var olduğu kanısına varılmıştır (Çizelge 5.1).

eIF4E markörü kullanılarak yapılan PCR amplifikasyonlarının sonucu ise Şekil 4.2'de görülmektedir. Çalışmada dış grup olarak değerlendirilebilecek olan 38'inci örnek *Phaseolus coccineus* hariç tüm fasulye çeşit ve hatlarında 541 bç boyutundaki beklenen PCR ürün bandı gözlenmiştir. Bu marköre göre toplam 37 örnekte *bc-3* direnç geninin var olduğu anlaşılmış ve SG6 markörünü doğrular nitelikte sonuç alınmıştır. Ancak, eIF4E markörü için literatür bilgilerinde 381 bç'lik ürün bant varlığının, bu gen için heterozigot formunun olabileceğini göstermektedir (Miklas P., 2010; Palacioğlu ve ark., 2020). Karacaşehir-90, Zülbiye, Noyanbey-98 örneklerinde yaklaşık 381 bç'lik ürün görülmektedir. Bu çeşitlerin heterozigot formunda olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bazı fasulye örneklerinde farklı boyutlarda beklenilmeyen ve özgül olmayan bant ürünleri de gözlenmiştir.

ROC11 markörü ile gerçekleştirilen PCR amplifikasyonları Şekil 4.9'da verilmiştir. Bu markör için literatürde bildirilen ürün boyutu 350/420 bç şeklindedir (Miklas P., 2010; Palacioğlu ve ark., 2020). Güngör, 4F-2409, Aslan/Akman-98, 17 SBVD-19 örneklerinde herhangi bir PCR ürününe rastlanılmadığı için *bc-3* direnç geni bakımından negatif sonuç gözlenmiştir (Çizelge 5.1.) Karacaşehir-90, Muzaffer, Emerson, Yalancı Dermason(Erzincan), ES-855/4F-2834, Erzurum Şekeri/4F-2813, 17 SBarBVD-11, 17SBVD-14, 17 SBVD-15

çeşitlerinde ise beklenen büyüklükte bantlar bulunmamakla birlikte yaklaşık 300 bç'nin üzerinde kalın bantlar gözlenmiştir. Bu bantların beklenen 350 bç'lik bantlar olma ihtimali yüksek görülmekle birlikte; bu örneklerin içerdikleri dizi bakımından mutant formda olabilecekleri ya da direnç geni bakımından şüpheli oldukları sonucuna varılmıştır. Bazı örneklerde ise özgül olmayan bazı bantların da görülmesi; bu markörün etkinliğinin düşük olduğu ihtimalini düşündürmektedir. ROC11, SW13 ve eIF4E markörleriyle gerçekleştirilen deneysel çalışma sonuçlarının; Palacıoğlu ve ark. (2020) ve Yeken ve ark.(2018)'nin çalışma verileriyle paralel olduğu anlaşılmıştır.

BCMV enfeksiyonuna karşı *bc-1²* direnç geninin varlık durumunun tespiti için SBD-5 markörü ile PCR amplifikasyonları gerçekleştirilmiş ve elde edilen bant profilleri Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Toplam 38 fasulye örneğinin 25'inde 1250 bç boyutunda beklenen özgül PCR ürün bantı gözlenirken, 13'ünde herhangi bir bant profiline rastlanılmamıştır. *Bc-1²* direnç geni bakımından fasulye örneklerinin gen profilleri Çizelge 5.1'de verilmiştir. Gina, Zülbiye, Göynük-98 ve Bulduk çeşitlerinde gözlenen PCR ürün bant profilleri, Palacıoğlu ve arkadaşlarının (2020) yaptığı çalışma ile örtüşmektedir. Bu sonuçlar, Yeken ve ark. (2018) ve Deligöz ve Sökmen'in (2013) çalışmalarıyla da benzerlik göstermektedir.

Bitki virüsleri ve farklı patotiplerine karşı mücadelede en etkili yöntem, üretimde hastalığa karşı dayanıklı tohumların kullanılmasıdır (Yeşil ve Ertunç, 2012). Bu yüzden mevcut dayanıklı çeşitlerin direnç gen profillerinin tespiti önem arz etmektedir. Yeni dayanıklı bitki çeşitlerinin ıslah çalışmalarında markör destekli seleksiyon (MAS) ciddi avantajlar sağlamakta ve süreci hızlandırmaktadır. Direnç gen profili çalışmaları, MAS için önemli veriler ihtiva etmekte olup ıslah çalışmalarında aday ebeveynlerin belirlenmesini kolaylaştırmaktadır. Bu çalışmada, ülkemizde yetiştirilen fasulye çeşit ve hatlarında, üretimde büyük kayıplara yol açan ve verim düşüklüğüne sebep olan BCMV, BGYMV ve CTV enfeksiyonuna karşı 38 farklı fasulye örneğinin direnç gen profilleri SCAR markörler kullanılarak tespit edilmiştir. Özellikle, literatüre göre BCMV'nin NL1, NL2, US2 ve NL7 suşlarına karşı dirençte etkili olduğu bildirilen *bc-1²* genine (Deligöz ve Sökmen, 2011) sahip fasulye örneklerinin, bu hastalığın yaygın görüldüğü bölgelerdeki dayanıklı bitki ıslahı çalışmalarında aday olarak kullanılabileceği öngörülmektedir. Çalışma materyali olan fasulye örneklerinin her birinin sahip olduğu gen profili çizelge 5.1'de gösterilmiş olup; bu verilerin özellikle tarladaki dayanıklılık verileriyle desteklenmesi ve teyit edilmesi, ıslah çalışmaları için daha etkili olacaktır.

KAYNAKÇA

- Ahmed, E.** (2008). *Meram (Konya) İlçesinde Solanaceae Familyasına Ait Sebzelerde Zararlı Cıcadellidae Ve Cixidae (Homoptera) Türleri*. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Akbulut, S. E.** (2021) *Fasulye (Phaseolus vulgaris L.) bitkisinde WOX gen ailesi üyelerinin genom düzeyinde tanımlanması ve tuz stresi sırasında ifade profilleri* (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Aksoy, H. M., & Armağan, Ö. Z.** (2012). Bakteriyel Patojenlere Karşı Bitkilerdeki Dayanırlılık Mekanizmaları. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(3), 165-173.
- Alan, B.** (2012). Doğu Akdeniz Bölgesinde yetiştirilen bazı kışlık sebzelerde hastalık yapan virüslerin tanınması ve karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Altıkardeşler, A.** (2006). *Fasulye pası (Uromyces appendiculatus (Pers.: Pers.) unger)'na karşı fasulye çeşitlerinin reaksiyonu ve bazı fungusitlerin etkisi* (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi). Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Anonim a,** *Phaseolus vulgaris L.*, [Erişim:15.04.22 https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/70336/mod_resource/content/1/10%20FASULYE%20%28Phaseolus%20vulgaris%20L.pdf]
- Anonim b,** [Erişim:28.03.22 <https://bakbugross.com/bakbu-kuru-fasulye-sira-kg-dokme.html>]
- Anonim c,** Göynük Bombay Fasulye [Erişim: 15.04.2022, <https://www.kulturportali.gov.tr/turkiye/bolu/nealinir/goynuk-bombay-fasulye>]
- Anonim d,** [Erişim:28.03.22 <https://kayseri.tarimorman.gov.tr/Haber/1811/Kuru-Fasulye-De-Tohum-Bakanliktan-Yukse-Verim-Ureticimizden>]
- Anonim e,** Wikipedia, Begomovirus [Erişim: 25.03.2022, <https://en.wikipedia.org/wiki/Begomovirus>]
- Anonim f,** [Erişim:01.05.22 <https://www.lamdabio.com/products/DNA-Ladders-SafeStain/100bp-plus-dna-ladder-M111-1>]
- Avican, Ö.** (2019). *Fasulye (Phaseolus vulgaris L.) ıslah programında genitör olarak kullanılabilir genotiplerin ve bazı ticari çeşitlerin SSR ve SNP analizleri kullanılarak genetik karakterizasyonu* (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi). Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Aydoğan, C., Elkoca, E., Halilođlu, K., & Aydın, M. (2020). Bazı İspir kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) hatlarının seleksiyonu üzerine bir ön alışma. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 30(2), 251-265.

Bird, J., Pérez, J. E., Alconero, R., Vakili, N. G., & Meléndez, P. L. (1972). A whitefly-transmitted golden-yellow mosaic virus of *Phaseolus lunatus* in Puerto Rico. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 56(1), 64-74.

Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü Tarla ve Bahçe Bitkileri Daire Başkanlığı (2022), Dünyada Kuru Fasulye. [Erişim: 22.03.2022, [https://www.istib.org.tr/resim/siteici/files/918_Kuru%20Fasulye%20B%C3%BClteni%20-%20C3%9Cr%C3%BCn%20Masalar%C4%B1%20\(Ocak%202022\).pdf](https://www.istib.org.tr/resim/siteici/files/918_Kuru%20Fasulye%20B%C3%BClteni%20-%20C3%9Cr%C3%BCn%20Masalar%C4%B1%20(Ocak%202022).pdf)]

Bolat, M., Ünüvar, F. İ., & Dellal, İ. (2017). Türkiye’de yemeklik baklagillerin gelecek eğilimlerinin belirlenmesi. *Tarım Ekonomisi Araştırmaları Dergisi*, 3(2), 7-18.

Bracero, V., Rivera, L. I., & Beaver, J. S. (2003). DNA analysis confirms *Macroptilium lathyroides* as alternative host of Bean golden yellow mosaic virus. *Plant disease*, 87(9), 1022-1025.

al, G. (2013). *Sakarya ili şeker pancarı tarlalarında görülen önemli yabancı ot türleri, yoğunlukları ve rastlanma sıklıklarının belirlenmesi* (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi). Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

il, E. E. (2006). *UV-C ışın stresinin sera şartlarında yetiştirilen fasulye (Phaseolus vulgaris l. cv. atlanta) üzerinde bazı morfolojik ve fizyolojik etkilerinin araştırılması* (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi). Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.

Deligöz, I., Arlı Sökmen, M. (2013). Bazı fasulye genotiplerinin Bean common mosaic virus (BCMV) ve Bean common mosaic necrosis virus (BCMNV)’a dayanıklılık durumlarının kalitatif, kantitatif ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 53(2), 101-113.

Deligöz, İ., & Sökmen, M. A. (2011). Fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*)’de bean common mosaic virus ve bean common mosaic necrosis virus’e dayanıklılık. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 26(1), 77-82.

Demir, C. (2011). *Ordu İlinde Yetişen Taze Fasulye (phaseolus vulgaris l.) Tiplerinde Karakterizasyonun Belirlenmesi* (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi). Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.

Devran, Z. (2016). Moleküler İşaretleyicilerin Dayanıklılık Islahında Kullanılması. *Derim*, 20(1), 1-6.

Doğan, Y., Toğay, N., & Toğay, Y., (2011). Türkiyede Yetiştirilen Börülce (*Vigna Unguolata* L. WALP) Çeşit ve Genotiplerin Hidratasyon Kapasiteleri, Hidratasyon İndeksleri ve Sert Tohum Kabuğu Oranlarının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 16(1), 1-4.

Dovletova, A., (2019) *Isatis floribunda boiss. ex bornm.(Brassicaceae) bitkisinde rapd-pcr yöntemi ile genetik çeşitlilik analizi* (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi). Aksaray Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aksaray.

Erdinç, Ç. (2012). Türkiyedeki bazı fasulye genotipleri arasındaki genetik çeşitliliğin ve antraknoz hastalığına (*Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. and Magn.) Lambs. Scrib.) dayanıklılığın fenotipik ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Van.

Filiz, E., & Koç, İ., (2011). Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2011(2).

Garrido-Ramirez, E. R., Sudarshana, M. R., & Gilbertson, R. L. (2000). Bean golden yellow mosaic virus from Chiapas, Mexico: characterization, pseudorecombination with other bean-infecting geminiviruses and germ plasm screening. *Phytopathology*, 90(11), 1224-1232.

Gepts, P. (2001). *Phaseolus vulgaris* (beans). *Encyclopedia of genetics*, 1444-1445.

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı (2015). Yemelik Baklagiller. [Erişim: 25.03.22 https://www.tarimorman.gov.tr/Belgeler/yemelik_baklagil_kitabi.pdf]

Gökdemir, F. (2019). Fasulye (*Phaseolus Vulgaris* L.) Bitkisinde Whirly Ve Arr-B Genlerinin Genom Düzeyinde Tanımlanması, Karakterizasyonu Ve Biyotik Stres Cevabı İle Olan İlişkilerinin Gen İfadesi Düzeyinde Belirlenmesi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Güleç, T. E., Yıldırım, A., Sönmezoğlu, Ö. A. (2010). Bitkilerde markör destekli seleksiyon. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 67-79.

Gülümser, A. (2016). Dünyada ve Türkiye’de yemelik dane baklagillerin durumu. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25(ÖZEL SAYI-1), 292-298.

Isparta Tarım Orman, Fasulye Yetiştiriciliği. [Erişim: 25.03.2022, <https://isparta.tarimorman.gov.tr/Belgeler/Faydal%C4%B1%20Bilgiler/%E2%80%8BBitkisel%20Yeti%C5%9Ftiricilik/Tarla%20Bitkileri%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9Fi/Fasulye%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9Fi.pdf>]

İlbağı, H., & Çıtır, A. (2006) Bitkilerde Virüs Hastalıklarına Karşı Dayanıklılık Mekanizmaları. *Bahçe*, 35(1), 109-116.

- Kan, M., Sözen, Ö., Kan, A., Karadavut, U., & Yağmur, M.** (2019). Orta Kızılırmak Vadisi'nde üretici şartlarında yerel kuru fasulye populasyonlarının doğal kaynak ekonomisi açısından genel değerlendirilmesi. *Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(3), 389-398.
- Kardeş, E. Y. M., Mut, Z., Gültaş, H. T., Köse, Ö. D. E., & Karaer, M.** (2019) Effect Of Treated Wastewater On Germination And Seedling Growth Of Two Different Bean (*Phaseolus vulgaris L.*) Cultivar. Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Tarım ve Doğa Bitkileri Fakültesi, Bilecik.
- Kaplan, E., Bal, S. S., & Ayçiçek, M.** (2018). Bingöl ilinde yetiştirilen bazı fasulye (*Phaseolus vulgaris*) çeşitlerinde tespit edilen böcek populasyonları ve *Acanthoscelides obtectus*'a Tepkileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27(1), 47-54.
- Kaya, R.,** (2012). Şeker Pancarı Tepe Kıvrıklığı (Beet Curly Top Virüs) Hastalığı. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(1), 52-58.
- Keçeci, M., Baysal, Ö., Soysal, M., & Tekşam, İ.** (2007). Bitkilerde Böceklerle Dayanıklılık Mekanizmaları. *Derim*, 24(1), 19-31.
- Keleş, D.** (2015) *Fasulye Yetiştiriciliği*. [Erişim: 24.03.2022, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/alata/Belgeler/Diger-belgeler/Fasulye%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9FiDKele%C5%9F.pdf>]
- Kelly, J. D.** (1997). A review of varietal response to bean common mosaic potyvirus in *Phaseolus vulgaris*. *Plant varieties and seeds*, 10(1), 1-6.
- Kılıç, H. Ç., & Yardımcı, N.** (2012). Burdur Çine Ovası fasulye alanlarında hıyar mozaik virüsü. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(2), 12-15.
- Kılıç, H. Ç., & Yardımcı, N.** (2014). Burdur İli Fasulye Üretim Alanlarında Fasulye Adi Mozaik Virüsü'nün Serolojik Ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 1(2), 289-294.
- Kılıç, H. Ç., Yardımcı, N., & Ürgen, G.** (2013). Muğla ili Fethiye ilçesinde fasulye alanlarında önemli bazı virüs hastalıklarının araştırılması. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27(1), 1-8.
- Koç, E., & Üstün, A. S.** (2008). Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma Ve Antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 24(1), 82-100.
- Kutluk Yılmaz, N. D., Gümüş, M., Erkan, S.** (2002). Tokat ilinde fasulye tohumlarındaki viral etmenlerin saptanması üzerinde araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(3), 49-55.

- Kızmaz, M. Z., & Gümüş, M.** (2021) Yemeklik Baklagil Tohumlarıyla Taşınan Bazı Virüslerin Tespiti, Biyolojik ve Moleküler Karakterizasyonu. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 8(3), 784-799.
- Larsen, R. C., Kurowski, C. J., & Miklas, P. N.** (2010). Two independent quantitative trait loci are responsible for novel resistance to beet curly top virus in common bean landrace G122. *Phytopathology*, 100(10), 972-978.
- Larsen, R. C., & Miklas, P. N.** (2004). Generation and molecular mapping of a sequence characterized amplified region marker linked with the Bct gene for resistance to Beet curly top virus in common bean. *Phytopathology*, 94(4), 320-325.
- Mızrak, G.** (2020). *Fasulye Yetiştiriciliği*. Gürbüz Mızrak.
- Miklas, P.** (2005). DNA markers (SCARS) linked with disease resistance traits in bean (*Phaseolus vulgaris*). *Annual Report of the Bean Improvement Cooperative, East Lansing, USA*.
- Miklas, P. N.** (2010). SCAR markers linked with disease resistance traits in common bean (*Phaseolus vulgaris*), 2-4.
- Osorno, J. M., Munoz, C. G., Beaver, J. S., Ferwerda, F. H., Bassett, M. J., Miklas, P. N., & Bussey, B.** (2007). Two genes from *Phaseolus coccineus* confer resistance to bean golden yellow mosaic virus in common bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 132(4), 530-533.
- Osorno, J. M., Román, M. A., Perea, C. G. M., Ferwerda, F. H., & Beaver, J. S.** (2004). Recent advances in the development of bean golden yellow mosaic resistant bean lines. *Annual Report-Bean Improvement Cooperative*, 47, 51-52.
- Özkaya, E.** (2013). Yemeklik Tane Baklagiller'in Türkiye Ekonomisindeki Önemi. *Ziraat Mühendisliği*, (360), 22-31.
- Palacioğlu, G., Şanlı, İ., Bayraktar, H., Göksel, Ö.** (2020). Ülkemizde Yetiştirilen Bazı Fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) Çeşitlerinin BCMV ve BCMNV'e Karşı Dayanıklılık Kaynaklarının Belirlenmesi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 6(3), 453-460.
- Rahman, A., Akhter, B., Razia, S., & Haque, M.** (2021). Screening Lablab Bean Genotypes For Higher Grain Yield And Resistance Against Bean Common Mosaic Virus. *Sabrao J. Breed. Genet*, 53(1), 57-69.
- Román, M. A., Castañeda, A. M., Sánchez, J. C. A., Muñoz, C. G., & Beaver, J. S.** (2004). Inheritance of normal pod development in bean golden yellow mosaic resistant common bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(4), 549-552.

Ruhimbana, C., & Mutlu, N. (2019). Marker-assisted pyramiding potyvirus resistance genes into Rwandan common bean (*Phaseolus vulgaris L.*) genotypes. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 32(3), 381-385.

Saleem, Z. M., Ahmed, S., & Hasan, M. M. (2016). *Phaseolus vulgaris Linn.*: Botany, Medicinal Uses, Phytochemistry And Pharmacology. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 5(11), 1611-1616.

Saraçoğlu, K., & Erkan, S. (2016). Fasulye tohumlarındaki viral etmenlerin saptanmasında tanı yöntemlerinin duyarlılıklarının incelenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 53(3), 309-315.

Sarioğlu, G., & Velioglu, Y. S. (2018). Baklagillerin bileşimi. *Akademik Gıda*, 16(4), 483-496.

Sökmen, V., (2002). Epidemiyolojisi. *Erciyes Medical Journal*, 40(1), 40-47.

Tör, M., (1996) Bitkilerde Moleküler Konukçu-Patojen İlişkilerindeki Son Gelişmeler. Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Antalya.

Turunç, A., & Kaçar, Y. A. (2010). *Klemantin mandarininde (Citrus clementina Blanco) SSR markörleri ile genetik haritalama* (Yayınlanmış Yüksek Lisans Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Türkiye Tohumcular Birliği (TÜRKTÖB) (2014), Tatvan'da Kuru Fasulye Ekimi Yapılacak. [Erişim: 25.03.2022, <https://www.turktob.org.tr/tr/tatvanda-kuru-fasulye-ekimi-yapilacak/14904>]

Ulum, M., Kılıç, H. Ç., Yardımcı, N. (2020). Burdur İlinde Yetiştirilen Fasulye Bitkilerinde Bean Yellow Mosaic Virus (BYMV)'ünün Araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(1), 43-47.

Uzunoğulları, N., & Gümüş, M. (2017). Virüs taksonomisinin tarihsel gelişimi ve son durumu. *Bahçe*, 46(2), 51-57.

Wageningen University Research, Sequence Characterized Amplified Region (SCAR), [Erişim: 25.03.2022 <https://www.wur.nl/en/show/Sequence-Characterized-Amplified-Region-SCAR.htm>]

Wikipedia, (2021), Fasulye [Erişim: 20.03.2022, [https://tr.wikipedia.org/wiki/Fasulye#:~:text=Fasulye%20\(Phaseolus%20vulgaris\)%2C%20baklagiller,yeti%C5%9Fen%20otsu%20bir%20bitki%20t%C3%BCr%C3%BC.](https://tr.wikipedia.org/wiki/Fasulye#:~:text=Fasulye%20(Phaseolus%20vulgaris)%2C%20baklagiller,yeti%C5%9Fen%20otsu%20bir%20bitki%20t%C3%BCr%C3%BC.)]

Yeken, M. Z., Göksel, Ö., Çelik, A., & Çiftçi, V. (2018). Türkiye'de ticari fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) çeşitlerinde bean common mosaic virus ve bean common mosaic necrosis virus etmenlerine dayanıklılıkla ilişkili genlerin karakterizasyonu. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(4), 613-619.

Yeşil, S., & Ertunç, F. (2012). Bitki Virüsleriyle Mücadelede Yeni Stratejiler: Virüs Enfeksiyonlarına ve Vektörlerine Karşı Dayanıklılığın Geliştirilmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 2(4), 19-28.

Yolci, M. (2020). Erciş (Van) Ekolojik Koşullarında Bazı Fasulye (*Phaseolus Vulgaris* L.) Çeşitlerinin Verim ve Verim Unsurlarının Belirlenmesi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (18), 562-567.

Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2), 1-12.