T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONYA BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN BODUR KURU FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) POPULASYONLARININ GENETİK FARKLILIKLARININ VE BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ali KAHRAMAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

KONYA - 2008

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONYA BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN BODUR KURU FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) POPULASYONLARININ GENETİK FARKLILIKLARININ VE BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ali KAHRAMAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
KONYA - 2008

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONYA BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN BODUR KURU FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) POPULASYONLARININ GENETİK FARKLILIKLARININ VE BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ali KAHRAMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 17 / 07 / 2008 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / ~~oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa ÖNDER
(Danışman)

Yrd. Doç. Dr. Ercan CEYHAN
(Üye)

Yrd. Doç. Dr. Erdoğan Eşref HAKKI
(Üye)

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KONYA BÖLGESİNDE YETİŞTİRİLEN BODUR KURU FASULYE (*Phaseolus vulgaris* L.) POPULASYONLARININ GENETİK FARKLILIKLARIN VE BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Ali KAHRAMAN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa ÖNDER

2008, 58 sayfa

Jüri: Prof. Dr. Mustafa ÖNDER

Yrd. Doç. Dr. Ercan CEYHAN

Yrd. Doç. Dr. Erdoğan Eşref HAKKI

Bodur kuru fasulye populasyonları arasındaki genetik farklılıkların ve bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu araştırma Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesine ait kontrollü sera ve Moleküler Genetik laboratuvarında 2007 yılında yapılmıştır. Araştırmada Konya ili merkez, ilçe ve köylerinden toplanan 38 populasyon ile 4 tescilli çeşit kullanılmıştır.

Bu araştırmada populasyonlar arasındaki genetik farklılıklar moleküler düzeyde yapılan ISSR yöntemiyle, tanelerin protein oranları Keldhal cihazı ile yaş yakma yöntemiyle ve tanelerin bitki besin maddesi içerikleri ICP cihazıyla belirlenmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre, populasyonların genetik yönden başlıca 3 ana gruba ayrıldığı, protein oranlarının 20.11 – 28.59 arasında değiştiği ve bu farklılığın istatistiki olarak önemli ($p<0.01$) olduğu tespit edilmiştir. Tanelerin element içerikleri farklılık göstermesine rağmen tüm elementlerde populasyonlar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemli olmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Besin elementleri, ISSR, kalite, kuru fasulye, polimorfizm**,** protein oranı

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF GENETIC DIFFERENCES AND SOME QUALITY CHARACTERISTICS OF THE DWARF DRY BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.) POPULATIONS GROWN IN KONYA PROVINCE

Ali KAHRAMAN

Selcuk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa ÖNDER

2008, 58 pages

Jury: Prof. Dr. Mustafa ÖNDER

Asist. Prof. Dr. Ercan CEYHAN

Asist. Prof. Dr. Erdoğan Eşref HAKKI

This research was executed to determine genetic differences and some quality characteristics of the dwarf dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) populations collected from the province Konya. Seedling, were grown in a controlled greenhouse of Selçuk University, Faculty of Agriculture during the year 2007. A total of 38 populations were gathered from the city center, the towns and the villages and 4 certified varieties were also included. Genetic differences were determined in ISSR method while the grain protein contents were determined by use of a Keldhal. Wet burn method used and the ICP analysis of nutritional components of the grains were also conducted.

Our results have demonstrated that the populations used in the study were clustered into 3 major groups. Protein contents were in the range of 20.11 – 28.59 % presenting a difference statistically significant ($p<0.01$). Though considerably differences were observed in the element contents of the populations, these differences were statistically insignificant.

Key Words: Dry bean, ISSR, nourishment elements, polymorphism, protein ratio, quality

TEŞEKKÜR

İnsan beslenmesi için oldukça önemli olan kuru fasulye ile ilgili bu tezin konusunun belirlenmesinden sonuçların yazımına kadar çalışmanın her aşamasında bana büyük bir sabır ve olgunlukla yaklaşan, önemli katkı ve yardımlarını mesai mefhumunu düşünmeden gösteren, kendimi onun öğrencisi olduğum için her zaman şanslı hissettiğim ve acaba bir gün ben de onun gibi olabilir miyim diye düşünerek yaşam tarzını her zaman ve her konuda kendime örnek aldığım danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa ÖNDER'e, laboratuvar çalışmalarında bilgi ve desteklerini esirgemeyen, benim için bir mesai arkadaşından çok daha fazla değeri olan Yrd. Doç. Dr. Mustafa YORGANCILAR, Ziraat Mühendisi Songül UYGAN, Arş. Gör. Fatma GÖKMEN, Arş. Gör. Emine ATALAY'a, tezin yazım aşamasında benimle beraber strese giren ve kendi işi gibi benimseyen sevgili hemşehrim Arş. Gör. İbrahim AYTEKİN'e, öğrenciliğimden bu yana bir hocadan çok ailemden biri kadar yakın olan ve birisine yakın olabilmek için kan bağının önemli olmadığını anlamamı sağlayan, gönül borcumu nasıl ödeyeceğimi bilemediğim değerli meslektaşım Arş. Gör. Rahim ADA'ya, bu çalışmanın finansal desteğini sağlayan ve araştırma projemizi onaylayan (06401030 no'lu) S.Ü. BAP Koordinatörlüğüne ve Fen Bilimleri Enstitüsü personeline, laboratuvar imkanları sunan Yrd. Doç. Dr. Erdoğan Eşref HAKKI'ya, hayatım boyunca yaptığım tüm güzel işlerin ortaya çıkmasını sağlayan, maddi manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili aileme teşekkürleri bir borç bilirim.

Arş. Gör. Ali KAHRAMAN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR……	i
İÇİNDEKİLER……..	ii
SİMGELER……	iv
ÇİZELGELER……	v
1. GİRİŞ……	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI…….	5
2.1. Moleküler Çalışmalar…….	5
2.2. Protein Oranı ile İlgili Çalışmalar……...	8
2.3. Elementel Analiz Çalışmaları…….	11
3. MATERYAL VE METOT…….	16
3.1. Materyal……..	16
3.1. 1. Toprak Materyali……...	16
3.1.2. Tohum Materyali……	16
3.2. Metot…….....	18
3.2.1. DNA örneği için yetiştirilen bitkilerin sera denemesinin kuruluşu ve yürütülmesi……	18
3.2.2. Laboratuvar analizleri…….	18
3.2.2.1. DNA izolasyonu ve saflaştırılması…….	18
3.2.2.2. DNA'nın saflık derecesinin belirlenmesi……...	20
3.2.2.3. PCR Çalışmaları…….	21
3.2.2.4. Elektroforez ve Jel Görüntüleme……	22
3.2.2.5. Tris-borik asit-EDTA (TBE) tamponu……...	23
3.2.2.6. Agaroz jelin hazırlanması ve tanka yerleştirilmesi…….	23

3.2.2.7. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi…… 24

3.2.2.8. Jelin görüntülenmesi……... 24

3.2.2.9. ISSR polimorfizmi ve genetik yakınlık derecesinin belirlenmesi…… 24

3.2.2.10. Protein analizi……... 25

3.2.2.11. Besin elementlerinin analizi……..…... 25

3.2.2.12. İstatistiki analiz……..……... 25

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA……. 27

4.1. Moleküler Çalışmalar……. 27

4.1.1. DNA İzolasyonu ve Saflık Derecesinin Belirlenmesi…… 27

4.1.2. Çalışmada Kullanılan ISSR Primerleri ve Bant Oluşumu… 28

4.2. Protein ve Elementel Analiz Sonuçları……... 32

4.2.1. Protein Oranı……... 32

4.2.2. Elementel Analiz Sonuçları…… 34

5. SONUÇ VE ÖNERİLER…… 44

6. KAYNAKLAR…….. 46

7. ÖZGEÇMİŞ……... 58

SİMGELER

V/V	Hacim/Hacim
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
A	Adenin
AFLP	Amplified Fragment Lenght Polymorphism – Çoğaltılmış Parça Uzunluğu Polimorfizmi
bp (bç)	Base Pair (Baz Çifti)
C	Sitozin
CTAB	Cetil three metil amonyum bromid
Dendogram	Soy Ağacı
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksiribo Nükleozit Tri Fosfat
EDTA	Etilen Dinitrilo Tetra Asetikasit
Ekstraksiyon	Bir karışımdan uygun bir çözücü ile ayrılmış bileşik
Entansif	Yoğun
G	Guanin
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat – Basit Sekans Tekrarlamaları Arası Polimorfizm
$MgCl_2$	Magnezyum klorür
mM	Mili molar
ng	Nano gram
nm	Nano metre
NTSYS	Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System – Sayısal Taksonomi ve Çok Değişkenli Analiz Sistemi
OD	Optic Density – Optik Yoğunluk
PCoA	Principal Coordinate Analysis – Temel Bileşen Analizi
PCR	Polymerase Chain Reaction – Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pmol	Pikomol
PRX	Peroksidaz
RAPD	Randomly Amplified Polymorphic DNA – Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RFLP	Restriction Fragment Lenght Polymorphism – Kesilmiş Parça Uzunluğu Polimorfizmi
rpm	Rotation per minute – Dakikada döngü sayısı
SSR	Simple Sequence Repeat – Basit Dizi Tekrarları
Suş	Irk
T	Timin
Taq	*Thermophilus aquaticus* (Bakteri ırkı)
TBE	Tris-Borik asit-EDTA
Tm	Melting Temparature – Bağlanma Sıcaklığı
UV	Ultra Viyole
V	Volt (Elektrik birimi)
yy	Yüz Yıl

ÇİZELGELER

	Sayfa No
Çizelge 1.1 Dünya, Türkiye ve Konya'da Fasulye Üretim ve Verimleri...	3
Çizelge 3.1 Deneme Toprağının Bazı Özellikleri……..	16
Çizelge 3.2 Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarının Kayıt Numaraları, Temin Edildiği Yerler ve Yerel İsimleri..……....	17
Çizelge 3.3 2X CTAB solüsyonu bileşenleri…….	19
Çizelge 3.4 PCR Karışımında Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları……	21
Çizelge 3.5 PCR Çalışmasında Kullanılan Primerlere Ait Özelikler…….	22
Çizelge 4.1 İzole Edilen Fasulye Örneklerine Ait DNA'ların Fotometre Değerleri……..	28
Çizelge 4.2 Çalışmada Kullanılan Primerler ve Bant Sayıları……...	29
Çizelge 4.3. PCR Çalışması Yapılan 38 Bireye Ait SM Dendogram Görüntüsü (Genetik Benzerlik)……...	30
Çizelge 4.4 PCR Çalışması Yapılan 38 Bireye Ait PCoA Analizi (Genetik Benzerlik)…….	31
Çizelge 4.5 Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarına Ait Protein Oranı Değerleri (%) ve Duncan Grupları……..	32
Çizelge 4.6 Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarının Protein Oranlarına Ait Varyans Analiz Değerleri……...	33
Çizelge 4.7 Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarının İçerdiği Besin Elementlerine Ait Varyans Analiz Tablosu…….	34
Çizelge 4.8 Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarının Önemli Besin Elementi İçerikleri……...	35

1. GİRİŞ

Günümüzde insan beslenmesi çoğunlukla bitkilere bağımlıdır. Gelişmiş ülkeler dışındaki ülkelerin hemen tamamında, kalori ve protein yetersizliği önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. İnsanlar, protein ihtiyaçlarını bitkisel ya da hayvansal kaynaklardan sağlamaktadırlar. Hayvansal proteinlerin bitkisel olanlara göre daha pahalı olması nedeni ile ihtiyaç duyulan proteinler bitkisel kaynaklardan ve özellikle baklagillerden alınmaktadır. Dünyada protein ihtiyacının yaklaşık % 70'i bitkilerden karşılanmaktadır. Gelişmekte olan birçok ülkede bu oran % 90'lara çıkabilmektedir. İnsan beslenmesinde tahıllardan sonra ikinci sırayı yemeklik tane baklagiller almaktadır. Bitkisel proteinlerin % 66'sını tahıllar, % 18.5'ini baklagiller, % 15.5'ini ise diğer bitkisel kaynaklar sağlamaktadır. Beslenmede protein/kalori oranının düşüklüğü nedeniyle ortaya çıkan hastalıklar özellikle Afrika, Güney Amerika ve Uzak Doğu'nun çeşitli bölgelerindeki insanlar arasında yaygındır. Protein eksikliği yönünden beslenme sorunu gelecekte gelişmekte olan ülkelerde daha da önem kazanacaktır. Bu ülkelerde nüfus artışının kontrolü yanında proteince zengin besin üretiminin artırılması çözüm getirebilir. Bu yönden bünyelerinde % 16-34 arasında ve ortalama olarak % 22-25 arasında bitkisel protein içeren üstün beslenme kabiliyetine sahip yemeklik tane baklagiller çok uygundur (Sepetoğlu, 2002). Türk Köylüsü baklagiller için "Fakirin hem eti, hem de ekmeği" tabirini kullanmaktadır.

Baklagiller 700 cins, 18.000 türü bulunan, çiçekli bitkiler familyası içinde en büyük familyadır. Çok yıllık ağaç formlarından tek yıllık otsu formlarına kadar çok değişik tipleri dünyada çok geniş bir alana yayılmıştır. ABD Tarım Bakanlığı, Tarım Araştırma Sevisi'nin Bitki Taksonomisi Bölümü 1971-1974 yılları arasında yaptığı çalışmalar sonunda dünyada ekonomik öneme sahip 1000 bitki türü bulunduğunu, bunlardan 150 tanesinin baklagillere ait tür olduğunu belirtmiştir. Yemeklik tane baklagiller arasında ekonomik öneme sahip 6 tür bulunmaktadır, bunlar: fasulye, nohut, mercimek, bezelye, börülce ve bakla olarak sıralanabilir (Sepetoğlu, 2006).

Fasulyenin ilk kez günümüzden 7000 yıl önce Orta Amerika yerlileri Aztec ve Maya'lar tarafından kültüre alındığı bilinmektedir (Özdemir, 2002). Kökenini

sıcak bölgelerden alan fasulye, zamanla yeni çeşitlerin ortaya çıkmasıyla subtropik ve ılıman kuşaklarda da geniş yetişme alanlarına adapte olmuştur. Yemeklik tane baklagillerin kültürü yapılan türlerinin progenitörleri ile ilgili çok çeşitli görüşler vardır. *Ph. vulgaris* Avrupa'ya 16. yy. içinde, İngiltere'ye 1594 yılında ulaşmıştır. 17. yy.'de fasulye tarımı İtalya, Yunanistan, Türkiye ve İran'da yaygın hale gelmiştir. Kuzey Amerika'da fasulye önce Kaliforniya ve Batı Eyaletlerinde yayılmış, Doğu kısımlara ise 19. yy. nin sonlarında Avrupa'dan gelerek yayılmıştır (Sepetoğlu, 2002).

Ülkemizde insanların tükettiği besinlerin büyük bir kısmını karbonhidratlar teşkil etmekte, bu sebeple insanda zeka ve beden gelişmesini sağlayan proteinli besinlerin alımı az olmaktadır. Türkiye, kişi başına düşen yıllık hububat tüketimi yönünden 230 kg ile dünyada birinci sırada yer alırken, 20 kg et tüketimi ile son sıralarda yer almaktadır. ABD'de ise bu oran 95 kg et ve 66 kg tahıl şeklindedir. Ülkemiz halkının rahatça satın alabileceği zengin bir protein kaynağı olması yanında fosfor, demir ve B_1 vitamini bakımından çok zengin ve üstün beslenme kabiliyetine sahip olan kuru fasulye protein açığının kapatılmasında ümitvar görünen elzem bir gıda maddesi olarak karşımıza çıkmaktadır (Akçin, 1974). Türkiye'de nüfusun %10'unda beslenmede protein yetersizliği, % 22.5'inde ise protein yönünden dengesiz beslenme olduğu saptanmıştır. Son yıllarda ülkemizde tüketilen yıllık toplam baklagil miktarı yaklaşık 1.0-1.2 milyon ton ve kişi başına yıllık tüketimi ise 15 kg civarında olmuştur (Sepetoğlu, 2006).

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) dünyada insan tüketiminde kullanılan en önemli baklagil bitkisidir. Tarımı dünya üzerinde ılıman bölgelerde yaygındır ve % 94 gibi yüksek bir oranla Asya ve Güney Amerika kıtalarında, daha çok gelişmekte olan ülkelerde yapılmaktadır. 2006 yılında dünyada fasulyenin toplam ekim alanı 26.540.002 ha, toplam üretimi 19.559.324 ton olup, ortalama verimi 73.7 kg/da'dır. Ülkelere göre fasulye üretimine bakıldığında ilk sırada Brezilya (3.436.530 ton), Hindistan (3.174.000 ton) ve Çin (2.006.500 ton); ekim alanı yönünden ise Hindistan (8.600.000 ha), Brezilya (4.016.797 ha) ve Myanmar (1.720.000 ha) olduğu görülür. Dünyada yetiştirilen fasulyenin % 90'dan fazlası *Phaseolus vulgaris* L. türüne aittir Çizelge 1.1'de ülkemizde ve dünyada fasulye üretimini gösteren değerler verilmiştir. (Anonymous, 2006).

Çizelge 1.1. Dünya, Türkiye ve Konya'da Fasulye Üretim ve Verimleri

Yıl	2002		2003		2004		2005		2006	
Birim	Ekim Alanı (ha)	Üretim (ton)	Ekim Alanı (ha)	Üretim (ton)	Ekim Alanı (ha)	Üretim (ton)	Ekim Alanı (ha)	Üretim (ton)	Ekim Alanı (ha)	Üretim (ton)
Dünya	26.522.354	19.492.154	26.389.341	19.940.848	25.881.486	18.101.671	25.134.400	18.094.883	26.540.002	19.559.324
Türkiye	192.000	250.000	191.000	250.000	155.000	250.000	175.000	225.000	141.200	195.970
Konya	28.205	253.485	16.760	55.609	14.323	29.675	14.204	29.693	14.869	27.818

Fasulye ülkemizde çok eski yıllardan beri bilinen, tarımı yapılan ve insan beslenmesinde, hayvan beslenmesinde ve toprak ıslahında kullanılan bir baklagil bitkisidir. Ülkemizde fasulye ekim alanı son yıllarda inişli çıkışlı bir seyir takip etmiş olup, 2006 yılında 141.200 ha, üretimi 195.970 ton ve verimi 138.789 kg/da'dır (Anonymous, 2006). Ekim alanı ve üretim yönünden nohut ve mercimekten sonra üçüncü sırada yer almaktadır.

Fasulye, gelişmiş kök sistemleri vasıtasıyla toprağın alt tabakalarında bulunan besin maddelerini toprak yüzeyine çıkarmak suretiyle toprağı besin maddelerince zenginleştirmektedir. Fasulye, köklerinde ortak yaşama özelliğine sahip bakteri türü *Rhizobium phaseoli* aracılığıyla havanın serbest azotundan istifade ederek kendi azot ihtiyacının büyük bir kısmını toprak havasından karşıladığı gibi, yetiştiği toprakları da azotça nispeten zenginleştirmektedir. Bu yolla ortalama olarak yıllık 5 kg/da azot fiske edebilmektedir. Bu yolla bağlanan azotun kaybı azotlu gübrelerden sağlanan azota göre daha az olmakta, içme sularının kirlenmesine yol açmamakta ve suni gübreleme sonucu ortaya çıkan kalite bozukluluklarına neden olmamaktadır (Akçin, 1988).

Adaptasyon kabiliyeti yüksek olan fasulye bitkisinin Türkiye'de ve özellikle de tarımın en fazla yapıldığı il olan Konya'da genetik çeşitliliği çok fazladır. Fasulye yetiştiriciliğinde farklı tarım bölgelerinde uygulanan yetiştirme yöntemleri ve çeşit ıslahı ile ilgili pek çok sorun karşımıza çıkmaktadır. Islah çalışmalarında başlıca amaç olan belli iklim şartlarında kaliteli ve yüksek verime sahip bitki tiplerinin ıslahı için bu çeşitlerin özelliklerinin belirlenmesi gerekir.

Araştırmamızda Konya ekolojik şartlarında ziraati yapılan geniş bir genetik varyasyona sahip fasulye populasyonlarının biyoçeşitliliğinden yararlanabilmek amacıyla genetik farklılık derecelerinin son yıllarda bilimsel araştırmalarda yaygın

olarak kullanılan ve güvenilirliği, yöntemin uygulama kolaylığı ve düşük maliyeti tespit edilmiş ISSR markör tekniği kullanarak hesaplanması ve bazı kalite özelliklerinin (protein ve element içeriğinin) belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Moleküler Çalışmalar

PCR tekniğinin hızlı bir şekilde yayılmasının nedeni uygulamasının basitliği ve hızından kaynaklanmıştır (Kumar, 1989).

Bir bitkinin genomunun tamamını analiz etmek için kullanılacak DNA'yı az miktarda bitki dokusundan elde etmek mümkündür. Bitkiden alınan herhangi bir parça DNA izolasyonu için kullanılabilir (Botstein ve ark., 1980). DNA markörleri stabildirler, dokuların tümünde çıkabilirler, ekolojik koşullardan etkilenmezler (Williams ve ark., 1990).

Güvenilir ve yeterli bilgi veren ISSR markörlerinin maliyetinin düşük olduğu, daha kısa zamanda sonuç alındığı ve genetik tanımlamalarda, evrim biyolojisinde bir çok tarla bitkisinde kullanımının kolaylık sağladığı bir çok araştırmacı tarafından yapılan çalışmalar neticesinde ifade edilmiştir (Reddy ve ark., 2002; Aytekin, 2006).

Kantety ve ark. (1995), mısırda yaptıkları çalışmada ISSR uygulamalarının basit, ucuz ve zaman kazancı sağladığı ayrıca daha fazla sayıda polimorfik bant veren bir yöntem olduğu belirtmişlerdir. Araştırma sonunda ISSR tekniğinin türlerin polimorfizminin belirlenmesinde kullanılarak DNA markörleri ile bitki ıslah çalışmalarında kullanılabileceği bildirilmiştir.

Günümüzde çeşitli DNA markör tipleri geliştirilmiştir. Moleküler genetik laboratuvarlarında PCR kullanımına dayalı SSR (basit tekrar dizileri), AFLP (çoğaltılmış parça uzunluğu polimorfizmi), RAPD (rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA) ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) gibi DNA markörleri rutin bir şekilde başarıyla kullanılmaktadır. Bowenhuis ve Meuwissen (1996), bir kromozom ya da kromozom bölgesinin ebeveynlerden bir sonraki generasyona geçerken takip edilen kısmını: "genetik markör" olarak tanımlamışlardır. Kromozomların üzerinde bulunan küçük bir DNA parçası, gen ya da genin bir parçası veya genler arasındaki bir DNA dizilimi ve bir tür içerisindeki bireyler arasındaki farklılığı gösteren bir işaret gibi farklı tanımlar yapmak da mümkündür.

Farklı genotiplerdeki DNA dizilimindeki farklılığı çeşitli şekillerde ortaya koyan belirteçlere DNA markörleri denilmektedir. Moleküler çalışmalarda DNA markörleri kullanarak farklı genotiplere ait DNA diziliş farklılığını çeşitli şekillerde ortaya koymak mümkündür. Temeli nükleik asitlere dayanan genetik belirteçler, ıslah çalışması yapanlar için çalışılan populasyonların bazı özelliklerini ve varyasyonu ortaya koymak için kullanılan bir araçtır. Markörler sayesinde özellikle morfolojik olarak birbirine çok yakın kültür çeşitlerinin birbirinden ayrımı yapılabilir ve tanımlanabilir. Ayrıca türlerin taksonomik tanımlaması yapılıp, filogenetik akrabalıkları bulunabilir (Lowe ve ark., 1996). Bulunan akrabalık dereceleri ile bireylerin soyağacı analizleri ve bağlantı haritalamaları yapılarak ıslahçılar için oldukça önemli bir aşama olan seleksiyon programlarında kullanılabilir. DNA'nın gösterdiği polimorfizm, klasik veya biyokimyasal markörlerden daha fazladır.

Buğday çeşitleri ile yapılan moleküler çalışmada ISSR ile yapılan genetik akrabalık ve çeşitlilik sonuçlarının RAPD ve RFLP ile yapılan sonuçlarla aynı oldukları ve ISSR markörlerinin genotiplerde kullanım güvenirliliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Nagaoka ve Ogihara, 1997).

Dünyada son yıllarda ISSR tekniği farklı bitki türlerinde başarılı bir şekilde hızla yaygınlaşmıştır. Örneğin; fasulye (Galvan ve ark., 2003), nohut (Iruela ve ark., 2002; Rajesh ve ark., 2002; Sudupak, 2004), bezelye (Kuznetsova ve ark., 2005), mercimek (Duran ve ark., 2004).

Bitkilerde DNA izolasyonu çalışmalarında kullanılan 2XCTAB mini-prep metodunun güvenilir ve iyi sonuç verdiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Ahmad, 1999; Banerjee ve ark., 2001).

ISSR markörleri RAPD markörlerine kıyasla kullanımı hızlı, uygulanması kolay ve primer boylarının daha uzun olması nedeniyle genom üzerinde daha fazla alanı taradıkları için güvenilirlikleri daha fazladır (Bornet ve Branchard, 2001).

Galvan ve ark. (2003), Arjantin'de yetişen başlıca 10 fasulye çeşidi ve Fransa'da yetişen 3 fasulye çeşidinde genetik çeşitliliği ve çeşitlerin birbirine yakınlık derecesini tespit etmek için ISSR tekniğini kullanmışlardır. ISSR markırlarının başlıca grupları Andean ve Orta Amerika fasulye gen havuzuna uygun olarak seçilmiştir. Araştırmacılar çalışmanın sonuçlarını daha önce yaptıkları RAPD

analizleri ile kıyaslamış, buna göre ISSR ile gruplandırma yapmışlardır. Sonuç olarak ISSR teknikleri RAPD'den daha güvenilir bulunmuştur ancak RAPD sonuçlarından fazla bir fark tespit edilmemiştir.

ISSR yöntemini güvenilirliği benzer şekilde Duran ve ark. (2004) tarafından yürütülen çalışmada, mercimeklerin (*Lens*) genetik haritasının çıkarılması için AFLP, SSR, RAPD ve ISSR markörleri kullanılmış ve çalışmalarının neticesinde ISSR markörlerinin *Lens* cinsinin soy ağacının tespitinde daha etkili yöntem olduğu belirtilmiştir.

Cingilli ve Akçin (2005), moleküler markırlardan faydalanılarak ekonomik açıdan önemli birçok bitkinin ıslah edilmesinin, günümüzde giderek önemi artan markır teknolojisinin ve markır yardımıyla seleksiyon uygulamalarının, artık rutin çalışmalar olabileceği konusunu gündeme getirmişlerdir. Bu nedenle, öncelikli olarak çalışmalarda kullanılacak ana materyal olan DNA'nın, kısa sürede ve saf olarak eldesi son derece önemli olduğunu belirtmiş, bunun için de güvenilir bir DNA izolasyon metodunun belirlenmesi gerektiğini düşünerek yaptıkları çalışmanın neticesinde nohut ıslahında ve diğer genetik çalışmalarda kullanılacak olan DNA'nın, izolasyonunda mini-prep CTAB metodunun daha kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu metod ile, tarla ve sera şartlarında yetiştirilen 49 nohut genotipinin taze yaprak eksplantlarından örnekler almış, öncelikli olarak içerisinde 0.5 ml ekstraksiyon buffer bulunan 1.5 ml'lik reaksiyon tüpü içinde elektrikli öğütücü ile homojenize ederek suspansiyon sağlamışlar ve az sayıda olan materyalden fazla miktarda ve yüksek kalitede DNA izolasyonu yapmışlardır. Araştırıcılar mikro-prep metoduna kıyasla mini-prep CTAB metodunun, hem zaman açısından hem de maliyet, iş gücü ve kimyasal malzeme kullanımı açısından son derece uygun olduğunu bildirmişler, mini-prep CTAB metodu ile izole edilen DNA'nın, UBC181 RAPD primeri kullanılarak PCR ile amplifiye edilimiş izolasyon sonrası, uygun saf DNA'nın elde edildiğini belirtmişlerdir.

Hou ve ark. (2005)'nın arpa çeşitlerinde genetik çeşitliliği belirlemek amacıyla RAPD ve ISSR markörlerini kullandığı çalışmada RAPD analizlerinde 109 banttan 84 adedinin (%77.06) polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışma ISSR markörleri ile yapıldığında 107 banttan 105'i polimorfik çıkmıştır. Araştırmanın

sonucunda ISSR markörlerinin arpada genetik çeşitliliğin tespitinde daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Köksal ve ark. (2005), Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan 20 adet taze fasulye genotipi arasındaki akrabalık ilişkilerini fenotipik karakterlere ek olarak moleküler markırlardan peroksidaz (PRX) izoenzim profili kullanarak belirlemişlerdir. Çalışmada peroksidaz izoenzim markırları aktif poliakrilamid jel elektroforez (PAGE) tekniği kullanılarak belirlerken, fenotipik markırlar olarak tohum karakterlerinden yararlanmışlardır. Bir dendrogram fenotipik markırlara göre, diğer dendogram ise PRX izoenzim profiline göre oluşturulmuş ve her iki dendogram Mantel testi kullanılarak karşılaştırılmış ve sonuç olarak incelenen genotipleri 4 grup altında toplamışlardır.

Tüm dünyada moleküler biyoloji ve genetik konusundaki çalışmalar populasyonların genetik yapısını belirlemek, ortaya çıkarılan genetik yapı üzerindeki genlerin tespiti, fonksiyonlarının anlaşıması amacıyla çalışmalar hızla devam etmektedir (Schnabel ve ark., 2005).

Marotti ve ark. (2007), İtalya'da yaygın şekilde tüketilen fasulye çeşitlerinin moleküler markörlerle karakterizasyonunu yapmak için yürüttükleri çalışmada, RAPD (6 adet primer), semi-random (7 adet primer) ve ISSR (8 adet primer) yöntemlerini kullanmışlar, her üç yöntemde de yüksek oranda polimorfik bant gözlemlemişler (sırasıyla % 69- % 90 ve % 85), bu yöntemlerden ISSR ve semi-random'un benzer sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir.

2.2. Protein Oranı ile İlgili Çalışmalar

Adolph ve ark. (1955), Chatterjee ve ark. (1956), Şehirali (1979), fasulye çeşitlerinde ham protein oranının çeşitlere göre farklılık gösterdiğini belirtmiş, araştırıcılar bu oranın sırasıyla % 14.6 ile % 35.1 arasında değişebileceğini bildirmektedirler.

Tandon ve ark. (1957), Orta Amerika ülkelerinde yetiştirilen 25 kuru fasulyede protein oranlarının % 20.06 - 27.87 arasında değiştiğini saptamışlardır.

Araştırıcı Rutger (1968), 200 fasulye çeşidinin protein oranlarını belirlemiş (% 17-31) ve bu oranların çevre faktörlerinden geniş ölçüde etkilendiğini ifade etmiştir.

Akçin (1974) tarafından Erzurum şartlarında yapılan bir araştırmada, fasulye çeşitlerinin protein oranlarının farklılık arz ettiğini ve en yüksek protein oranına % 31.46 ile Kara Ayşe çeşidinin sahip olduğunu belirtmiştir. Bunu azalan sıra ile; Yer Ayşe (% 30.88), Asgrow Valentine (% 29.39) ve Oturak (% 29.16) çeşitleri takip etmiştir. En düşük protein oranı A-111 Pinto (% 18.29) ve 1140-Great Northern (% 18.23) çeşitlerinde tespit edilmiştir. Diğer çeşitlerin protein oranlarının ise % 19.10 ile % 28.79 arasında değiştiğini bulmuştur. Ham protein oranı en fazla olan çeşit ile en az olan çeşit arasında % 13.16 oranında fark çıkmıştır.

Derbyshire ve ark. (1976), baklagil tohumlarının gelişmeleri esnasında yüksek oranda protein biriktirdiklerini, bu proteinlerin çoğunun katalitik aktivitesinin olmadığını ve kotiledon dokusunda strüktürel rol oynamadıklarını belirtmişlerdir. Bu proteinlerin membrana bağlı organellerde depo edildiklerini, olgunlaşma esnasında su kaybı olduğu zaman hayatta kalmayı sağladıklarını ve çimlenme için hidrolizde görev aldıklarını, tüm bu görevleri nedeniyle tohum proteinlerine "depo proteinleri" isminin de verilebileceğini bildirmişlerdir.

Şehirali ve ark., (1979), Türkiye'de yetiştirilen fasulye çeşitlerinin protein oranları yönünden değişim sınırlarını belirlemek üzere yaptıkları araştırmada, çeşit grupları arasında en yüksek protein oranını % 22.99 ile Barbunya fasulyesinde, en düşük oranı ise % 21.34 ile Tombul fasulyede tespit etmiştir.

Gürses (1981), kuru fasulye tanelerindeki protein oranının çeşide, çevre şartlarına ve yetiştirme yöntemlerine bağlı olarak % 22.7-27.7 arasında değiştiğini tespit etmiştir.

Akçin (1988), yaptığı araştırmada fasulyedeki protein oranının % 23.26 olduğunu, bu miktarın gübreleme, sulama, iklim ve toprak yapısına göre değiştiğini belirtmiştir.

Önder ve Özkaynak (1994), bodur kuru fasulye çeşitlerinde tane verimine bakteri aşılama ve azot uygulamanın etkisi üzerine yaptığı 3 yıllık çalışmada, 10 çeşit fasulyede protein oranını yılların ortalaması olarak % 20.04-27.12 arasında tespit

etmişlerdir. Araştırıcılar yıllar arasında ortaya çıkan farkın iklimdeki değişikliklerden, çeşitler arasındaki farkın ise her bir çeşidin genetik yapısından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Önder ve Akçin (1995), bodur kuru fasulye çeşitlerinde (Yunus-90 ve Karacaşehir-90) yaptıkları çalışmada Yunus-90 çeşidinde % 19.40, Karacaşehir-90 çeşidinde ise % 21.63 oranında protein tespit etmişlerdir.

Önder ve Akçin (1996), tarafından farklı zamanlarda yapılan ekimin kuru fasulyede tane ve protein verimi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada en yüksek protein oranı % 24.92 ile ilk ekim tarihinde (20 Nisan) elde edilmiş, ekim zamanlarının ortalaması olarak en yüksek protein oranı % 25.98 ile Karacaşehir-90 çeşidinde iken, Yunus-90 çeşidinde % 24.77 ve Yerli çeşidinde % 23.74 olarak bulunmuştur.

Duranti ve Cristina (1997), proteinlerin baklagil tohumlarında majör bileşenler olduğunu, besinsel ve fonksiyonel özelliklerinin kaliteyi ve teknolojik özelliklerini önemli ölçüde etkilediklerini belirtmişlerdir.

Önder ve Babaoğlu (2001), Türkiye'de yetiştirilen 7 fasulye çeşidini (A-111, Pinto, Çalı, Yunus-90, Eskişehir-855, Şehirali-90, Karacaşehir-90 ve Romano) araştırmada kullanmışlardır. Yapılan istatistik analizlerine göre çeşitler arasında protein içeriği yönünden fark olduğu ve genotiplerin protein oranının % 20.44 ile % 25.44 arasında değiştiği görülmüştür.

Gülümser ve ark. (2005), fasulyede farklı bor dozlarının yapraktan ve topraktan uygulanmasının verim ve verim unsurlarına etkilerini araştırdıkları çalışmada tanedeki ham protein oranına bor miktarı ve uygulanış şeklinin etkili olmadığını ve tanedeki protein oranının % 20.27-23.15 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Gonzalez ve ark. (2006), Avrupada marketlerde satılan çeşitli ticari fasulye hatlarında genotip ve çevre etkilerini inceledikleri çalışmada, çevre şartlarının verimi önemli derecede etkilediğini, genotipler arasında tohumun çeşitleri kalite parametreleri arasında farklılıklar olduğunu ve verimi yüksek çeşitlerin protein içeriğinin de yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Ceyhan ve ark. (2007), 5 ticari nohut hattında yaptıkları çalışmada çeşitlerin ortalama olarak % 18.6-19.4 oranında protein içerdiklerini saptamışlardır.

Elmaki ve ark. (2007) fasulyede ıslatma ve pişirme muamelelerinin antibesinsel etmenler ve mikrobesin elementleri miktarını azaltıcı yöndeki etkilerinin çeşitlere bağlı olarak değiştiğini, ıslatma ve pişirmenin ayrı ayrı uygulandığı muamelelere göre her ikisinin ard arda uygulandığı durumda bu maddelerin miktarının daha da azaldığını tespit etmişlerdir.

Nergiz ve Gökgöz (2007), kuru fasulye çeşitlerinde yaptığı araştırmada protein oranının % 22.09 ile 24.18 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Ceyhan ve ark. (2008), tarla şartlarında bodur kuru fasulye çeşitlerinde bor uygulamasına bağlı olarak en yüksek protein oranını Karacaşehir-90 çeşidinde, en düşük oranı ise Öncüler-98 çeşidinde tespit etmişlerdir. Araştırıcılar çalışmanın sonucuna göre yapraktan uygulanan borun topraktan uygulanmasına nispetle protein oranı artışına etkisinin daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

2.3. Elementel Analiz Çalışmaları

Bitkideki toplam çinkonun bir kısmı tohum çinko kaynaklarından gelebilmektedir. 17 günlük mısır fidelerinde belirlenen çinkonun % 64-73'ünün tohumlardan yeşil aksama taşındığı bildirilmiştir (Shaw ve ark., 1954; Peaslee ve Leggett, 1980).

Red-Mexican fasulyelerinde yapılan araştırmada düşük çinko içeren tohumlarda çimlenmeden sonra, fidelerde çinko eksiklik arazları görülmüştür (Viets ve ark., 1954). Gelişimin ilk evrelerinde çinko eksikliği bitki olgunluğunu geciktirmektedir ve gelişimin daha sonraki aşamalarında bitki çinko eksikliğinden kurtulsa bile fasulyenin kalitesi azalmaktadır (Boawn ve ark., 1969).

Kuzayli ve ark (1966) ile Meiners ve ark. (1976) bezelye tanelerinde yaptıkları analiz sonuçlarına göre tanelerin bor içermediğini tespit etmişlerdir.

Ellis (1965), Sanilac fasulye çeşidinin çinko eksikliğine karşı Saginaw çeşidinden daha hassas olduğunu bildirmiştir. Polson ve Adams (1970), benzer sonuçları bulmuşlardır.

Bitki tohumlarının element içeriği ve ihtiyaç duydukları miktarın tespiti ile ilgili yapılan araştırmalar sonucunda bitki çeşitleri arasında oldukça önemli seviyede farklılıkların olduğu ifade edilmiştir (Epstein, 1965; Gurley ve Giddens, 1969; Kubota ve Allaway, 1972; Thompson ve Troeh, 1973).

Çoğu fasulye genotipleri çinko eksikliğine karşı son derece duyarlı, çinko uygulamasına karşı son oldukça hassastır. Yapılan çalışmada çinko uygulaması ile çözelti kültüründe yetişen fasulyede verim % 422 (Ambler ve Brown, 1969), tarlada yetişen fasulyelerde ise verim % 143-210 oranında (Leggett ve Westermann, 1986) artış göstermiştir.

Bergensen (1971) molibdenin nitrogenaz enzimini aktive ederek azot fiksasyonunun temel mekanizmasında rol aldığı, yüksek bitkilerle ortak yaşayarak azot fiske eden bakteriler için de önemli bir element olduğunu bildirmiştir.

Çinkonun protein sentezinde önemli fonksiyonları bulunmakta ve noksanlığı durumunda protein sentezi hızı düşmektedir. Bunun sonucunda aminoasit birikimi olmaktadır (Prask ve Plocke, 1971).

Magnezyumun DNA sentezinde rol oynadığı bilinmektedir (Wunderlich, 1978, Sperrazza ve Spremulli, 1983).

Çalı fasulye çeşitlerinde (Saginaw ve Sanilac) yapılan çalışmada çinko beslenme statüsü ve nişasta yapısı arasında bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (Jyung ve ark., 1975). Çinko eksikliği altında nişasta sentezinin ve nişasta tanelerinin miktar ve büyüklüğünün ayrıca nişasta içeriğinin azaldığı tespit edilmiştir. Çinko eksikliğine duyarlı Sanilac çalı fasulyesinde nişasta içeriğinde azalma % 94 iken, Saginaw çeşidinde bu oran % 37 bulunmuştur. Benzer sonuçlar yetersiz çinko içeren fasulye genotiplerinde de (Thomson ve Weiwer, 1962) belirlenmiştir.

Aynı türün farklı varyetelerinde, farklı ekoloji ve toprak koşullarında tanenin element içeriğinin farklı olduğu bildirilmiştir (Shacklette ve ark., 1978; Bahnassey ve ark., 1986; Takar ve ark., 1989; Nayyar, 1990).

Yapılan çalışmalar magnezyumun protein sentezinde etkili olduğunu, RNA sentezinde rol aldığını göstermektedir (Wunderlich, 1978; Sperrazza ve Spremulli, 1983).

Woodrow ve Rowan (1979) fosforun bitkilerin sitoplazma ve kloroplastlarında gerçekleşen metabolik tepkimelerde temel işleve sahip olduğu bildirilmiştir.

Caldwell ve Haug (1981) ile Konno ve ark. (1984) kalsiyumun hücre membranlarını ve bitki dokularını güçlendirdiğini belirtmiştir.

Bakır elementinin bitkilerde karbonhidrat ve azot metabolizması üzerinde etkili olduğu Mizuno ve ark. (1982) tarafından ifade edilmiştir.

Dünyada ve Türkiye'de yapılan araştırmalar ışığında tarım topraklarında yaygın olarak çinko eksikliği vardır. Oransal olarak dünyadaki tarım topraklarının yaklaşık % 30'u (Sillappa, 1982), Türkiye'deki toprakların ise yaklaşık % 50'sinin (Eyüpoğlu ve ark., 1995) çinko bakımından fakir olduğu belirlenmiştir. Türkiye'de özellikle Konya ovasında bu oranın % 90'a ulaştığı bildirilmiştir (Çakmak ve ark., 1996).

Tisdale ve ark. (1985) sodyumun bitkilerde stomaların açılıp kapanmasına etki ettiğini belirtmişlerdir.

Manganın kolayca yükseltgenmesi nedeniyle fotosentezde elektron aktarımı ve oksijen içermeyen radikallerin zehir etkilerinin giderilmesi gibi redoks işlemlerinde görev aldığı, 35 kadar enzimin aktivasyonunda kofaktör olarak görev yaptığı (Burnell, 1988) ve bitkinin klorofil içeriği ve kloroplastların yapısında ve fotosentezde rol oynadığı tespit edilmiştir (Nable ve ark., 1984).

Bitkilerde protein miktarı üzerine etkisi olduğu belirtilen çinkonun eksikliğinde bitkilerdeki protein miktarının azaldığı ancak amino asit miktarı arttığı için protein kalitesinin etkilenmediği Çakmak ve ark. (1989) tarafından bildirilmiştir.

Pushnik ve Miller (1989)'e ithafen Kacar ve Katkat (1998), demirin klorofil yapısında bulunmasının yanında bitkinin klorofil içeriği ile yakından ilgili olduğunu bildirmiştir.

Savage ve Deo (1989) hazırladıkları derlemede çok sayıda araştırmacının yaptığı çalışmalara göre bezelyenin besinsel içeriğinin geniş sınırlar içinde değişim gösterdiğini belirtmiştir.

Farklı kültürel uygulamaların sonucunda tanedeki element miktarları açısından geniş bir varyasyon görüldüğü ülkemizde ve dünyada yapılan pek çok araştırma ile tespit edilmiştir (Pomeranz, 1990; Jones ve ark., 1991; Marschner, 1995; Tarek, 2002; Koplik ve ark., 2004; Oloyo 2004; Iqbal ve ark., 2006, Mubarak, 2005).

Yüksek oranda çinko içeren buğday genotiplerinin kullanılması, çinko bakımından fakir bir toprakta iyi bir gelişmenin sağlanabilmesi için son derece önemlidir. Çinko içeriği yüksek çeşitler gelişmenin ilk devrelerinde daha fazla kök ve yeşil aksam oluştururlar. Daha fazla kök oluşumu ile ilerleyen devrelerde bitki çevreden daha çok çinko alımını sağlayacaktır. Düşük çinko içeren tohum (250 ng/tohum) kullanıldığında çinkonun eksik olduğu koşullarda Excalibur (noksanlığa toleranslı), Gatcher'e (noksanlığa hassas) göre çinko eksikliğine daha dayanıklı iken, tohumdaki çinko içeriği 700 ng/tohum olduğunda genotipler arasında çinko eksikliğine karşı farklılık görülmemiştir (Graham ve ark, 1992). Aynı çalışmada noksanlığa karşı son derece hassas Durati çeşidinde çinko içeriğinin 2/3'ne sahip olan diğer çeşitlerin daha iyi büyüme gösterdiği belirlenmiştir. Buradan yola çıkarak, tohumdaki çinko içeriğinin çinko noksanlığına karşı dayanıklılığı belirleyen bir mekanizma olmadığı bildirilmiştir.

Borun bitkilerde karbonhidrat ve protein metabolizmasında, doku farklılaşmasında, oksin ve fenol metabolizmasında, membran permeabilitesinde, polen çimlenmesinde ve polen tüpü büyümesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Marschner, 1995).

Ülkemizdeki çalışmaların yanı sıra dünyada yapılan birçok araştırmada da çinko noksanlığının bitkisel üretimde önemli seviyede verim düşüşlerine sebep olduğu bildirilmiştir. Örneğin Hindistan (Takkar ve ark., 1997) ve Avustralya'da (Graham ve ark., 1992) yapılan araştırmalar neticesinde topraktaki çinko eksikliğinin buğday üretim alanlarında verimde önemli düşüşlere sebep olduğu belirlenmiştir.

Kacar ve Katkat (1998), potasyumun bitkilerde fotosentezin gerçekleşmesi ve fotosentez sonucu elde edilen ürünlerin taşınmasında önemli bir element olduğunu tespit etmişlerdir.

Son yıllarda mısır, çeltik, buğday ve fasulyede yüksek biyoelverişliliğe sahip demir, çinko ve Vitamin A içeren çeşitlerin geliştirilmesi amacıyla yoğun şekilde çalışılmaktadır (Welch, 2002). Fasulyede yapılan araştırmalar ile çeşitler arası farklılıkları belirlemek için tanede demir ve çinko içeriklerine göre ayrım yapmaya giderek, önemli çeşitleri tespit etmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla taranan 1000 genotipte tanede demir içerikleri 34 ile 89 µg/g demir olarak bulunurken, çinko içerikleri 21-54 µg/g çinko olarak bulunmuştur. Bu çalışmalar sonucunda ilgili elementler bakımından fasulye çeşitleri arasında geniş bir varyasyon olduğu, tanedeki demir içeriğinin % 80, çinko içeriğinin ise en az % 50 oranında artırılabileceği bulunmuştur. (Welch ve Graham, 2002). Bu sebeple Türkiye'deki yerel çeşitler ile kültür çeşitleri arasındaki farklılıkların ortaya konulması önem arz etmektedir.

Bell ve Frost (2002) kolza tanesinde bor miktarını ortalama 13 ppm, Güneş ve ark. (2003) ise bor miktarını buğdayda 7.0-13.8 ppm arasında tespit etmiştir.

Hamurcu (2007) çeşitli fasulye tiplerinde yaptığı analizde tane bor konsantrasyonunun 11 ile 15 ppm arasında değiştiğini bildirmiştir.

Uyanöz (2007), fasulyede 2 yıl süre ile yaptığı araştırmada mikoriza ve *Rhizobium* ile biyo organik gübrelemenin danenin element içeriğini artırdığını belirtmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Toprak Materyali

DNA izolasyonu amacıyla bitki yetiştirilmesi, sera koşullarında Çizelge 3.1'de özellikleri verilen toprakta yapılmıştır. Deneme 3 litrelik saksılarda yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Deneme Toprağının Bazı Özellikleri

pH= 8,1	**E C**: 125,2	**$CaCO_3$ (%)** = 31,3
Organik Madde (%) = 4,9	**Fosfor (ppm)** = 17,664	**K (ppm)** = 80,40
Ca (ppm) = 2169,36	**Mg (ppm)** = 84,205	**Na (ppm)** = 19,03
Bor (ppm) = 0,205	**Fe (ppm)** = 0,921	**Zn (ppm)** = 0,090
Cu (ppm) = 0,196	**Mn (ppm)** = 2,38	
Kil (%): 18,36	**Silt (%): 14,28**	**Kum (%): 67,36**

3.1.2. Tohum Materyali

Araştırmada Konya'da tarla tarımı şeklinde geniş alanlarda tarımı yapılan bodur kuru fasulye populasyonları merkez, ilçe ve köy bazında gezilerek toplanmıştır. Toplanan 38 ayrı örneğin her biri ayrı bir hat olarak değerlendirilmek üzere toplandığı bölge esas alınarak adlandırılıp kayıt altına alınmıştır. Bu çalışmada daha önceden S.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde bulunan tescilli çeşitlerden 4 tanesi de (Akman – 98, Eskişehir – 855, Elkoca – 2005 ve Kantar – 2005) kullanılmıştır. Tohumları toplarken; bölgede tercih edilen bir populasyon olması, yıllara göre verim farkının fazla olmaması ve her türlü kalite kriterleri ile pazar değeri ve ekstrem şartlara toleransının yüksek olması gibi özellikler yanında uzun yıllardan beri o bölgede tarımı yapılıyor ve bir önceki yılın ürünü olma şartı da aranmıştır. Bütünlüğü sağlamak amacıyla bu araştırmada kullanılan tüm populasyon ve tescilli çeşitler "hat" olarak ifade edilmiştir. Denemede kullanılan hatların isimleri ve alındığı yerler Çizelge 3.2' de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarının Kayıt Numaraları, Temin Edildiği Yerler ve Yerel İsimleri

Kayıt No	Alınan Yer	Yerel İsim
1	Başarakavak Kasabası	Horoz
2	Başarakavak Kasabası	Sarıkız
3	Başarakavak Kasabası	Kanada
4	Çumra (Merkez)	Şeker (Bıyıklı)
5	Çumra (Merkez)	Kırgız Çalısı
6	Çumra (Merkez)	Horoz
7	Çumra (Merkez)	Beyşehir Çalısı
8	Çumra (Merkez)	Bombay (Bomba)
9	Çumra (Merkez)	Kanada
10	Altınekin (Merkez)	Amerikan Kollu Fasulye
11	Altınekin (Merkez)	Sarnıç
12	Altınekin (Mantar Köy)	Amerikan Çalısı
13	Çumra (Merkez)	Niğde Barbunyası**
14	Konya (Merkez)	Gina
15	Ereğli (Merkez)	Dermason
16	Ereğli (Merkez)	Horoz
17	Kadınhanı (Merkez)	Weıhıng
18	Kadınhanı (Merkez)	Kanada
19 T	Kadınhanı (Merkez)	Akman - 98
20	Derbent (Merkez)	Amerikan (Beretta)
21	Derbent (Merkez)	Sarhoş (Washington)
22	Derbent (Merkez)	Şeker
23	Beyşehir (Göçü Köyü)	Horoz
24	Seydişehir (Merkez)	Sıra
25	Ilgın (Beykonak Köyü)	Beyaz Horoz
26	Ilgın (Merkez)	Horoz (Kırk Günlük)
27	Sarayönü (Merkez)	Kanada
28	Sarayönü (Merkez)	Amerikan Çalısı
29	Yunak (Merkez)	Üveynk (Veynk)
30	Yunak (Merkez)	Kanada
31	Çumra (Merkez)	Kırgız Yuvarlak (Kollu) Barbunya
32	Derbent (Merkez)	Yuvarlak Barbunya
33	Akşehir (Merkez)	Dermason
34	Akşehir (Sorkun Köyü)	Ayşe Kadın
35	Akşehir (Merkez)	Horoz (Oturak)
36	Akşehir (Merkez)	Dermason (Oturak)
37	Kazım Karabekir	Kanada (Kara Yaprak)
38	Kazım Karabekir	Dermason (Kırgız)
39 T	Eskişehir- Anadolu TAE	Akman 98
40 T	Eskişehir- Anadolu TAE	Eskişehir-855
41 T	Erzurum- Atatürk Üniversitesi	Elkoca-2005
42 T	Erzurum- Atatürk Üniversitesi	Kantar-2005

** Protein ve element analizi yapılmayan hat (13)

T Tescilli Çeşitler (19, 39, 40, 41 ve 42)

* ISSR yönteminde kullanılmayan hatlar (39, 40, 41 ve 42)

3.2. Metot

3.2.1. DNA örneği için yetiştirilen bitkilerin sera denemesinin kuruluşu ve yürütülmesi

Toplanan tohumlar ilk önce sera ve laboratuvar şartlarında basit çimlenme testlerine tabi tutularak canlılıkları kontrol edilmiştir. Bitki yetiştirme süresi boyunca gündüzleri sera içi sıcaklığın ortalama 26±2^{0}C, solar radyasyon 1600±50 kcal/m^2 ve nispi nem % 65±5 olması sağlanmıştır. Denemede 3 litrelik plastik saksılara 4 mm'lik elekten geçirilmiş fırın kuru ağırlık esasına göre 3 kg toprak konulmuştur. Bitkide normal bir gelişme sağlamak amacıyla bütün saksılara ekimden önce 100 mg kg^{-1} N (50 mg kg^{-1} KNO_3, 50 mg kg^{-1} NH_4NO_3 (%33) halinde), 50 mg kg^{-1} P (TSP halinde) ve 120 mg kg^{-1} K (KNO_3 halinde), 130 mg kg^{-1} Mg ($MgSO_4.H_2O$, %25 MgO halinde),10 mg kg^{-1} Fe (Sequestrin halinde), 15 mg kg^{-1} Mn ($MnSO_4.H_2O$ halinde) ve 2 mg kg^{-1} Cu ($CuSO_4.5H_2O$ halinde) çözelti şeklinde verilmiştir.

Tohumlar fakülteye ait ısı, ışık ve nispi nemi bilgisayar kontrollü serada saksılara ekilmiştir. Ekim, hazırlanan gübrenin her saksıya verilen gübre çözeltileri ile 2 Şubat 2007 tarihinde elle yapılmıştır. Başlangıçta her saksıya 10 adet fasulye tohumu ekilmiş ve ekimden bir hafta sonra her saksıda 5 bitki kalacak şekilde seyreltme yapılmıştır.

3.2.2. Laboratuvar analizleri

3.2.2.1. DNA izolasyonu ve saflaştırılması

Serada yetiştirilen bitkilerden ekimden 17 gün sonra DNA izolasyonu için bitkilerin genç ve sağlıklı üst yapraklarından bulk şeklinde ortalama 200 mg örnek alınmıştır. DNA izolasyonu için 2XCTAB mini-prep (cetil three metil amonyum

bromid) metodu (Hulbert ve Bennetzen, 1991) kullanılmıştır. Bu metod için kullanılan ekstraksiyon çözeltisinin hazırlanışı Çizelge 3.3. de verilmiştir:

Çizelge 3.3. 2X CTAB solüsyonu bileşenleri

2X CTAB Çözeltisinin Hazırlanması (125 ml)	
NaCl	10.23 g
Tris 1M (pH=8)	12.5g
CTAB (cetil three metil amonyum bromid)	2.5g
EDTA (0.5 M)	5.0 ml
Sodyum bisülfit	0.63 g

Solüsyon son hacmi deiyonize su ile 125 ml'ye tamamlanmıştır. Solüsyona izolasyonda kullanmaya başlarken %1 V/V esasına göre β-mercaptoethanol eklenmiştir. Solüsyonun bu şekilde son hali hazırlandıktan sonra DNA izolasyon prosedürüne devam edilmiştir.

2X CTAB DNA izolasyon metodu aşağıda verilmiştir:

- Saksıdaki bitkilerin aynı çeşide ait 10 farklı bireyinden, genç ve sağlıklı üst yaprakların kesitleri toplam 200 mg olacak şekilde bistüri ile alınmıştır.
- Örnekler sıvı N_2 ile soğutulmuş steril havan içine alındıktan sonra sıvı azotta un haline gelinceye kadar bir topuz yardımıyla ezilmiştir.
- Un haline gelen örnekler 2 ml'lik Eppendorf santrifüj tüplerine alınarak üzerlerine 750 µl 2XCTAB β-mercaptoethanol çözeltisinden ilave edilmiştir.
- Örnekler ağızları parafilmle kapatılarak 65 derecelik blok ısıtıcıda, her birkaç dakikada bir çevrilerek, 30 dk süreyle bekletilmiştir.
- Isıtıcıdan çıkarılan örneklerin üzerine 750 µl kloroform:izoamiloalkol (24:1) ilave edilmiştir.
- Tüpler santrifüj cihazına alınarak 25 ^{o}C'de, 7000 rpm'de 5 dk süreyle santrifüje tabii tutulmuştur.
- Santrifüjden çıkarılan örneklerde oluşan üst faz pipetman yardımıyla dikkatlice alınarak yeni bir 1.5 ml'lik eppendorf santrifüj tüpüne alınmıştır.

- İlk tüplere 300 µl kloroform:izoamiloalkol (24:1) ilave edilerek 15000 rpm'de 5 dk süreyle tekrar santrifüj edilmiştir.
- Santrifüjden çıkan örneklerde oluşan üst faz pipetman yardımı ile alınarak daha önce alınan üst fazın üstüne ilave edilmiştir.
- Yeni santrifüj tüplerindeki örneklerin üzerlerine alınan üst fazın yaklaşık 3/5'i katı miktarında izoamilalkol ilave edilmiştir (Genellikle 600 µl için 360µl izoamiloalkol ilave edilir).
- İzoamiloalkol ilave edilen örnekler 15000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj edilen örneklerde DNA peleti oluşumu gözlenerek tüplerdeki izoamiloalkol, peletin düşmemesine dikkat edilerek dökülmüştür.
- Diplerinde DNA peletleri bulunan tüplere 1 ml %70'lik etanol ilave edilmiştir.
- Etanol ilave edilen örnekler 5 dk süreyle 15000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- Santrifüjün ardından ethanol ile yıkanmış peletlerin düşmemesine dikkat edilerek tüp içindeki ethanol tamamen dökülmüştür.
- Kurumaya bırakılan peletlerin üzerine daha sonra 100 µl 1XTE (Tris- EDTA Buffer) ilave edilmiş ve DNA'nın çözünmesi sağlanmıştır.
- Örnekler ağızları parafilmle sarılarak -20 derece derin dondurucuya kaldırılmıştır.

3.2.2.2. DNA'nın saflık derecesinin belirlenmesi

İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyonları Eppendorf (Biophotometer) spektrofotometre cihazında okunmuştur. Cihazda 260 nm dalga boyunda (A_{260}) DNA miktarı, 280 nm dalga boyunda (A_{280}) ise protein miktarı belirlenir. Bu iki değerin birbirine oranı (A_{260}/A_{280}) ise DNA'nın saflığını gösterir. Çift zincirli DNA molekülleri için, 1 optik dansitenin (OD) 50 µg/ml'ye karşılık geldiği bilinmektedir. Çalışmada DNA'lar 100 µl steril 1XTE tampon çözeltisinde çözülmüştür.

DNA konsantrasyonları biyofotometrede belirlendikten sonra çalışma konsantrasyonu olan 20 ng/µl'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlar (seyreltiler) % 1'lik agaroz jelinde (1XTE tamponunda) 10 µl yüklenerek yürütülmüş ve alınan görüntüler sonucunda konsantrasyonların eşitliği ve DNA bantlarının parçalanmadığı görsel olarak da teyit edilmiştir.

3.2.2.3. PCR Çalışmaları

Çalışmamamızda 9 adet ISSR primeri (Çizelge 3.4) kullanılmıştır. PCR reaksiyonunda kullanılan bileşenlerin marka ve miktarları Çizelge 3.5. de verilmiştir:

Çizelge 3.4. PCR Karışımında Kullanılan Kimyasallar ve Miktarları

Reaksiyon karışımı	**25 µl Reaksiyon Ortamı**
DNA miktarı (20 ng/µl)	4 µl
10x *Taq* tampon çözeltisi (Bioron)	2.5 µl
25 mM $MgCl_2$ (Bioron)	2.5 µl
Her birinden 25 mM olacak şekilde dNTPs (Lavron)	0.4 µl
Primer (50 pmol/µl)	0.5 µl
5 ünite/µl *Taq DNA polimeraz* (Bioron)	0.3 µl
ddH_2O (PCR hassasiyetinde distile deiyonize su)	14.8 µl

Çizelge 3.4. de belirtilen karışım (reaction mix) 200 µl hacmi olan, ince çeperli, RNase ve DNase-free PCR tüplerinde hazırlanmıştır. PCR çalışması için Eppendorf Mastercycler Gradient Thermal Cycler cihazı kullanılmıştır. Cihazın kapak sıcaklığı 105^0C ve blok ısıtıcını sıcaklığı 94^0C olarak ayarlanmıştır.

ISSR PCR çalışmaları Touch-Down PCR yöntemine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Primerlere göre sıcaklık dereceleri optimize edilmekle beraber genel olarak kullanılan PCR programı aşağıda verildiği şekildedir.

PCR programı 95^0C'de başlayıp, 94^0C'de 1 dk denatürasyon ve 72^0C'de primerin bağlandığı bölgede 2 dk süre ile uzamasını içeren toplam 20 döngüden (cycle) oluşmaktadır. Bu döngüler sırasında bağlanma sıcaklığı (annealing temperature) 65^0C'den başlatılarak her bir döngüde 0.5^0C azaltılarak 55^0C'ye

düşürülmüştür. 20 döngünün tamamlanmasından sonra 94^0C'de 1 dk denatürasyon, 55^0C'de 1 dk bağlanma ve 72^0C'de 2 dk uzamayı sağlayan ek 20 döngü yapılmıştır.

Çizelge 3.5. PCR Çalışmasında Kullanılan Primerlere Ait Özelikler

ISSR	Sekans (5'-3')	Bağlanma sıcaklığı (°C)	Primer uzunluğu (bp)	G/C (%)
F1	$GAG(CAA)_5$	49.1	18	38.9
F2	$CTC(GT)_8$	56.7	19	52.6
F3	$(AG)_8CG$	56.0	18	55.6
F4	$(AG)_8TG$	53.7	18	50.0
F5	$(AG)_8$	49.2	16	50.0
F6	$C(CAC)_4CA$	53.3	15	66.7
F7	$(AC)_8$	49.2	16	50.0
F8	$(GCC)_5$	67.0	15	100
F9	$(GAA)_5$	39.6	15	33.3
M1	$(AGC)_5G$	63.1	16	68.4

94 ◦C ---60 saniye
64 ◦C ---60 saniye
- 0.5 ◦C
55 ◦C----60 saniye
72 ◦C --- 2 dk
} x 20 döngü

94 ◦C ---60 saniye
55 ◦C----60 saniye
72 ◦C-----2 dk
} x 20 döngü

72 ◦C ---10 dk
4 ◦C --------bekleme sıcaklığı

3.2.2.4. Elektroforez ve Jel Görüntüleme

PCR uygulamasının tamamlanmasının ardından çoğaltılan DNA'ların görüntülenmesi amacıyla elektroforezde yürütme yapılmıştır. Bu işlem için elektroforez tankı kullanılmıştır. Tank içine elektolit çözeltinin konulmasının ardından hazırlanan agaroz jelin yuvalarına loading-dye isimli DNA'nın dağılmasını önleyen boyalarla muamele edilmiş DNA örnekleri yüklenmiş ve yürütme işlemi 60

V'luk elektrik akımında yapılmıştır. Bantların açılma durumuna göre (boyaların ilerleme oranlarına bakarak) belirli araklıklarla (yaklaşık her yarım saatte bir) görüntü alınmış, görüntü alma işlemine bantlar silik görüntü vermeye başladıktan sonra son verilmiştir.

3.2.2.5. Tris-borik asit-EDTA (TBE) tamponu

Çalışmamızda kullanılan TBE (Tris-Borik asid-EDTA) çözeltisi 10X konsantrasyonda, pH 8.0 olacak şekilde hazırlanmış ve solüsyonun son hacmi distile su ile 1 lt'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan bu stok çözelti kullanılarak 1X TBE yoğunluğa seyreltilmiştir. Hazırlanan solüsyon hem elektroforez tankına konmuş hem de jel hazırlamada kullanılmıştır.

3.2.2.6. Agaroz jelin hazırlanması ve tanka yerleştirilmesi

ISSR yöntemi ile PCR'de çoğaltılan DNA örneklerinin elektroforetik ayrımı amacıyla hazırlanan agaroz jel yapımı için Serva inc. marka agaroz kullanılmıştır.

Erlenmayere konulan 2 g agarozun üzerine 100 ml 1X TBE tampon çözeltisi eklenmiş ve yüksek sıcaklıktaki (300-350^{0}C) mikrodalga fırında 2-3 dk kaynatılarak eritilmiştir. Kaynatma esnasında takriben 15-20 sn'de bir çözelti hafifçe sallanmış, çözelti şeffaf bir renk alana kadar karıştırma işlemine devam edilmiştir.

Kaynama işleminin bitmesinden sonra çözelti soğumaya bırakılmıştır. Bu esnada elektroforez jel kasedine DNA'ların yükleneceği yuvaların oluşması için 40 adet dişi olan tarak yerleştirilmiştir. Eriyik jel eli fazla yakmayacak sıcaklığa düşünce DNA'ların UV ışık altında renk vermesini sağlayan ve DNA'ya yapışma özelliğine sahip etidyum bromürden 10 μg eklenmiş ve karıştırılmıştır. Soğuyan jel üzerine tarağı taktığımız elektroforez jel kasedine hava kabarcığı oluşmamasına dikkat ederek dökülmüştür. Jel donduktan sonra tarak çıkartılmış ve kaset elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Ardından hazırlanan 1XTBE elektrolit çözeltisi jelin üst kısmını kapatacak seviyede tanka dökülmüştür.

3.2.2.7. PCR ürünlerinin jele yüklenmesi

PCR'de çoğaltılan DNA örneklerinin jelde dağılmaması, görülebilmesi ve elektrolit çözeltisi ile karışmasını önlemek amacıyla Loading dye isimli yükleme boyası kullanılmıştır. Bu maddeyi hazırlamak için % 25'lik Bromofenol mavisi, % 25'lik Ksilen siyonol ve % 30'luk gliserol kullanılmıştır. 6X yoğunluktaki bu yükleme boyasından her bir PCR tüpüne 4 µl konarak, mikro pipet ucu yardımıyla karıştırılmıştır. Ardından jele yükleme yapmak için her bir tüpten 15 µl karışım alınmış ve hazırlanan jeldeki yuvalara yükleme yapılmıştır. Yükleme esnasında yuvalar arası geçişin önlenmesine ve hızlı yükleme nedeni ile örneklerin yuvadan taşıp yan yuvalara geçişini önlemek amacıyla hassas çalışılmıştır.

3.2.2.8. Jelin görüntülenmesi

Elektroforez tankında yürütülen DNA'larda ilk görüntü, örnekler yuvalara tamamen yerleştikten ve ilerlemeye başladıktan hemen sonra alınmıştır. Daha sonra ilerleme durumuna göre 60 V'lik elektrik akımında yaklaşık 20-30 dk arayla görüntü alınmıştır. Bantların ayrışmaya başladığı gözlenince elektrik akımı 40 V'ye düşürülerek, skorlama esnasında aradaki bant kaybının önlenmesi sağlanmıştır. Görüntülemek için kasedinden alınan jel Vilbert-Lourmart marka jel görüntüleme sistemine yerleştirilmiştir. Transilümünatör yardımı ile 254 nm dalga boyunda UV ışık altında görüntü elde edilmiş ve bilgisayara TIFF formatında kaydedilmiştir.

3.2.2.9. ISSR polimorfizmi ve genetik yakınlık derecesinin belirlenmesi

Dominant karakterli markörler olan ISSR uygulamaları iki tekerrürlü olarak yapılmıştır. Görüntüleme sonucu elde edilen ve yan yana olan bantlar: bant olan yere 1, bant olmayan yere ise sıfır kodu verilerek skorlanmıştır. Bu skorlar NTSYS-pc 2,0 (*Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* - Sayısal Taksonomi ve Çok

Değişkenli Analiz Sistemi) programına kaydedilerek hatlar arası genetik yakınlık derecesini gösteren dendogram (soyağacı) elde edilmiş ve Principal Coordinate Analysis (PCoA) programı ile de sonuçlar değerlendirilmiştir.

3.2.2.10. Protein analizi

Öğütüldükten sonra 70^0C'de 48 saat süre ile etüvde bekletilerek nemi tamamen alınmış tohumlar desikatöre taşınmış ve her bir örnekten 100 ml'lik balonjoje içerisine 0.6g tartılıp üzerine 2.5 ml H_2SO_4 ilave edilmiştir. 12 saat süreyle bekletilen örnekler 200±10 ^{0}C'de hot plate üzerinde H_2O_2 ilave edilerek beyazlaşıncaya kadar yakılmıştır. Hot plate üzerinden indirilen balonjojeler soğuyunca deiyonize saf su ile derecesine tamamlanmıştır. Bu şekilde elde edilen çözeltiler daha sonra Whatman 42 filtre kağıdı kullanılarak Falcon tüplerine süzülmüştür. Çözeltilerde Kjeldahl (Gerhardt-Vapodest) cihazı kullanılarak azot miktarı belirlenmiştir (Kacar, 1972). Yapılan analizlerin sonucunda elde edilen azot değeri 6.25 katsayısı ile çarpılarak tanelerin içerdiği ham protein oranları % olarak hesaplanmıştır (Bremner, 1965).

3.2.2.11. Besin elementlerinin analizi

Protein analizi için elde edilen çözeltilerde bitki besin elementleri (P, K, Ca ve Mg % olarak; Fe, Mn, B, Zn, Cu ve Mo ise ppm olarak) ICP-AES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer) (Varian-Vista Model) cihazı ile tespit edilmiştir (Soil Survey Laboratory Methods Manual, 2004).

3.2.2.12. İstatistiki analiz

Yapılan protein oranı ve besin elementi analizleri sonucunda elde edilen rakamlar tesadüf parselleri deneme desenine göre hem protein oranı ve hem de diğer

besin elementleri için ayrı ayrı varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizi sonucunda “F” değeri önemli çıkan konularda hatlar arasında gruplandırma yapmak üzere Duncan Testi yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Moleküler Çalışmalar

4.1.1. DNA İzolasyonu ve Saflık Derecesinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan fasulye çeşitlerinden DNA izolasyonu için bulk halindeki örnekler, bitkilerin genç ve taze yapraklarından alınmış, 2XCTAB mini-prep metodu ile izolasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Toplam 38 bireyde gerçekleştirilen DNA izolasyonu sonucu elde edilen DNA'lar %1'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve DNA'nın ISSR yöntemi için uygun görüntü verdiği belirlenmiştir. Elde ettiğimiz kaliteli DNA görüntüleri, bitkilerde bu yöntem ile gerçekleştirilen izolasyonun başarılı sonuçlar verdiği belirtilen daha önceki çalışmalarda da tespit edilmiştir (Ahmad, 1999; Banerjee ve ark., 2001; Sudupak, 2004; Cingilli ve Akçin, 2005).

Nükleotidlerin heterosiklik halkaları biyofotometrede 260 nm dalga boyunda en yüksek absorbsiyon özelliği gösterdiği için bu dalga boyunda ölçülen absorbsiyon değerleri (A_{260}) saf olarak elde edilen nükleik asitlerin konsantrasyonunu belirlemede kullanılmıştır. Örneklerin absorbsiyon özelliğine bakarak DNA ve RNA miktarını ayırt etmek yeterli değildir, ancak çalışmamızda izolasyon safhasında RNaz uygulanmış ve toplam nükleik asitlerin içinde bulunan RNA'ların parçalanması sağlanmıştır. A_{280} değeri ise örneklerde bulunan protein moleküllerinin yoğunluğunu göstermektedir. Saflaştılan DNA örneklerinde en uygun A_{260}/ A_{280} değeri ortalama 1.75-1.8 ve üzerinde olmalıdır. Bunun yanında bu oran 1.2 civarına kadar düşse dahi DNA örnekleri bir takım uygulamalarda sorunsuzca kullanılabilmektedir.

Çalışmamızda DNA saflığı Eppendorf marka biyofotometre ile okunmuş ve değerler Çizelge 4.1. de verilmiştir. Çizelge 4.1. de görüldüğü gibi en yüksek A_{260}/ A_{280} değerine sahip örnek "1.95" ile 23 no'lu hat olmuştur. 15 no'lu hat ise "1.36" değer ile en düşük orana sahip olduğu tespit edilmiştir. Otuzsekiz hattın tamamının

kullanıldığı PCR çalışmalarında DNA'nın saflığı veya konsantrasyonu ile ilgili herhangi bir sorun çıkmamıştır.

Çizelge 4.1. İzole Edilen Fasulye Örneklerine Ait DNA'ların Fotometre Değerleri

Hatlar	C	260/280	260	280	Hatlar	C	260/280	260	280
1	394.10	1.46	0.158	0.108	**20**	184.85	1.73	0.074	0.043
2	464.75	1.86	0.186	0.100	**21**	247.93	1.37	0.099	0.076
3	156.05	1.48	0.063	0.042	**22**	409.85	1.81	0.164	0.091
4	218.60	1.88	0.088	0.048	**23**	605.13	1.95	0.242	0.125
5	579.20	1.78	0.232	0.130	**24**	306.30	1.76	0.123	0.070
6	294.95	1.57	0.118	0.076	**25**	247.80	1.55	0.099	0.064
7	228.50	1.61	0.092	0.057	**26**	301.15	1.56	0.121	0.073
8	74.25	1.50	0.030	0.020	**27**	297.65	1.57	0.119	0.076
9	122.30	1.46	0.049	0.034	**28**	387.25	1.76	0.155	0.089
10	520.13	1.62	0.208	0.128	**29**	580.25	1.70	0.232	0.140
11	267.50	1.77	0.107	0.067	**30**	728.90	1.49	0.292	0.199
12	245.00	1.39	0.098	0.073	**31**	219.23	1.61	0.088	0.054
13	299.65	1.68	0.120	0.072	**32**	298.00	1.48	0.120	0.084
14	363.40	1.73	0.146	0.084	**33**	350.65	1.68	0.140	0.084
15	151.40	1.36	0.061	0.046	**34**	463.73	1.62	0.186	0.114
16	643.40	1.82	0.269	0.148	**35**	566.90	1.79	0.227	0.127
17	1082.60	1.38	0.433	0.314	**36**	209.40	1.56	0.084	0.054
18	396.10	1.57	0.159	0.101	**37**	550.60	1.56	0.220	0.141
19	610.40	1.74	0.118	0.094	**38**	779.20	1.59	0.312	0.196

C: Konsantrasyon

4.1.2. Çalışmada Kullanılan ISSR Primerleri ve Bant Oluşumu

Çalışmada kullandığımız 38 fasulye hattında 10 adet ISSR primeri ile DNA bantları üretilmiştir, kullanılan primerler, oluşan bant sayısı ve polimorfizm oranı Çizelge 4.2. de verilmiştir.

Çizelge 4.2. incelendiğinde bütün primerler ile elde edilen toplam 85 ISSR bandının 71 adedi polimorfik ve 14 adedinin monomorfik olduğu görülmektedir. Çalışmada elde edilen polimorfizm oranı % 84 (71/85) olarak tespit edilmiştir. Kullanılan tüm primerlere ait bantlar incelendiğinde *F2, F3, F5, F9 ve M1* primerlerinin polimorfizm oranı en yüksek (% 100) olduğu belirlenmiştir. En düşük polimorfizm oranı ise % 33 ile *F4* primerinden elde edilmiştir.

Kullanılan primer bazında en fazla bant sayısı 15 bant ile *F5* primerinden, en az bant sayısı ise 5 bant ile *F3* primerinden elde edilmiştir.

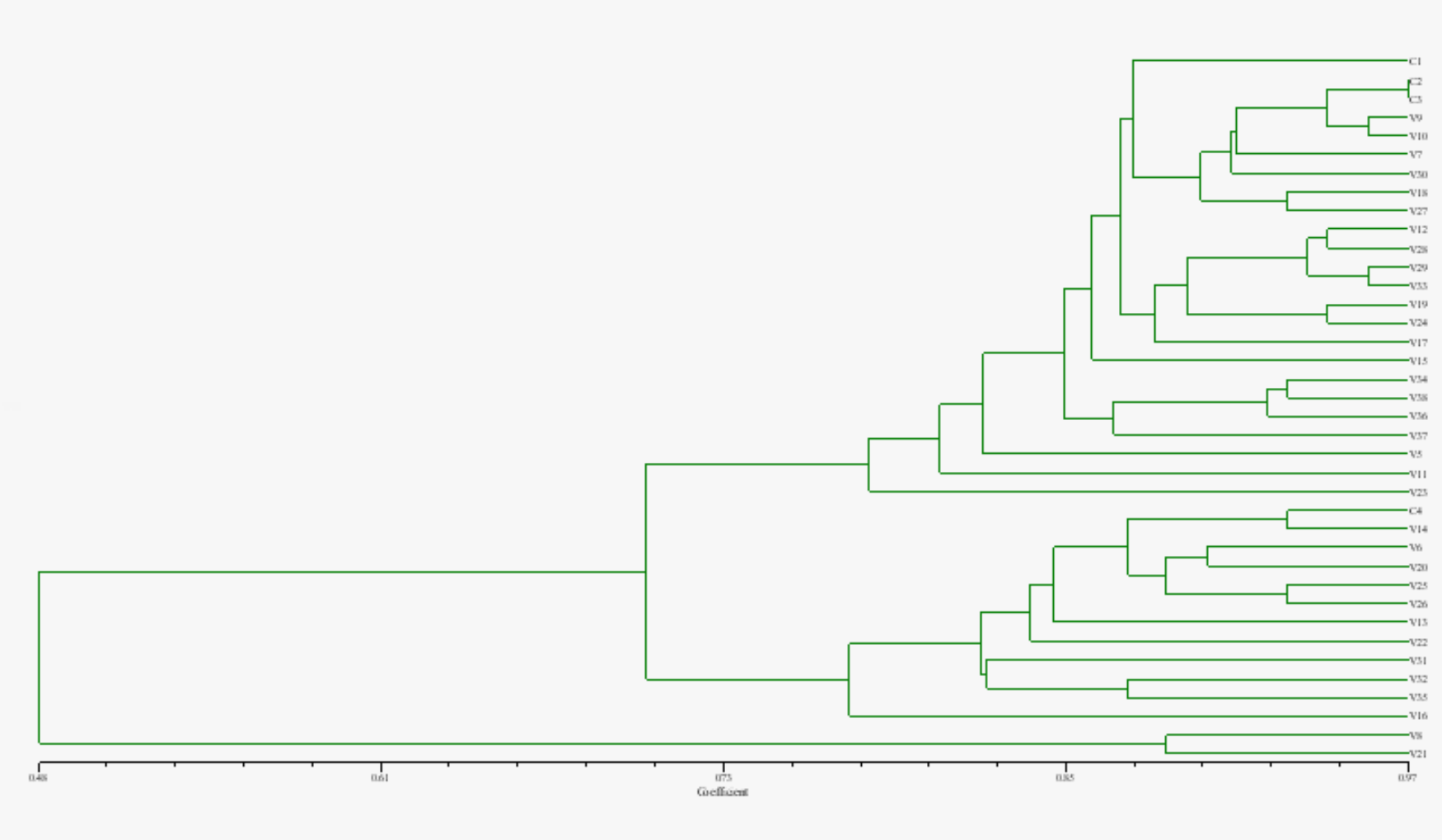
Çizelge 4.2. Çalışmada Kullanılan Primerler ve Bant Sayıları

Primer Adı	Toplam bant sayısı	Polimorfik bant sayısı	Polimorfizm oranı (%)
F1	7	4	57
F2	6	6	100
F3	5	5	100
F4	6	2	33
F5	15	15	100
F6	6	4	67
F7	9	7	78
F8	10	7	70
F9	10	10	100
M1	11	11	100
Toplam	**85**	**71**	**84**

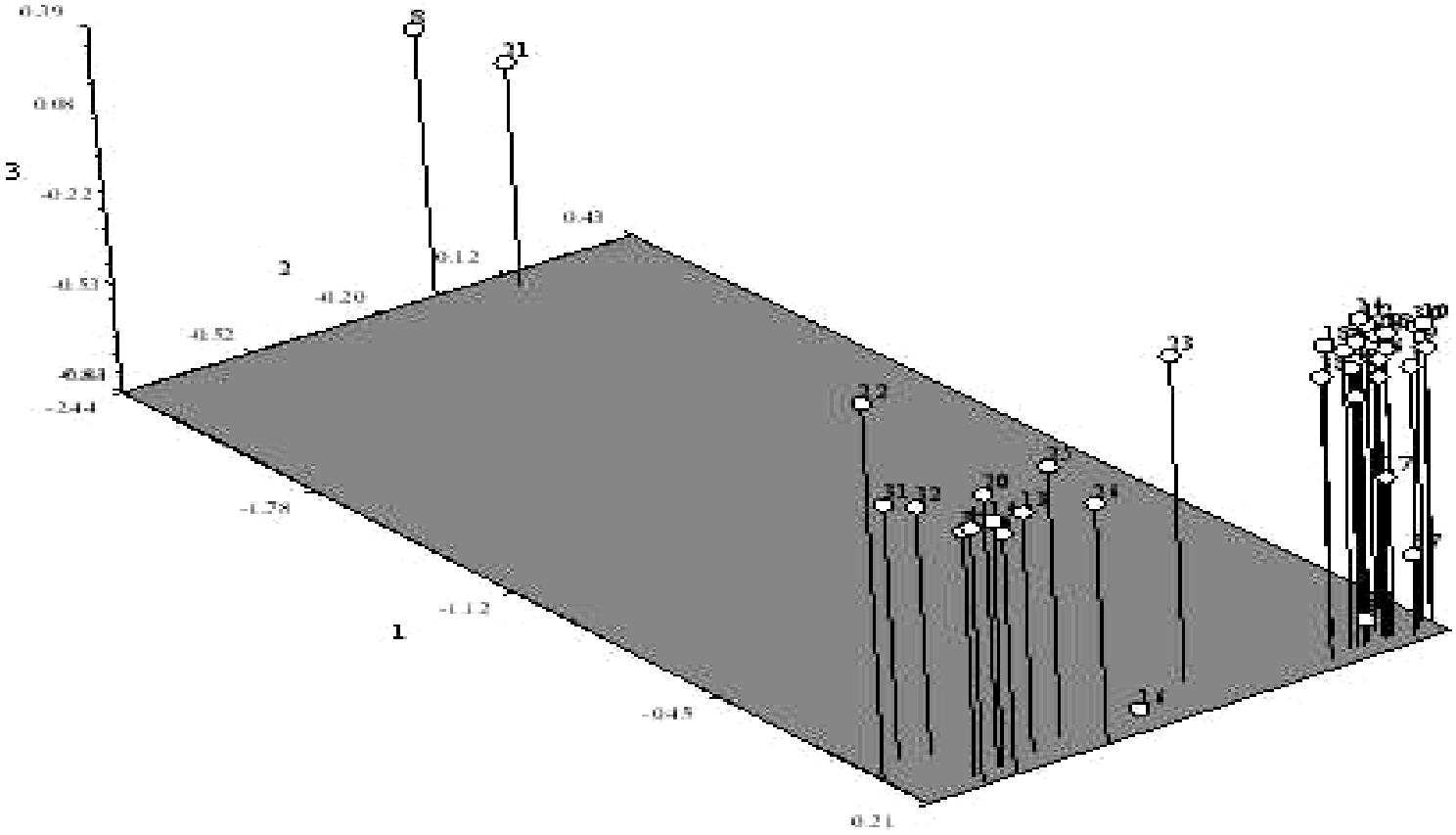
Çalışmamızın sonuçlarına bakarak ISSR markörlerinin fasulye çeşitleri için yüksek oranda polimorfizme sahip olduklarından genetik akrabalık derecesinin belirlenmesinde faydalı primerler olduğu ifade edilebilir. Bu markörler uygulama kolaylığı ve güvenilir sonuçlar vermesi nedeniyle moleküler çalışmalarda uygun bir araç olarak dikkat çekmektedir. Elde edilen verilerin güvenilir olduğu, maliyet ve zamandan tasarruf sağladığı ve uygulamasının kolaylığı konu ile ilgili daha önceki çalışmalarda da belirtilmiştir (Bornet ve Branchard, 2001; Reddy ve ark., 2002; Galvan ve ark., 2003; Duran ve ark., 2004; Sudupak, 2004; Gonzalez ve ark., 2006; Kuznetsova ve ark., 2005; Aytekin, 2006; , Hakkı, E. E. ve ark., 2007; Marotti ve ark., 2007).

PCR uygulamaları sonucu elde edilen görüntülerin skorlamaları NTSYS-pc 2.0 paket programı ile genetik benzerlik ve uzaklık matrisinden yaralanarak dendogram elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Oluşan dendogram sonucunda 38 hat arasındaki genetik ilişkinin SM benzerlik (similarity) katsayısına göre 0.48 ile 0.97 arasında olduğu görülmüştür.

Çalışılan populasyonlardan genetik yönden birbirine en yakın olanlar 2 ve 3 numaralı hatlardır.



Çizelge 4.3. PCR Çalışması Yapılan 38 Bireye Ait SM Dendogram Görüntüsü (Genetik Benzerlik)



Çizelge 4.4. PCR Çalışması Yapılan 38 Bireye Ait PCoA Analizi (Genetik Benzerlik)

Genetik benzerlik bakımından üzerinde ISSR yöntemi kullanılarak elde edilen soyağacına göre gruplandırmada fasulye hatlarının başlıca 3 ana gruba ayrılmaktadır. Birbirine en yakın olan 2 ve 3 no'lu hatların tersine genetik bakımdan 8 ve 21 no'lu hatlar diğer hatlara en uzak olanlardır. Bunlara ilave olarak ISSR sonucu elde edilen veriler ile ayrıca PCoA analizinde de görüldüğü gibi (Çizelge 4.5) 8 ile 21 no'lu hatların diğer hatlara göre genetik uzaklık bakımından en uzak bireyler olduğu ve yine 8 no'lu hattın genetik yapı bakımından diğer tüm bireylere en uzak olduğu ifade edilebilir. Netice itibariyle PCoA analizinin dendogram sonuçları ile benzer olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmaların neticesinde Konya yöresinde yetiştirilen fasulye hatlarının heterojen bir yapıda olduğu ve önemi giderek artan ıslah çalışmalarında bu genetik zenginliğin kullanılabilir olduğu kanısına varılmıştır.

4.2. Protein ve Elementel Analiz Sonuçları

41 fasulye hattı kullanılarak yapılan çalışmanın bu bölümünde incelenen özellikler aşağıda alt başlıklar halinde verilmiştir.

4.2.1. Protein Oranı

41 fasulye hattına ait protein oranı değerleri Çizelge 4.2. de, bu değerlere ait varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.6. da verilmiştir.

Çizelge 4.5. Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarına Ait Protein Oranı Değerleri (%) ve Duncan Grupları

Hatlar	Protein Oranı (%)	Hatlar	Protein Oranı (%)	Hatlar	Protein Oranı (%)	Hatlar	Protein Oranı (%)
1	20.68 tuv	**11**	26.56 bcd	**22**	20.18 v	**32**	21.01 s-v
2	23.85 ı-o	**12**	24.09 h-n	**23**	23.60 j-p	**33**	26.13 c-g
3	28.30 ab	**14**	24.31 g-m	**24**	23.11 l-r	**34**	25.40 c-j
4	**28.59 a**	**15**	22.13 o-u	**25**	24.67 e-l	**35**	22.40 n-u
5	28.58 a	**16**	26.21 c-f	**26**	26.94 abc	**36**	20.67 uv
6	23.31 k-q	**17**	25.07 d-k	**27**	22.51 m-t	**37**	20.87 s-v
7	24.51 f-l	**18**	26.39 cde	**28**	21.62 q-v	**38**	21.86 p-v
8	21.23 s-v	**19**	25.89 c-h	**29**	21.15 s-v	**39**	26.87 a-d
9	21.41 r-v	**20**	21.75 q-v	**30**	22.68 m-s	**40**	20.94 s-v
10	**20.11 v**	**21**	23.99 ı-n	**31**	25.49 c-ı	**41**	27.15 abc
						42	22.62 m-s
Ortalama							**23.78**

* Aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak % 1 seviyesinde önemli farklılıklar yoktur.

Çalışma sonuçlarına göre hatlar arasında protein oranları bakımından istatistiki olarak ($p<0.01$) önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. Bu amaçla hesaplanan "F" değeri 15.1431 olup, istatistiki olarak % 1 seviyesinde önemlidir. Hatların ortalaması olarak en yüksek protein oranı % 28.59 ile 4 no'lu hattan elde edilirken, en düşük protein oranı ise 10 no'lu hattan elde edilmiştir (% 20.11). En yüksek protein oranı ile en düşük protein oranı arasındaki fark % 8.48 olmuştur.

Çizelge 4.6. Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarının Protein Oranlarına Ait Varyans Analiz Değerleri

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Genel	81	529.22770		-
Hatlar	40	495.67660	12.3919	15.1431**
Hata	41	33.55110	0.8183	-

** İşlemler arasındaki farkın %1 seviyesinde önemli olduğunu göstermektedir.

Yapılan Duncan testi sonuçlarına göre çeşitler 21 gruba ayrılmıştır. 4 ve 5 no'lu hatlar 1. gruba (a) girerken, 10 no'lu hat son gruba (v) girmiştir. Nitekim Şehirali (1979), fasulye çeşitlerinin protein oranlarının farklı olduğunu ve çok sayıda yabancı literatürden faydalanan araştırıcı, bu oranın % 14.6 - % 35.1 arasında değiştiğini bildirmektedir. Diğer taraftan Tandon ve ark. (1957) Orta Amerika Ülkelerinde yetiştirilen 25 kuru fasulye çeşidinde protein oranının % 20.06 ile % 27.87 arasında değiştiğini belirlemiştir. Türkiye'de yapılan çok sayıda araştırmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Nitekim Erzurum'da 16 fasulye çeşidi ile yapılan bir araştırmada (Akçin, 1974), çeşitlerin protein oranlarının % 18.23 - % 31.46 arasında değiştiğini, Önder ve Özkaynak (1994) tarafından yapılan bir araştırmada kullanılan 10 fasulye çeşidinin protein oranlarının yıllara ve çeşitlere göre farklılık arz ettiği ve % 19.34 ile % 27.71 arasında değiştiğini ve çeşitler arasındaki bu farklılığın denemenin her üç yılında da istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Yukarıda zikredilen literatürlerden de anlaşıldığı gibi araştırmada kullanılan çeşit sayısı arttıkça, bu çeşitlerin protein oranlarındaki farklılık da o oranda artmaktadır. Çeşitler veya hatlar arasındaki bu farklılığın nedenlerinden biri araştırmaların farklı yıllarda yapılması dolayısıyla iklim şartlarının protein oranı üzerine etkisinden kaynaklanmasının yanında, bu farklılığın en önemli nedeni çeşitlerin veya popülasyonların genetik yapılarının farklı olmasıdır. Zira çalışmamızın moleküler

kısmında da açıklandığı gibi denemede kullandığımız hatlar genetik olarak farklılıklar arz etmiştir. Fasulye çeşitlerinin protein oranının belirlendiği bir çok araştırmada (Adolph ve ark., 1955; Rutger, 1968; Eser, 1981; Önder ve Akçin, 1995; Önder ve Akçin, 1996; Gülümser ve ark., 2005; Ceyhan ve ark., 2007; Uyanöz, 2007) da elde edilen değerler ile bu araştırmanın sonuçları uyum içerisindedir.

4.2.2. Elementel Analiz Sonuçları

Bu araştırmada element analizi 41 hat üzerinde yapılmış olup, her bir element bakımından yapılan varyans analiz sonuçlarına göre hatlar arasında istatistiki olarak fark çıkmamıştır (Çizelge 4.7).

Her bir hattın tanesinin bünyesinde bulunan 10 element hatlara göre ayrı ayrı belirtilmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.7. Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarının İçerdiği Besin Elementlerine Ait Varyans Analiz Tablosu

Varyasyon	S.	Kareler Ortalaması									
Kaynakları	D.	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	B	Zn	Cu	Mo
Genel	81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hatlar	40	1341522	42061607	179330	104150	184,7	105,8	18,16	175,2	6,769	22,69
Hata	41	1524081	117918204	411399	243233	407,9	134,1	14,67	243,4	9,07	16,59

4.2.2.1. 4.2.2.1. Fosfor (P)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki fosfor oranı Çizelge 4.8'de, fosfor oranlarına ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerin incelenmesiyle görüleceği gibi her ne kadar da hatlar arasında istatistiki olarak fark çıkmasa da hatların fosfor oranının farklılık arz ettiği görülmektedir. Şöyle ki, en yüksek fosfor oranı % 0.51 ile 12 no'lu hattan elde edilirken, en düşük fosfor oranı % 0.10 ile no'lu hattan elde edilmiştir. En düşük fosfor oranına sahip hat ile en düşük fosfor oranına sahip hat arasında % 0.41 fark vardır.

Bitkide birçok metabolik işlevi bulunan fosforun, tanedeki miktarı bitki türlerine göre farklılık arz etmektedir. Thompson ve Troeh (1973) yaptıkları çalışmalarda tanenin fosfor içeriğini incelemişler ve arpada % 0.38, mısırda % 0.27, yerfıstığında % 0.30 ve soya fasulyesinde %0.70 civarında fosfor olduğunu belirlemişlerdir. Pomeranz (1990) fasulye tanesinde fosfor içeriğinin ortalama % 0.40; Tarek (2002) nohut tanesinde % 0.21; Koplik ve ark. (2004) bezelyede % 0.36, Oloyo (2004) *C. cajan* tanelerinde % 0.29-0.32; Mubarak (2005) mung fasulyesinde % 0.39; Iqbal ve ark. (2006) nohut, börülce, mercimek ve yeşil bezelyede yaptığı çalışmada bu değerleri sırasıyla: % 0.25-0.61, 0.30-0.79, 0.29-0.36 ve 0.28-0.30 civarında olduğunu belirlemişlerdir. Uyanöz (2007) fasulye tanesinin ortalama % 0.47 oranında fosfor içerdiğini belirtmiştir. Bu çalışmanın sonuçları yukarıda zikredilen literatürlerle uyum içerisindedir.

4.2.2.2. Potasyum (K)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki potasyum oranı Çizelge 4.8'de, potasyum oranlarına ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerden anlaşılacağı gibi hatlar arasında istatistiki anlamda farklılık çıkmasa da hatların potasyum oranının farklılık gösterdiği görülmektedir. En yüksek potasyum oranı % 2.03 ile 24 no'lu hattan elde edilirken, en düşük oran % 0.11 ile 42 no'lu hattan elde edilmiştir. Buna göre tanenin potasyum oranı bakımından en yüksek ve en düşük hatlar arasındaki fark % 1.92'dir.

Potasyumun enzim aktivasyonunda, fotosentezin gerçekleşmesi ve fotosentez ürünlerinin taşınmasında, hücre büyümesinde ve bitkide su dengesinin kurulmasında önemli işlevleri olduğu bilinmektedir (Kacar ve Katkat, 1998).

Epstein (1965) bitkiler için yeterli seviyenin ortalama % 1.00 olduğunu belirtmiştir.

Çizelge 4.8. Araştırmada Kullanılan Fasulye Hatlarının Önemli Besin Elementi İçerikleri

	%				ppm					
Çeşit	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**Fe**	**Mn**	**B**	**Zn**	**Cu**	**Mo**
1	0.28	1.55	0.12	0.08	34.35	9.46	7.68	19.00	8.62	14.43
2	0.20	1.15	0.14	0.07	24.39	20.91	13.39	17.38	4.74	6.19
3	0.45	1.99	0.14	0.12	49.63	12.27	6.00	23.65	8.96	4.23
4	0.37	1.47	0.06	0.12	48.22	6.22	4.42	17.75	10.75	11.31
5	0.35	1.66	0.08	0.09	38.23	10.21	16.64	15.04	6.75	9.84
6	0.33	1.29	0.07	0.08	30.11	6.59	6.38	18.01	6.87	13.14
7	0.42	1.80	0.13	0.12	32.84	12.73	8.17	21.34	8.97	4.34
8	0.09	0.82	0.05	0.05	16.83	4.48	3.69	9.29	2.11	**0.00**
9	0.19	0.67	0.07	0.05	25.38	4.85	2.63	11.40	3.26	**0.00**
10	0.31	0.98	0.07	0.11	23.93	4.38	**16.83**	15.00	4.40	4.03
11	0.33	1.14	0.10	0.08	23.97	7.38	4.42	14.31	6.54	9.65
12	**0.51**	1.61	0.11	0.10	32.26	6.25	5.92	28.71	7.87	0.80
14	0.47	1.82	0.10	0.12	36.02	7.91	13.89	24.92	7.72	**16.54**
15	0.30	1.38	0.07	0.08	16.31	4.67	5.60	13.60	5.96	8.28
16	0.47	1.76	0.11	0.10	**53.83**	6.90	6.30	23.85	5.36	7.43
17	0.39	1.50	0.13	0.09	35.44	8.05	6.54	24.54	6.17	9.49
18	0.34	1.28	0.11	0.09	29.47	6.93	5.51	20.04	5.56	0.83
19	0.38	1.34	0.07	0.08	35.22	4.92	6.17	28.59	6.18	0.89
20	0.27	0.95	0.04	0.07	23.52	3.80	1.83	14.66	6.01	7.23
21	0.24	1.52	0.06	0.07	25.69	7.71	3.02	12.46	3.17	0.21
22	0.27	1.26	0.07	0.08	25.76	6.34	4.08	14.26	5.24	13.77
23	0.10	0.28	0.03	0.02	12.15	0.71	**16.10**	4.62	2.09	**0.00**
24	0.45	**2.03**	**0.19**	**0.13**	47.38	**95.76**	14.88	**30.88**	7.78	9.16
25	0.11	0.42	0.05	0.03	9.69	1.73	2.91	7.27	1.62	1.36
26	0.35	1.53	0.12	0.09	30.54	8.33	3.84	18.14	5.82	12.05
27	0.39	1.78	0.10	0.10	42.66	9.83	6.42	29.87	7.29	6.31
28	0.30	1.68	0.11	0.11	29.55	10.97	6.91	15.90	**10.00**	**0.00**
29	0.34	1.38	0.08	0.08	23.40	6.68	8.08	20.73	6.60	3.08
30	0.18	0.85	0.06	0.05	19.44	4.91	**1.03**	10.38	4.44	**0.00**
31	0.19	1.18	0.08	0.06	34.63	9.77	6.11	13.03	5.62	**0.00**
32	0.23	1.48	0.08	0.06	42.18	7.04	3.34	14.88	7.84	**0.00**
33	0.32	1.37	0.08	0.07	22.24	3.45	4.59	19.82	6.67	**0.00**
34	0.22	1.00	0.07	0.06	22.35	3.42	5.24	13.22	4.49	5.48
35	0.24	0.64	0.04	0.04	16.25	3.75	3.77	10.76	5.35	3.14
36	**0.10**	0.12	**0.01**	**0.01**	**2.02**	**0.12**	6.52	**3.10**	**0.94**	**0.00**
37	0.19	0.25	0.03	0.03	7.56	1.41	3.36	7.51	3.06	**0.00**
38	0.15	0.38	0.05	0.04	12.28	4.32	5.16	10.12	4.68	**0.00**
39	0.30	0.46	0.03	0.05	11.09	3.07	4.96	13.24	5.26	**0.00**
40	0.22	0.21	0.03	0.03	13.10	2.14	1.88	11.39	5.33	3.45
41	0.24	0.20	0.02	0.04	11.67	2.71	2.17	11.89	2.78	0.78
42	0.18	**0.11**	0.02	0.02	6.04	0.64	2.05	7.10	1.91	**0.00**
Ortalama	**0.28**	**1.10**	**0.08**	**0.07**	**25.66**	**8.18**	**5.55**	**15.75**	**5.49**	**4.46**

Bahnassey ve ark. (1986) yemeklik tane baklagillerdeki potasyum miktarını yaklaşık % 0.75, Pomeranz (1990) fasulyede yaptığı araştırmada bu miktarı ortalama % 0.98; Tarek (2002) nohut tohumlarında yaptığı analizlerde ortalama % 0.87 ve Iqbal ve ark. (2006) nohut, börülce, mercimek ve yeşil bezelyede yaptığı çalışmada bu değerleri sırasıyla: %1.15, 1.28, 0.87 ve 1.02, Uyanöz (2007) fasulye tanesinde yaptığı çalışmada potasyum miktarının % 2.00 civarında olduğunu bildirmiştir.

Çalışmamızda tespit edilen fosfor içeriğine ait değerler daha önce yapılan çalışmalarla uyuşmaktadır.

4.2.2.3. Kalsiyum (Ca)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki kalsiyum oranı Çizelge 4.8'de, bu oranlara ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerden anlaşılacağı gibi hatlar arasında istatistiki anlamda farklılık çıkmasa da hatların kalsiyum oranının farklılık gösterdiği görülmektedir. En yüksek kalsiyum oranı % 0.19 ile 24 no'lu hattan elde edilirken, en düşük oran % 0.01 ile 36 no'lu hattan elde edilmiştir. Buna göre tanenin potasyum oranı bakımından en yüksek ve en düşük hatlar arasındaki fark % 0.18'dir.

Kalsiyum, hücre duvarlarının ve bitki dokularının güçlenmesinde temel görevi üstlenmiştir (Konno ve ark., 1984). Proteinler arasında köprü oluşturmak suretiyle hücre membranlarını güçlendirir (Caldwell ve Haug, 1981).

Baklagillerde ortalama kalsiyum miktarının % 0.31 olduğu Bahnassey ve ark. (1986) tarafından bildirilmiştir. Pomeranz (1990) fasulye tanesindeki kalsiyum oranını % 0.11; Tarek (2002) nohutta 0.17; Oloyo (2004) *Cajanus cajan* bitkisinde 0.14 ile 0.17; Mubarak (2005) mung fasulyesinde 0.08 ppm; Iqbal ve ark. (2006) nohut, börülce, mercimek ve yeşil bezelyede sırasıyla: 0.19, 0.17, 0.12 ve 0.11 ppm olarak tespit etmiştir.

Araştırma sonuçlarımız kalsiyum içeriği bakımından önceki literatürlerle uyum içerisindedir.

4.2.2.4. Magnezyum (Mg)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki magnezyum oranı Çizelge 4.8'de, bu oranlara ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerden anlaşılacağı gibi hatlar arasında istatistiki anlamda farklılık çıkmasa da hatların magnezyum oranının farklılık arz ettiği görülmektedir. En yüksek magnezyum oranı % 0.13 ile 24 no'lu hattan elde edilirken, en düşük oran % 0.01 ile 36 no'lu hattan elde edilmiştir. Buna göre tanenin magnezyum oranı bakımından en yüksek ve en düşük hatlar arasındaki fark % 0.12'dir.

Magnezyum protein sentezinde etkilidir (Sperrazza ve Spremulli, 1983). Hücre çekirdeğinde RNA sentezinde etkilidir (Wunderlich, 1978).

Bahnassey ve ark. (1986) baklagillerde % 0.08-1.8, Savage ve Deo (1989) yayınladıkları derlemede birçok araştırmacıya ithafen bezelyede % 0.09-0.2, Oloyo (2004) *C. cajan* tanelerinde % 0.08-0.1, Mubarak (2005) mung fasulyesinde % 0.05 civarında olduğunu bildirmiştir ki bu sonuçlar da bulgularımızı desteklemektedir.

4.2.2.5. Demir (Fe)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki demir oranı Çizelge 4.8'de, demir oranlarına ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerden anlaşılacağı gibi hatlar arasında istatistiki anlamda farklılık çıkmasa da hatların demir oranının farklılık gösterdiği görülmektedir. En yüksek demir oranı 53.83 ppm ile 16 no'lu hattan elde edilirken, en düşük oran 2.02 ppm ile 36 no'lu hattan elde edilmiştir. Buna göre tanenin demir oranı bakımından en yüksek ve en düşük hatlar arasındaki fark 51.81 ppm'dir.

Demir bitkilerde önemli fizyolojik işlevlere sahiptir ve birçok biyokimyasal tepkimeyi katalize eden çeşitli enzimlerin aktivasyonunu sağlar. Bu enzimler solunum zincirinde, enerji metabolizmasında, protein sentezinde, fotorespirasyonda ve karbonhidrat sentezinde rol oynar (Kacar ve Katkat, 1998). Klorofil yapısında

bulunmasının yanında bitkinin klorofil içeriği ile yakından ilgilidir (Pushnik ve Miller, 1989).

Epstein (1965) genel olarak bitkilere yeterli demir miktarını ortalama 100 ppm olarak tespit etmiştir. Pomeranz (1990) yine fasulye bitkisinde 69 ppm, Tarek (2002) nohutta 77.2 ppm; Koplik ve ark. (2004) bezelyede yaptığı analizlerde 55.1 ppm, Oloyo (2004) *Cajanus cajan* tanelerinde bu değeri 55.2-96.9 ppm; Mubarak (2005) mung fasulyesinde 97 ppm; Iqbal ve ark. (2006) nohut, börülce, mercimek ve yeşil bezelyede sırasıyla: 30, 26, 31 ve 23 ppm, olarak bulmuşlardır.

Tanenin demir içeriğine dair tespit ettiğimiz sonuçlar konu ile ilgili daha önce yapılmış araştırma sonuçları ile benzerlik göstermekle birlikte, Uyanöz (2007)'nin fasulyede tespit ettiği en yüksek değer olan 116 ppm demir (çeşitler ortalaması 116±39.60) ve Mubarak (2005)'in mung fasulyesinde tespit ettiği en yüksek miktar olan 97 ppm değerinden daha düşük çıkmıştır. Bu fark, kültürel uygulamalar, iklim ve çeşitlerin genotip yapıları ve türler arasında tanenin kimyasal kompozisyonunda fark bulunması gibi faktörlerden kaynaklanmış olabilir.

4.2.2.6. Mangan (Mn)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki mangan oranı Çizelge 4.8'de, mangan oranlarına ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerden anlaşılacağı gibi hatlar arasında istatistiki anlamda farklılık çıkmasa da hatların mangan oranının farklılık gösterdiği görülmektedir. En yüksek mangan oranı 95.76 ppm ile 16 no'lu hattan elde edilirken, en düşük oran 0.12 ppm ile 36 no'lu hattan elde edilmiştir. Buna göre tanenin mangan oranı bakımından en yüksek ve en düşük hatlar arasındaki fark 95.64 ppm'dir.

Mangan, kolayca yükseltgenmesi nedeniyle fotosentezde elektron aktarımı ve oksijen içermeyen radikallerin zehir etkilerinin giderilmesi gibi redoks işlemlerinde görev almaktadır. 35 kadar enzimin aktivasyonunda kofaktör olarak görev almaktadır (Burnell, 1988). Bitkinin klorofil içeriği ve kloroplastların yapısında ve fotosentezde rol oynar (Nable ve ark., 1984).

Epstein (1965) bitki ihtiyacını karşılayacak düzeydeki manganın ortalama 50 ppm olduğunu belirtmiştir. Tarek (2002) nohut tanelerinde yaptığı analizlerde bu değerin 21.1 ppm; araştırmacı Koplik ve ark. (2004) bezelyede 9.30 ppm, Oloyo (2004) çimlenme sonrası *Cajanus cajan* ile yaptığı çalışmada mangan içeriğinin 29.4-31.6 ppm; Mubarak (2005) mung fasulyesinde yaptığı çalışmada 17 ppm; Iqbal ve ark. (2006) nohut, börülce, mercimek ve yeşil bezelyede yaptığı analizlerde bu değeri sırasıyla: 19, 17, 16 ve 22 ppm, Uyanöz (2007) fasulye tanelerinde 9.6±1.37 ppm civarında olduğunu belirlemiştir.

Araştırmada kullanılan çeşitlerden mangan içeriği yönünden elde edilen sonuçlar konuyla ilgili daha önce yapılmış araştırmaların bulguları ile paraleldir.

4.2.2.7. Bor (B)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki bor oranı Çizelge 4.8'de, bor oranlarına ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerden anlaşılacağı gibi hatlar arasında istatistiki anlamda farklılık çıkmasa da hatların bor oranlarında farklılık görülmektedir. En yüksek bor oranları 16.83 ppm ile 10 no'lu ve 16.10 ppm ile 23 no'lu hatlardan elde edilirken, en düşük bor içeren hat 1.03 ppm ile 30 no'lu hattır. Buna göre tanenin bor oranı bakımından en yüksek ve en düşük hatlar arasındaki fark 15.80 ppm'dir.

Bitki bünyesinde bor hücre zarının çapraz bağlarının oluşumunu sağlamakta, karbonhidrat ve protein metabolizmasında, doku farklılaşmasında, oksin ve fenol metabolizmasında, membran permeabilitesinde, polen çimlenmesinde ve polen tüpü büyümesinde önemli roller üstlenmektedir (Marschner, 1995).

Savage ve Deo (1989) birçok araştırmacıya ithafen (Kuzayli ve ark (1966), Meiners ve ark. (1976), Kumar ve Kapoor (1983), Lopez ve ark. (1986)) bezelye tanelerinde bor bulunmadığını, Bell ve Frost (2002) kolza tanelerinde bor miktarının ortalama 13 ppm, Güneş ve ark (2003) adlı araştırmacılar ise buğdayda 7.0-13.8 ppm arasında değiştiğini bildirmiştir. Hamurcu (2007) çeşitli bodur fasulye tanelerinde

yaptığı analizler sonucu çeşitlerin bor içeriğinin 11 ile 15 ppm arasında değiştiğini bulmuştur.

Çalışmamız sonucunda tanenin bor içeriğine ait elde ettiğimiz değerler geniş bir varyasyon göstermektedir. Bu farklılığın sebebi genetik yapı ve ekolojik farklılıklardan kaynaklanmış olabilir. Ancak bulduğumuz sonuç, önceki çalışmalarla benzerlik göstermemektedir.

4.2.2.8. Çinko (Zn)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki çinko oranı Çizelge 4.8'de, çinko oranlarına ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerden anlaşılacağı gibi hatlar arasında istatistiki anlamda farklılık çıkmasa da hatların çinko oranının farklılık gösterdiği görülmektedir. En yüksek çinko oranı 30.88 ppm ile 24 no'lu hattan elde edilirken, en düşük oran 3.10 ppm ile 36 no'lu hattan elde edilmiştir. Buna göre tanenin çinko oranı bakımından en yüksek ve en düşük hatlar arasındaki fark 27.78 ppm'dir.

Çinko, çeşitli enzimlerin yapısında yer alır ve çok sayıda enzimi aktive eder. Karbonhidrat, protein ve oksin metabolizmasında rol oynamaktadır. Membran kalitesi üzerine etkisi olduğu gibi çeşitli yönlerden bitki gelişmesi üzerine de olumlu ve önemli etki yapar (Kacar ve Katkat, 1998).

Epstein (1965) bitkilerdeki yeterli seviyede çinko miktarının ortalama 20 ppm olması gerektiğine dikkat çekmiştir. Tarek (2002) nohut tanelerinde yaptığı çalışmada çinko içeriğini yaklaşık 43,2 ppm; Koplik ve ark. bezelye tanelerinde 20.7 ppm, Iqbal ve ark. (2006) bu değeri yaklaşık olarak nohutta 68 ppm, börülcede 51 ppm, mercimekte 44 ppm ve taze bezelyede 32 ppm, Uyanöz (2007) fasulyede 27.1 olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda çinko miktarı ile ilgili tespit edilen değer, diğer çalışmalarla uyumludur.

4.2.2.9. Bakır (Cu)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki bakır oranı Çizelge 4.8'de, bakır oranlarına ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerden anlaşılacağı gibi hatlar arasında istatistiki anlamda farklılık çıkmasa da hatların bakır oranının farklılık gösterdiği görülmektedir. En yüksek bakır oranı 10.00 ppm ile 28 no'lu hattan elde edilirken, en düşük oran 0.94 ppm ile 36 no'lu hattan elde edilmiştir. Buna göre tanenin bakır oranı bakımından en yüksek ve en düşük hatlar arasındaki fark 9.06 ppm'dir.

Bakır, proteinlerle kompleks oluşturan bakır çeşitli enzimlerin yapısında yer alır. Fotosentezde elektron aktarım zincirinde rol oynar (Kacar, 1996). Ayrıca bitkilerde karbonhidrat ve azot metabolizması üzerinde etkilidir (Mizuno ve ark., 1982).

Epstein (1965) yaptıkları çalışma sonucu bitkiler tarafından alınan ve yeterli olan miktarın ortalama 6 ppm olduğunu bulmuşlardır. Takar ve ark. (1989) bu değeri mercimekte 6.5-16 ppm, nohutta 1.1-60 ppm; Pomeranz (1990) yine fasulyede ortalama 9.5 ppm; Jones ve ark. (1991) bezelyede gelişmesini yeni tamamlamış bileşik yapraklarda yaptığı analizde yeterli bakır miktarını 7-25 ppm; Tarek (2002) nohut tohumlarında 11 ppm; Koplik ve ark. (2004) bezelyede 6.33 ppm dolayında, Oloyo (2004) *C. cajan* tohumlarında 10.6-11.4 ppm olarak bulmuştur. Uyanöz (2007) bu değeri fasulyede 5.5±1.29 ppm olarak belirlemiştir.

Tanenin bakır içeriğine ilişkin tespit ettiğimiz değerler, diğer araştırmacılar tarafından da doğrulanmıştır.

4.2.2.10. Molibden (Mo)

Araştırmada kullanılan hatların tanelerindeki molibden oranı Çizelge 4.8'de, bu oranlara ait varyans analizi de Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelgelerden anlaşılacağı gibi hatlar arasında istatistiki anlamda farklılık çıkmasa da hatların molibden oranının farklılık gösterdiği, kimi hatların tanelerinde molibden

bulunmadığı görülmektedir. En yüksek molibden oranı 16.54 ppm ile 14 no'lu hattan elde edilirken, tanesinde molibden bulunmayan 8, 9, 23, 28, 30, 31, 32, 33, 36, 37, 38, 39 ve 42 no'lu hatlardır. Buna göre tanenin molibden oranı bakımından en yüksek ve en düşük hatlar arasındaki fark 16.54 ppm'dir.

Bu element bitkilerde hayati önem arz eden nitrogenaz ve nitrat redüktaz enzimlerinin yapısında yer alır. Azot fiske eden mikroorganizmaların işlevlerinde nitrogenaz enzimi temel teşkil eder. Bergensen (1971) nitrogenaz enzimi tarafından azot fiksasyonunun temel mekanizması ve dolayısıyla molibdenin işlevi, yüksek bitkilerle ortak yaşayarak azot fiske eden bakterilerle de aynı olduğunu bildirmiştir.

Epstein (1965) bitkiler için yeterli molibden içeriğinin ortalama 0.1 ppm olduğunu belirtmiştir. Gurley ve Giddens (1969) soya fasulyesi tanelerinde molibden içeriğini araştırmışlar ve içerdiği miktara göre noksan (0.05), orta (19) ve yüksek (48.4 ppm) olarak üç gruba ayırmışlardır. Nayyar (1990) börülcede yaptığı çalışmada molibden içeriğinin 1.5-100 ppm, yoncada 1.9-80 ppm, yulafta 1.0-72 ppm, İskenderiye üçgülünde 1.3-81 ppm, başka bir yonca varyetesinde 1.1-34 ppm ve mısırda 2.2-24 ppm arasında değişim gösterdiğini, Koplik ve ark. (2004) bezelye tanesinde 1.98 ppm olarak belirtmiştir. Nitekim bu araştırmada da elimizdeki çeşitlerin molibden içeriği, önceki çalışmalardaki tespit edilen değerlere benzer çıkmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Baklagillerin insan ve hayvan beslenmesinde, toprak veriminin korunması hatta artırılmasında, nadas alanlarının daraltılmasında ve dış satımda önemli bir yeri vardır. Ülkemizde özel sektörün gelişmesiyle ihracat olanaklarının artması ve son yıllarda yüksek verimli, iç tüketim ve dış satım için istenilen özelliklere sahip, kaliteli çeşitlerin geliştirilmesi ve mevcut çeşitlerin özelliklerinin ortaya konulması giderek artan bir ihtiyaç olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer yemeklik tane baklagillerde olduğu gibi fasulyede de tanedeki protein oranı diğer bitki gruplarına göre oldukça yüksektir. Proteinlerin dengeli beslenmede ne kadar önemli olduğu herkes tarafından bilinmektedir. Ülkemizde en fazla tüketilen bitkisel protein kaynağı olan ve münavebede mutlaka bulunması gereken fasulyenin en fazla üretimi Konya ilindedir. Sulu tarımda özellikle bölgemizde şeker pancarı ekim alanlarının sınırlandırıldığı göz önüne alınırsa çiftçiler için alternatif bir ürün olması bakımından çok önemlidir.

Türkiye'de kişi başına fasulye tüketimi yılda 3.2kg'dir. Bu değer Orta ve Kuzey Amerika (5.83kg) ile Güney Amerika (7.98kg)'nın ortalamasının altındadır. Türkiye'nin her yıl yaklaşık 40.000 ton dışalımı karşılığında yaklaşık 21 Milyon $ döviz ödendiği dikkate alınırsa çalışmanın önemi ortaya çıkmaktadır.

Türkiye genelinde olduğu gibi Konya'da da fasulye tarımında sertifikalı tohumluk kullanım oranı %10'un altındadır. Çiftçiler genellikle kaynağı ve genetik yapısı belli olmayan taneleri tohumluk olarak kullanmaktadırlar. Ancak buna rağmen birim alandan yüksek verim almaları dikkat çekicidir. Bu durum, mevcut popülasyonların özelliklerinin belirlenmesinin önemini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada Konya ilinde yaygın olarak yetiştirilen kuru fasulye hatlarının genetik yapı bakımından başlıca 3 ana gruba ayrıldığı, tanelerin protein oranlarının % 20.11-28.59 arasında değiştiği ve tanelerin mineral elementler yönünden istatistiki olarak önemlilik arz etmediği belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre çiftçilerin kullandığı tohumlukların geniş bir genetik varyasyona sahip olduğu ve kalite özelliklerinin de farklılık arz ettiği görülmüştür. Bu özellikler göz önüne alınarak ileride yapılacak ıslah çalışmalarında yerel fasulye hatlarının genetik taban olarak kullanılabileceği söylenebilir.

6. KAYNAKLAR

Adolph, W.H., Shammas, I. ve Halaby, S.H., 1955. The nutritive of legume and legume wheat mixed proteins in Near East diets. Food Research, 20 (1): 31-34.

Ahmad, F., 1999. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis reveals genetic relationships among the annual *Cicer* species. Theor Appl Genet 98:657–663.

Akçin, A., 1974. Erzurum şartlarında yetiştirilen kuru fasulye çeşitlerinde gübreleme, ekim zamanı ve sıra aralığının tane verimine etkisi ile bu çeşitlerin bazı fenolojik, morfolojik ve teknolojik karakterleri üzerine bir araştırma. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 157: 1-112, Erzurum.

Akçin, A.,1988.Yemeklik Dane Baklagiller, Selçuk Üniversitesi Yayınları No 43, Konya.

Ambler, I. E., ve Brown, I. C., 1969. Cause of differential susceptibility to zinc deficiency in two varieties of navy beans. Agr. J., 61: 41-43.

Aniol, A., 2004. Chromosomal location of aluminium tolerance genes in rye. Plant Breeding 123, 132—136.

Ankel, F.D. ve Thauer, R.K., 1988. Nickel in biology: Nickel as an essential trace element. Bioinorganic Chemistry of Nickel, 93-110.

Anonymous, 2006. http://faostat.fao.org

Aytekin, İ., 2006. Güney Karaman koyun ırkında genetik polimorfizmin RAPD-PCR yöntemi ile belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni ABD, Yüksek Lisans Tezi, Konya.

Bahnassey, Y., Khan, K. ve Harrold, R., 1986. Fortification of spaghetti with edible legumes. Cereal Chem. 63 (3): 210-215.

Banerjee, H., Pal, R.A. ve Sharma, R.P., 1999. Restriction fragment length polymorphism and random amplified polymorphic DNA analysis of chickpea accessions. Biologia Plantarum 42(2): 197–208.

Bell, R.W. ve Frost, K., 2002. Low boron supply depresses seed viability in canola and lupin. Boron in Plant and Human Nutrition. Kluwer cademic, USA.

Bergensen, F.J., 1971. Biochemistry of symbiotic nitrogen fixation in legumes. Ann. Rev. Plant Physiol. 22: 121-140.

Blair, M.W., Panaud, O. ve McCouch, S.R., 1999. ISSR amplification for analysis of microsatellite motif frequency and fingerprinting in rice (*Oryza sativa* L.). Theor Appl Genet 98: 780–792.

Boawn, L.C., Rasmussen, P.C. and Brown, L.W., 1969. Relationship between tissue zinc levels and maturity period of field beans. Ag. I., 61: 49-51.

Bollard, E.G., 1983. Involvement of unusual elements in plant growth and nutrition. 695-755.

Bornet, B. ve Branchard, M., 2001. Nonanchored inter-simple sequence repeat (ISSR) markers: Reproducible and specific tools for genome fingerprinting. Plant Mol Biol Reporter 19: 209–215.

Botstein, D., White, R., Skolnick, M. and Davis, R.W. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragmenth length polymorphisms, Am. J. Of Human Genet., 32; 314-331.

Bovenhuis, H., ve Meuwissen, T., 1996. Detection and Mapping of Quantitative Trait Loci. Animal Genetics and Breeding Unit, University of New England Armidale.

Bremner, J. M., 1965. Total nitrogen. in methods of soil analysis, part 2, chemical and microbiological properties. Eds. C A Black and D D Evans. pp. 1149-1178. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. USA.

Brown, P.H., Welch, R.M. ve Carry, E.E., 1987a. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. Plant physiol. 85: 801-803.

Burnell, J.N., 1988. The biochemistry of manganase in plants. Manganase ın Soils and Plants. Kluwer Academic, Dordrecht, 125-137.

Caldwell, C.R. ve Haug, A., 1981. Temperature dependence of the barley root plasma membrane-bound Ca^{+2} and Mg^{+2} – dependent ATPase. Physiol. Plant. 53: 117-124.

Ceyhan, E., Önder, M, Harmankaya, M., Hamurcu, M. ve Gezgin, S., 2007. Response of Chickpea Cultivars to Application of Boron in Boron-Deficient Calcareous Soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 38: 2381–2399.

Ceyhan, E., Önder, M., Hamurcu, M., Harmankaya, M., Gökmen, F. ve Gezgin, S., 2008. Response of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L) cultivars to foliar and soil applied in boron defficient calcareous soils. Plant and Soil (in Press).

Chatterjee, K.P., Ray, A. ve Banerjee, S., 1956. Essential amino acid composition of pulses and rice food res., 21: 569-570.

Cingilli, H. ve Akçin, A. 2005. High Quality DNA Isolation Method for Chickpea Genotypes. Turkish Journal of Biology, 29 (1). 1 – 5.

Çakmak, İ., Marschner, H. ve Bangerth, F., 1996. Effects of zinc nutritional status on growth, protein metabolism and levels of indole-3-acetic acid and other phytohormones in bean. J. Exper. Bot. 40: 405-412.

Derbyshire, E., Wright, D.J. ve Boulter, D., 1976. Legumin and vicilin, storage proteins of legume seeds. Phytochemical, 15: 3-24.

Dixon, N.E., Gazola, C., Blakeley, R.L. ve Zerner, B., 1975. Jack bean urease, a metalloenzyme. A simple biological role for nickel. J.

Duran, Y., Fratini, R., García, P. ve Pérez de la Vega, M., 2004. An intersubspecific genetic map of *Lens* TAG Theoretical and Applied Genetics Volume 108.

Duranti, M. ve Gius, C., 1997. Legume seeds: protein content and nutritional value. Field Crops Research. 53: 31-45.

Ellis, B. G., 1965. Zinc Deficiency A symposium: response and susceptibility. Crops and Soils., 8: 13.

Elmaki, H.B., Samia, M.A., Wisal, H.I, Amro, B.H., Elfadil, E.B., Abdullahi, H.E. T., 2007. Food Chemistry 100 (2007) 362–368.

Epstein, E., 1965. Mineral metabolism. Plant Biochemistry, Academic Pres, 438-466, London.

Eser, D., 1981. Yemeklik Baklagiller, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Teksir No: 59, Ankara.

Eskew, D.L., Welch, R.M. ve Norwell, W.A., 1984. Nickel in higher plants. Further evidence for an essential role. Plant Physiol. 76: 691-693.

Eyüpoğlu, F., Kurucu, N., ve Talaz, S., 1995. Türkiye Topraklarının Bitkiye Yarayışlı Mikroelementler Bakımından Genel Durumu. Toprak Gübre Araştırma Ens. 620/A-002 Projesi Toplu Sonuç Raporu. Ankara.

Fernandez, M.E., Figueiras, A.M. ve Benito, C., 2002. The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin. Theor Appl Genet 104: 845–851.

Foy, C.D. ve Brown, JC., 1964. Toxic factors in acid soils. II. Differential aluminium tolerance of plant species. Proc. Soil Sci. Soc. Amer. 28: 27-32.

Funchess, M.J., 1935. Lima beans. Agr. Exp. Sta. of the Alabama Polytechnic Institute. Leaftef 14: 4.

Galván, M.Z., Bornet, B., Balatti , P.A. ve Branchard, M., 2003. Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as a tool for the assessment of both genetic diversity and gene pool origin in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Euphytica Volume 132.

Gepts, P. ve Bliss, F.A., 1986. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans from Colombia. Econ. Bot. 40: 469-478.

Gonzalez, A.M., Monteagudo, A.B., Casquero, P.A., Ron, A.M. ve Santalla, M., 2006. Genetic variation and enviromental effects on agronomical and commercial quality traits in the main European market classes of dwarf dry bean. Field Crops Research 95: 336-347.

Graham. R.D., Welch, R.M., Grunes, D.l., Cary, E.E., ve Norvell, W. A, 1992. Selected zinc efficient cerea1 genotypes for soils low zinc status. Plant Soil 146, 241-250.

Gurley, W.H. ve Giddens, J., 1969. Factors affecting uptake, yield response and carryover of molybdenum on soybeen seed. Agon. J. 61: 7-9.

Gülümser, A., Bozoğlu, H. ve Pekşen, E., 1998. Yemeklik Tane Baklagiller (Uygulama Kitabı), 19 Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 27, Samsun.

Gülümser, A., Odabaş, M. S. ve Özturan, Y., 2005. Fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L) yapraktan ve topraktan uygulanan farklı bor dozlarının verim ve verim unsurlarına etkileri. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 18 (2) 163-168.

Güneş, A., Alpaslan, M., İnol, A., Adak, M.S., Eraslan, F. ve Çiçek, N., 2003. Effect of boron fertilization on the yield and some yield components of bread and durum wheat. Turkish J. Agr. And For. 27: 329-335.

Gürses, L.Ö., 1981. Bazı yerli kurubaklagil sebzelerinin kimyasal bileşimleri, konserve işlemede protein, tiyamin, riboflavin ve niasinde meydana gelen kayıplar ve çeşitlerin konserveye yarayışlılıkları üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 782/463, Ankara.

Hakkı, E. E., Kayis, S. A., Pınarkara, E. ve Sağ, A., 2007. Inter simple sequence repeats separate efficiently hemp from marijuana (Cannabis sativa L.). Electronıc Journal Of Bıotechnology 10 (4): 570-581.

Hamurcu, M., 2007. Türkiye'de yetiştirilen bazı bodur kuru fasulye genotiplerinin bor ve çinko uygulamalarına tepkilerinin belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı, Doktora Tezi. Konya.

Hou, Yong-Cui, Yan, Ze-Hong, Wei, Yu-Ming, Zheng, You-Liang. 2005. Genetic diversity in barley from west China based on RAPD and ISSR analysis Barley Genetics Newsletter 35:9-22.

Iqbal, A., Khalil, I.A., Ateeq, N. ve Khan, M.S., 2006. Nutritional quality of important food legumes. Food Chemistry 97 (2): 331-335.

Iruela, M., Rubio, J., J.I. Cubero, Gil, J. ve Millán, T., 2002. Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers. Theor Appl Genet 104: 643–651.

Jones, J.B.Jr., Wolf, B. ve Mills, H.A., 1991. Plant analysis handbook. P. 1-213. Micro-Macro Publishing, Inc., U.S.A.

Joshi, S.P., Gupta, V.S., Aaggarwal, R.K., Ranjekar, P.K. ve Brar, D.S., 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealedby inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza*. Theor Appl Genet 100(8): 1311–1320.

Jyung, W.H., Ehmann, A., Schlender, K.K., and Scala, 1., 1975. Zinc nutrition and starch metabolism in *Phaseolus Vulgaris* L. Plant Pys., 55: 414-420.

Kacar, B., 1972. Bitki ve toprağın kimyasal analizleri 1-2. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları 468. Yardımcı Ders Kitabı 161.

Kacar, B., 1996. Bitki fizyolojisi. 4. Baskı. 1-424. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 1447. Ankara.

Kacar, B. ve Katkat, V. 1998. Bitki besleme. Uludağ Üniversitesi Güçlendrime Vakfı Yayın No: 127, Vipaş Yayınları:3, Bursa.

Kantety, R.V., Zeng, X.P., Bennetzen, J.L. ve Zehr, B.E., 1995. Assessment of genetic diversity in Dent and Popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. Mol Breed 1: 365–373.

Kara, K. 1988. Erzurum Ekolojik Koşullarında Bazı Soya Çeşitlerinin Fenolojik, Morfolojik Özellikleri İle Verim Ve Verim Öğeleri Üzerine Bir Araştırma. Doğa Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi 12: 3.

Konishi, S., Miyamoto, S. ve Taki, T., 1985. Stimulatory effects of aluminium on tea plants grown under low and high phosphorus supply. Soil Sci. Plant Nutr., 31: 361-368. Tokyo.

Konno, H., Yamaya, T., Yamasaki, Y. ve Matsumoto, H., 1984. Pectic polysaccharide break-down of cell walls in cucumber roots grown in calcium starvation. Plant Physiol. 76: 633-637.

Koplik, R., Metsek, O., Kominkova, J., Borkova, M. ve Suchanek, M., 2004. Effect of cooking on phosphorus and trace elements species in peas. Food Chemistry 85: 31-39.

Köksal, N., Cansev, A., Gülen, H., İpek, A. ve Eriş, A. 2005. Bazı Yerel Fasulye Genotiplerinin Arasındaki Akrabalık İlişkilerinin Belirlenmesi. XIV. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi (31 Ağustos – 2 Eylül 2005). 304 – 308. Eskişehir.

Kubota, J. ve Allaway, W.h., 1972. Geographic distrubition of trace element problems. p. 525-554.

Kumar, R., 1989. The technique of polymerase chain reaction, A Journal of Methods in Cell and Molecular Biology, 1,133-152.

Kuzayli, M. V., Cowan, J W ve Sabry, Z. I., 1966. Nutritive value of Middle Eastern foodstuffs. 2. Composition of pulses, seeds, nuts and cereal products of Lebanon. Journal of Food and Agriculture 17, 82-84.

Kuznetsova, O. I., Ash, O. I., Hartina, G. A. ve Gostimskij, S. A., 2005. RAPD and ISSR analyses of regenerated pea *Pisum sativum* l. Plants Russian Journal of Genetics Volume 41.

Leggett, G.E., and Westermann, D.T., 1986. Effects of corn, sugarbeets and fallow on zinc availability in subsequent crops. Soil Sc. Soc. Am. J., 50: 963968.

Lowe, A. J., Hanotte, O. and Guarino, L., 1996. Standardization of Molecular Genetic Techniques for the Characterization of Germplasm Collections: The Caase of Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). Plant Genetic Resources Newsletter. 107: 50-54.

Maier, R.J., Phil, T.D., Stults, L. ve Sray, W., 1990. Nickel accumulation and storage in *Bradyrhizobium japonicum*. Appl. Environ. Microbial. 56: 1905-1911.

Marotti, I., Bonetti, A., Minelli, M., Catizone, P. ve Dineli, G., 2007. Characterization of some Italian common bean landraces by RAPD, semi-random and ISSR molecular markers. Genetic Resources and Crop Evolution. 54: 175-188.

Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Second Edition, 1-889. Academic Pres, New York.

Meiners, C. R., Derise, N. L., Lau, H. C., Crews, M. G., Ritchey S. J. ve Murphy, E. W., 1976. The content of nine mineral elements in raw and cooked mature dry legumes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 24, 1126-1129.

Mizuno, N., Inazu, O., ve Kamada, K., 1982. Characteristics of concentrations of copper, iron and carbohydrates in copper deficient wheat plants. 396-399.

Mubarak, A.E., 2005. Nutritional composition and nutritional factors of mung bean seeds as affected by some home traditional processes. Food Chemistry 89: 489-495.

Nable, R.O., Bar-Akiva, A. ve Loneragan, J.F., 1984. Functional manganase requirement and its use as a critical value for diagnosis of manganase deficiency in subterranean clower. Ann Bot. 54: 39-49.

Nagaoka, T. and Ogihara, Y., 1997. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theor Appl Genet 94: 597-602.

Nayyar, V.K., 1990. Micronutrients in soils and crops of Punjab. Res. Bull. Dep. Of Soils, PAU. Ludhiana, 146-160.

Nergiz, C. ve Gökgöz, E., 2007. Effects of traditional cooking methods on some antinutrients and in vitro protein digestibility of dry bean varieties (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in Turkey. International Journal of Food Science and Technology, 42: 868–873.

Oloyo, R.A., 2004. Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. Food Chemistry 85: 497-502.

Osipova, E.S., Kokaeva, Z.G., Troitskij, A.V., 2001. RAPD Analysis of Maize Somaclones, *Rus. J. Genet.* 37(1):80-84.

Önder, M. ve Özkaynak, İ., 1994. Bakteri aşılaması ve azot uygulamasının bodur kuru fasulye çeşitlerinin tane verimi ve bazı özellikleri üzerine etkileri. TÜBİTAK, Doğa-Tr. J. of Agriculture and Forestry, 18: 463–471.

Önder, M. ve Akçin, A., 1995. Azot ve fosforun farklı kombinasyonlarının bodur kuru fasulye çeşitlerinin tane verimi, ham protein oranı ve bazı verim unsurlarına etkileri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 7(9) : 122–131.

Önder, M. ve Akçin, A., 1996. Ekim zamanlarının bodur kuru fasulye çeşitlerinde tane ve protein verimi ile verim unsurlarına etkisi. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10 (13): 7-18.

Önder, M. ve Babaoğlu, M. 2001. Interactions Amongst Grain Variables in Various Dwarf Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars. Agronomy and Crop Science 1873 19-23.

Özbek, N. 1969. Deneme Tekniği: 1. Sera denemesi tekniği ve metodları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. 406, Ders Kitapları:138. A.Ü. Basımevi, Ankara.

Özdemir, S., 2002. Yemeklik Baklagiller, Hasad Yayıncılık Ltd. Şti. İstanbul.

Peaslee, D.E., ve Leggett, Le., 1980. Utilization of Seed Zinc by *Zea mays* seedlings. Com. in Soil Sci. and Plant An., Ll: 223-229.

Pejic, I., Ajmone-Marsan, P., Morgante, M., Kozumplick, V., Castiglioni, Taramino, P., G. ve Motto, M., 1998. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs and AFLPs. Theor Appl Genet 97: 1248–1255.

Polson, D.E., and Adams, N.W., 1970. Differential response of navy beans to zinc I. Differential growth and elementel composition at excessive Zn levels. Ag.J., 62:557-560.

Pomeranz, Y., 1990. Advances in cereal science and technology. AACC. St. Paul, Minnesota, USA, pp: 159.

Prask, J.A. ve Plocke, D.J., 1971. A role of zinc in the structural integrity of the cttoplasmic ribosomes of euglena gracilis. Plant Phsiology.

Pushnik, J.C. ve Miller, G.W., 1989. Iron regulation of chloroplast photosynthetic function: mediation of PSI development. J. Plant Nutr. 12: 407-421.

Qian, W., Ge, S. ve Hong, D.Y., 2001. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. Theor Appl Genet 102: 440–449.

Rajesh, P.N., Sant, VJ, Gupta, V.S., Muehlbauer, F.J., Ranjekar, P.K., 2002. Genetic relationships among annual and perennial wild species of Cicer using inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism. Euphytica 129:15–23

Reddy, M.P., Sarla, N. ve Siddiq, A., 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding *Euphytica* 128: 9–17.

Rutger, J.N., 1968. Variation in protein content and its relation to other characters in beans. Agronomical Abstracts Anual Meetings, American Social of Agronomy, S. 20.

Savage, G.P. ve Deo, S., 1989. Nutrition abstracts and reviews (Series A). The nutritional value of peas. A Literature review. Vol. 59, No. 2.

Schnabel, R.D., Sonstegard, T.S., Taylor, J.F. ve Ashwell, M.S., 2005. Whole genome scan to detect QTL form ilk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. International Society for Animal Genetics, Animal Genetics, 1365-2052.

Shacklette, H.T., 1980. Elements in fruits and vegetable from areas of commercial production in the Conterminous United States. U.S. Geol. Surv. Prol. Pap., 1178, 149.

Shacklette, H.T., Erdman, J.A. ve Harms, T.F., 1978. Trace elements in plant foodstuffs. Toxicity of Heavy Metals in the Environments. Part I., F.W. Oehme, ed., Marcel Dekker, New York.

Shaw, E., Menzel, R.G., and Dean, L.A.,1954. Plant uptake of ^{65} Zn from soils and fertilizers in the greenhouse. Soil Sc., 77:205-214.

Shrift, A., 1969. Aspects of delenium metabolism in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. 20: 475-494.

Sillappa, M., 1982. Micronutrients And The Nutrients Status of Soils. A Global Study, Fao Soils Bull No: 48: 43-93.

Sepetoğlu, H., 2002. Yemeklik Dane Baklagiller, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Ders Notları: 24/4, İzmir.

Sepetoğlu, H., 2006. Tarla Bitkileri I, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 569, İzmir.

Sperrazza, J.M. ve Spremulli, L.L., 1983. Quantitation of cation binding to wheat germ ribosomes: influences on subunit association equilibria and ribosome activity. Nucleic Acids Res. 11: 2665-2679.

Sudupak, M.A., 2004. Inter and intra-species inter simple sequences repeat (ISSR) variations in the genus Cicer. Euphytica 135:229– 238.

Şehirali, S., 1979. Yemeklik Dane Baklagiller, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Yetiştirme ve Eğitim Kürsüsü Yayınları, Ankara.

Şehirali, S., Gençtan, T. ve Çiftçi, C.Y., 1980. Fasulyede protein kapsamının değişimi ve kalıtımı. Tarım Orman Bakanlığı Ziraat İşleri Genel Müdürlüğü Tarımsal Araştırma Dergisi 2:3. Ankara

Şehirali, S., 1988. Yemeklik Dane Baklagiller, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 1089, Ders Kitabı: 314, Ankara.

Takkar, P.N., Singh, M.V. ve Ganeshamurthy, A.N., 1997. In p1ant nutrient needs, supply, efficiency and policy ıssues: 2000-2025, (Kanwar, J.S. and Katy-aI~ J.C Eds.). NAAS, New Delhi.

Tandon, O.B., Bressani, R., Scrimshaw, N.S. ve Beau, F., 1957. Nutrients in control American Beans. J. Agr. Food Chemistry, 5 (2): 137-142.

Tarek, A.E.A., 2002. Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas undergoing different cooking methods and germination. Plant Foods for Human Nutrition 57: 83-97.

Thompson, L.M. ve Troeh, F.R., 1973. Soil and soil fertility. pp. 1-495. McGraw-Hill Book Compony, New York.

Thomson, W.W., ve Weiwer, T.E., 1962. The fine structure of chloroplasts from mineral-deficient leaves of *Phaseolus vulgaris*. Am. J. Bot.49:1047-1055.

Tisdale, S.L., Nelson, W.L. ve Beaton, J.D., 1985. Soil fertility and fertilizers. Fourth Ed. 1-754. Macmillan Publishing Company, New York.

Uyanöz, R., 2007. The effects of different bio-organic, chemical fertilizers and their combination on yield, macro and micro nutrition content of dry bean. International Journal of Agr. Res. 2 (2): 115-125.

Viets, F.G., Boawn, L.C. ve Crawford, C.L., 1954. Zinc content of bean plants in relation to deficiency symptoms and yield. Plant Ph., 29: 76-79.

Welch R.M., 2002. The ımpact of mineral nutrients in food crops on global human health. Plant and Soil 247: 83–90.

Welch, R.M., and Graham, R.D., 2002. Breeding Crops for Enhanced Micronutrient Content. Plant Soil 245, 205-214.

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A. and Tingey, S.V., 1990. DNA Polimorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. Nucl. Acids Res., 18, 6531-6535.

Woodrow, I.E. ve Rowan, K.S., 1979. Change of flux of orthophospate between cellular compartments in ripening tomoto fruits in relation to the climatic rise in respiration. Aust. J. Plant Physiol. 6: 39-46.

Wunderlich, F., 1978. Die kernmatrix: Dynamisches protein-gerüst in zelkernen. Naturwiss. Rundsch. 31: 282-288.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Uşak'ta dünyaya geldim. İlk ve Orta Öğretimi Uşak'ta tamamlandım. 2005 yılında Uşak İzzettin Çalışlar Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi'nden mezun oldum ve aynı yıl Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitkisel Üretim Programı'nda yüksek öğrenime başladım. 2005 yılında Tarla Bitkileri Bölümü'nden mezun oldum. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalın'nda Yüksek Lisans Eğitimi'me ve Fen Bilimleri Enstitüsü kadrosunda Araştırma Görevlisi olarak Prof. Dr. Mustafa ÖNDER'in danışmanlığında Yemeklik Tane Baklagiller Uzmanlık Dalı'nda göreve başladım. 2007 yılında 2 ay süreyle İtalya'ya, Universita Degli Studi Della Basilicata Üniversitesi'ne yüksek lisans eğitimi amacıyla Erasmus Programı çerçevesinde gittim. Halen Selçuk Üniversitesi'nde görev yapmaktayım.

ALİ KAHRAMAN