

Bazı Taze Fasulye Çeşit Adayları ile Ticari Çeşitlerin Morfolojik Özellikler ve Protein Markörler Yoluyla Tanımlanmaları¹

Ahmet BALKAYA¹

Ruhsar YANMAZ²

Geliş Tarihi: 09.04.2002

Özet: Araştırmada, teksel seleksiyon yöntemi ile taze tüketime uygun olarak geliştirilen 15 fasulye çeşit adayları ile ülkemizde ticari olarak yetiştirilen 5 taze fasulye çeşidi hem morfolojik çeşit özellikleri dikkate alınarak hem de protein markörler yardımı ile tanımlanmıştır. Tarla koşullarında yürütülen çalışmalarda erkencilik yanında morfolojik özelliklerden bitki (boy), yaprak (renk, uç ve yan yaprak boyu ve eni, uç yaprak şekli), çiçek (brakte büyüklüğü, renk), bakla (boy, en, enine kesit şekli, renk, kılçıklılık, pürüzlülük, kıvrılma düzeyi ve tohum belirginliği) ve tohum (irilik, şekil, renk) özellikleri değerlendirilmiştir. Laboratuvar koşullarında SDS-PAGE tekniği kullanılarak çeşit ve çeşit adaylarının protein bantları çıkarılmıştır. Araştırma sonucunda çeşit adaylarının birbirlerinden ve mevcut çeşitlerden hem morfolojik özellikler hem de protein bant sayısı ile bant uzunlukları yönünden farklılık gösterdikleri ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: fasulye, çeşit, tanımlama, morfolojik özellik, protein markör

Identification of Some Selected French Bean Cultivars by Morphological Properties and Protein Markers

Abstract: Twentyone bean cultivars (15 cultivar candidate and 5 commercial cultivar) were identified both field and laboratory tests. In field tests earliness, plant (height), leaf (color, the size of terminal and side leaflets, shape of terminal leaflet), flower (size of bracte, color), pod (size, shape of cross section, color, stringiness, surface texture, degree of curvature, prominence of grains) and seed (size, shape, color) properties were determined. In laboratory tests seed protein bands were obtained by SDS-PAGE. Results of research, both candidates of cultivars and commercial cultivars showed that differences morphological characters and protein band design.

Key Words: bean, variety, identification, morphological properties, protein marker

Giriş

Ülkemizde gen kaynağı toplama çalışmaları yapılmakla birlikte, çalışmalar materyal toplamadan öteye gidememekte, materyallerin morfolojik, biyolojik ve genetik yapılarına ilişkin bilgilerin yetersiz düzeyde kaldığı bilinmektedir. Herhangi bir türde toplanan gen kaynakları tanımlanmadıkları sürece ıslah programlarında yer alamamakta, tanımlama yapılmadan ıslah programlarına alınsa bile kısa bir süre içinde kayba uğramaktadır. Bu nedenle toplanan gen kaynaklarının bitki özelliklerinin belirlenmesi, hem ıslah çalışmaları hem de gen bankaları açısından büyük önem taşımaktadır.

Toplanan bir gen kaynağının çeşit tanımlamasına yönelik özellikleri tarla ve laboratuvar koşullarında belirlenebilmektedir. Tarla koşullarında yürütülen çalışmalar sonucunda çeşitlerin veya gen kaynaklarının fenolojik, morfolojik, fizyolojik ve patolojik özelliklerinin belirlenmesi mümkün olabilmektedir (Balkaya ve Yanmaz 2001). Ancak tarla denemeleri ile yapılan çeşit tanımlama çalışmaları hem uzun zaman almakta hem de morfolojik karakterlerin bir kısmının çevre koşullarından etkilenmesi nedeniyle özellikle morfolojik özellikleri yönünden birbirlerinden ayırt edilmesi zor olan çeşitlerde kesin sonuçlara ulaşılamamaktadır. Günümüzde "Protein Markörler" olarak adlandırılan teknikler yardımıyla bitkinin değişik organları kullanılarak türler ve çeşitler laboratuvar

koşullarında tanımlanabilmekte ve birbirlerinden farklı olup olmadıkları kesin olarak anlaşılabilir. Tohuma dayalı çalışmalarda toplam protein polimorfizmi dikkate alınırken özellikle vejetatif organların kullanıldığı çalışmalarda farklı izoenzimlere sahip enzimler kullanılmaktadır (Ağaoğlu ve ark. 1999).

Protein markörler çevre koşullarından etkilenmediği için çeşit tanımlamalarında kısa sürede daha kesin sonuçlar vermektedir (Şehirli 2002). Bu nedenle çeşit fescilinde uluslararası kuruluşlar tarafından kabul edilen bitkinin morfolojik, fenolojik ve biyolojik özelliklerine dayalı bitki özelliklerinin yanında, protein markörlere dayalı tanımlamalar da istenmektedir.

Protein markörler yoluyla tanımlamaların esası, tohum depo proteinlerinin elektroforetik yöntemlerle ayrılmasına dayanmaktadır (Volodin ve ark. 1984). Bu nedenle sebze türlerinde tohum materyaline dayalı çalışmalar ön plana çıkmaktadır.

Burada sunulan çalışmada ülkemiz sebze üretiminde önemli bir paya sahip olan taze fasulye çeşitlerinin tanımlanması hedeflendiği için bu konuda yapılan çalışmalara yer verilmiştir.

¹Doktora Tezi'nden hazırlanmıştır

¹Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü-Samsun

²Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü-Ankara

Fasulye tohumlarında yürütülen araştırmalarda fasulyede bulunan en önemli depo proteininin Phaseolin olduğu ve tüm fasulyelerde phaseolinin Tendergreen (T), Sonilac (S) ve Contender (C) tiplerinin bulunduğu belirlenmiştir (Centner ve Roos 1984, Gepts ve Bliss 1986, Lucia ve ark. 1990, Liaca ve Gepts 1997). Protein markörler yoluyla yapılan tanımlamalarda farklı yöntemler kullanılabilir. Bu konudaki araştırmaların hedefi en kısa sürede sonuç veren, en emin ve en kolay yöntemi belirlemektir. Dinelli ve Bonetti (1992), fasulye çeşitlerinin ayırımında kullanılan elektroforetik yöntemleri karşılaştırmak üzere yaptıkları araştırmada, PAGE, SDS-PAGE ve CE yöntemlerini kullanmış, sonuçta 3 fasulye çeşidinde PAGE ve SDS-PAGE yöntemleri ile 4-15 bant elde edilirken, CE ile 23 pik noktası elde edilebilmiş ve ilk iki tekniğin yanında CE'nin de çeşit tanımlamalarında kullanılabilirliği belirtilmiştir. Bonetti ve ark. (1995) da 17 fasulye çeşidini tarla denemeleri ve tohum depo proteinlerinden yararlanarak tanımlamışlar ve sonuçta tarla koşullarında benzer özellikler gösterdikleri için kesin olarak teşhis edilemeyen çeşitler, tohum depo proteinlerinden yararlanılarak ayırt edilebilmiştir.

Ülkemizde de fasulye çeşitlerinin protein markörler yardımıyla tanımlamalarına yönelik araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalarda protein bantlarını belirlemek amacıyla kullanılan yöntemlerin farklı olmasına rağmen protein markörlerin çeşit tanımlamalarında kullanılabilirliği ortaya konulmuştur. (Dölkeleş 1993, Tayyar ve Demir 1997, Balkaya 1999). Ancak bu çalışmaların hiç birinde laboratuvar sonuçları ile tarla denemeleri arasında ilişki kurulmamıştır.

Burada sunulan çalışmada, ülkemizin taze fasulye gen kaynağı yönünden zengin bir bölgesi olan Karadeniz Bölgesi'ndeki mevcut taze fasulye populasyonlarından toplanarak seçilen umutvar hatlar ile halen ülkemizde yetiştirilmekte olan bazı fasulye çeşitlerinin morfolojik özellikleri ve protein markörler yardımıyla çeşit tanımlamaları yapılmıştır. Böylece halen ülkemizde morfolojik özelliklere dayalı olarak yapılan çeşit tescil denemelerinde morfolojik özellikler yanında protein markörlerin de kullanılabilme olanaklarını ortaya koymak hedeflenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Araştırma 1995-1998 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür. Arazi çalışmaları Samsun Gelemin Orman Fidanlığı'nda, laboratuvar çalışmaları biyokimyasal analizlerle ilgili kısmı ise Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışma kapsamında Karadeniz Bölgesi'ndeki fasulye yetiştirilen illerden toplanan toplam 256 populasyondan; "Döl Kontrollü Saf Hat Seleksiyon (Teksel Seleksiyon)" yöntemi ile taze fasulye üretimine uygun olabilecek çeşit adayları belirlenmiştir (Balkaya 1999).

Denemenin burada sunulan kısmında ıslah çalışması sonucunda umutvar bulunan 14 tane sırk, 1 tane bodur olmak üzere toplam 15 çeşit adayı kullanılmıştır.

Geliştirilen çeşit adayları ile benzerliklerinin bulunup bulunmadığını belirlemek amacıyla bölgede yaygın olarak yetiştirilen sırk formu 4F-89 (F) ile Alman Ayşe (A) ve bodur formu Gina (G), Yalova 5 (Y-5) ve Yalova 17 (Y-17) taze fasulye çeşitleri kullanılmıştır.

Çeşit adaylarının ve ticari çeşitlerin çeşit tanımlama çalışmaları tarla ve laboratuvar koşullarında yürütülen denemelerle belirlenmiştir.

Tarla denemeleri: Morfolojik özellikleri belirleme çalışmaları için, denemeye konu olan hat ve çeşitlerin herbirinden 100'er tohum (50 tanesi taze meyve, 50 tanesi tohum özelliklerinin incelenmesi için), sırk tiplerde 80x40 cm, bodur tiplerde 50x30 cm aralıklarla ekilmiştir. Çeşit karakterizasyonu için morfolojik özelliklerin belirlenmesinde Uluslararası Yeni Bitki Çeşitlerini Koruma Birliği (UPOV) tarafından geliştirilen çeşit değerlendirme kriterleri esas alınmış (Anonim 1982), ancak bazı özelliklerin değerlendirilmesinde kendi koşullarımıza göre değişiklikler yapılmıştır. Deneme süresince bitkinin değişik kısımlarında yapılan ölçümlerde bitkiler için 50'şer, yapraklar için 20'şer, çiçekler için 10'ar, baklalar ve tohumlar için 500'er örnekte ölçüm yapılmıştır (Balkaya 1999).

Gözlem ve ölçümlerde incelenen özellikler için uluslararası değerlendirmelerde dikkate alınan puanlama sistemi kullanılmıştır.

Fenolojik gözlemler ve değerlendirme:

Çiçeklenme zamanı (% 50): (Gün)

Sırk: 45-50-erken (1), 51-70-orta (2), >71-geç (3),
Bodur: 36-45-erken (1), 46-51-orta (2), >52-geç (3)

Hasat zamanı (ilk hasat) (Gün):

Sırk: < 70 erken (1), 71-85-orta (2), >86-geç (3)
Bodur: 40-50-erken (1), 51-70-orta (2), >72-geç (3)
olarak sınıflara ayrılmıştır.

Morfolojik özellikler ve değerlendirme:

Bitki:

Boy (cm): Bitki boyu 15-50 cm olanlar bodur (1), 150 cm ve üzeri olanlar sırk (2) olarak değerlendirilmiştir.

Yaprak:

Renk: çok açık yeşil (1), açık yeşil (2), yeşil (3), koyu yeşil (4), çok koyu yeşil (5).

Uç yaprak ucunun şekli: kısa-sivri (1), sivri (2), uzun-sivri (3).

Uç yaprak boyu (mm): 65-85-kısa (1), 86-107-normal (2), >108-uzun (3).

Uç yaprak eni (mm): 54-69-dar (1), 70-85-normal (2), >86- geniş (3).

Yan yaprak boyu (mm): 60-83-kısa (1), 84-106-normal (2), >107-uzun (3).

Yan yaprak eni (mm): 45-62-dar (1), 63-79-normal (2), >80- geniş (3) olarak değerlendirilmiştir.

Çiçek:

Brakte büyüklüğü (mm): >4 küçük (1), <4 büyük (2),
Bayrak rengi: Beyaz (1),açık leylak (2), leylak (3) mor (4),
Kanatçık rengi: Beyaz (1), açık leylak (2), leylak (3),
mor (4),
Kaliks ve brakte rengi: yeşil (1), leylak (2) olarak
değerlendirilmiştir.

Bakla:

Boy (cm): <9-çok kısa (1), 10-12-kısa (2),13-16-orta (3),
17-20-uzun (4), >21 uzun (5),
En (cm): <1.5 dar (1), >1.6 geniş (2),
Enine kesit şekli: Dar eliptik (1), geniş eliptik (2), yuvarlak
(3),
Pürüzlülük: Düz (1), az pürüzlü (2), pürüzlü (3),
Kılıçlılık: Yok(1), az (2), var (3),
Uç şekli: Sivri (1), küt (2),
Renk: sarı (1), açık yeşil (2), yeşil (3), koyu yeşil (4),
mor (5), diğer (6),
Benek rengi: Yok (1), kırmızı (2), mor (3),
Kıvrılma düzeyi: Yok (1), az (2), orta (3), fazla (4),
çok fazla (5),
Tohumun belirginlik durumu: Yok (1), az (2), orta (3),
fazla (4) olarak değerlendirilmiştir.

Tohum:

İriliği (g) : Çok küçük:<20 (1), küçük:20-30 (2),
orta:30-40 (3), büyük: 40-50 (4), çok büyük:>50(5),
Şekil (Boy/En): 1.2-1.5:yuvarlak (1), 1.5-1.7:eliptik (2),
1.7-1.9:oval (3), >1.9:silindirik (4),
Ana renk: Beyaz (1), krem (2), sarı (3), kahverengi (4),
bordo (5), siyah (6),
İkinci renk: Beyaz (1), krem (2), sarı (3), kahverengi(4),
bordo (4), siyah (6) olarak değerlendirilmiştir.

Laboratuvar denemeleri: Araştırmada morfolojik tanımlamalara ek olarak fasulye çeşit adaylarının ve ticari çeşitlerin farklılık/benzerlikleri protein düzeyinde araştırılmıştır.

Bu amaçla SDS-PAGE (SDS-Polyacrylamid jel elektroforesis) tekniği kullanılmış, araştırmada Laemli (1970), Dinelli ve Bonetti (1992) ve Tayyar ve Demir (1997)'nin kullandıkları yöntemlerden yararlanılmıştır. Denemelerde kullanılan protein ekstraksiyonu ve SDS-PAGE tekniğinin kullanım aşamaları aşağıda özetlenmiştir.

Protein ekstraksiyonu: 1 g öğütülmüş tohum örneği alınarak üzerine 8 ml 20 mM sodyum tetra borat (pH 9) eklenerek havanda ezilmiştir. Karışım 30 dk süre ile 10 000 rpm'de santrifüj edildikten sonra üst faz yeni bir tüpe alınarak üzerine 15 µl ekstraksiyon çözeltisi (0.125 M Tris-HCl, % 4 SDS, % 20 Gliserol (pH 6-8), % 10 2-mercapto etanol) eklenmiştir. Elektroforez amacı ile kullanılacak bu çözeltinin üzerine 15 µl örnek tamponu (5 ml 0.5 M Tris-HCl pH 6.8) eklenmiştir. Protein denatürasyonu ise örneklerin 95°C'de 90 sn, daha sonra -20°C'de 1-2 dk bekletilmesi ile sağlanmıştır.

SDS-PAGE tekniği:

Elektroforez koşulları: Denatüre olmuş protein örnekleri 7.5 ml bromofenol mavisi karıştırılarak, Excel Gel 48 S tipi hazır % 5'lik poliakrilamid jele yüklenmiştir. Yürütme işlemi ise tris-glycine elektrot bufferda (0.025 M tris, 0.192M Glycine, %0.1 SDS, pH 8.3) Pharmacy marka yatay elektroforez tankında yapılmıştır.

Jelin boyanması ve yıkanması: Elektroforez işleminden sonra Comassie mavisi çözeltisinde (%0.025 Coomassie blue R-250, %40 Metanol, %7 Asetik Asit) 12 saat süre ile boyanan jel daha sonra bidistile su ile yıkanarak fazla boya ortamdan uzaklaştırılmış ve bantlar yürütülmüştür.

Sonuçların değerlendirilmesi: Çeşitler arası protein bantlarının polimorfikleri, genotiplere ait band sayıları ile bu bantlara ait Nisbi Frekans (Rf değerleri) göz önüne alınarak hesaplanmıştır. Rf değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Laemli 1970).

$$Rf = \frac{\text{Bandın başlangıç mesafesine olan uzaklığı}}{\text{Jel uzunluğu}^*}$$

*Çeşitlerin orijinden uzaklığının belirlenebilmesi amacı ile markör olarak bromofenol mavisi dikkate alınmıştır. Ölçümler mm düzeyinde yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Karadeniz Bölgesi taze fasulye populasyonlarından teksel seleksiyon ıslahı ile seçilen ve denemeye konu olan 15 çeşit adayı ile 5 ticari çeşide ait tarla koşullarında belirlenen fenolojik ve morfolojik özelliklere ilişkin puanlama sistemine göre yapılan değerlendirmeler Çizelge 1'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 1'e göre denemede yer alan çeşitlerin ve çeşit adaylarının, incelenen morfolojik özellikler yönünden farklılıklar gösterdikleri izlenebilmektedir. Seçilen adayların 1 ve 2 no'lu hat hariç diğerlerinde baklaların kısa (10-12 cm) ve dar oldukları anlaşılmaktadır. Yine baklaların çoğunluğunda tohumların belirgin olduğu, yani boncuk ayşe sınıfına girdikleri de izlenebilmektedir. Benzer değerlendirmeler fasulye hatlarının ve ticari çeşitlerin seleksiyonda kullanılan morfolojik özelliklerine ve girdikleri sınıflara göre gruplandırılmalarının yapıldığı Çizelge 2 incelenerek de yapılabilmektedir. İki çizelge birarada incelendiğinde çeşit adaylarının ve ticari çeşitlerin hem hangi özellik yönünden hangi sınıflar içinde yer aldığı hem de birbirlerinden farklı olan özellikleri daha iyi izlenebilmekte ve buna göre seçilen adayların, en az bir özellikleri yönünden birbirlerinden ayrılabildikleri görülmektedir. Seçilen adayların tümünün kılıksız ve brakte yaprakları yeşil renkli olduğu için bu özellikler Çizelge 2'de ayrıca verilmemiştir.

Çizelge 1. Fasulye çeşit adayları ile bazı ticari taze fasulye çeşitlerinin fenolojik ve morfolojik özellikleri

Çeşitler/özellikler	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	G	Y-5	Y17	F	A	
BİTKİ																					
Boy	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2
YAPRAK																					
Renk	2	3	3	2	2	5	3	2	3	3	4	3	3	2	3	4	4	4	4	3	
Uç yaprak ucunun şekli	2	3	2	2	2	3	3	2	1	1	2	3	3	2	2	2	2	3	3	3	
Uç yaprak boyu	1	3	3	2	2	3	2	3	2	1	2	1	3	2	1	1	2	2	3	2	
Uç yaprak eni	2	3	2	2	2	2	2	1	2	1	2	1	3	2	2	1	2	1	3	2	
Yan yaprak boyu	2	3	3	2	2	2	2	3	2	1	2	1	3	2	1	1	2	1	3	2	
Yan yaprak eni	2	3	2	2	2	2	2	2	2	1	2	1	3	1	2	1	3	1	3	2	
ÇİÇEK																					
Brakte büyüklüğü	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	*	*	*	*	2	2
Bayrak rengi:	1	1	2	1	1	1	3	3	1	1	1	3	3	3	3	3	1	1	1	3	1
Kanatçık rengi:	2	2	3	1	2	2	3	3	1	1	2	3	3	3	3	3	1	1	1	3	1
Kaliks+brakte rengi	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
BAKLA																					
Boy	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	3	3
En	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Enine kesit şekli	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	1	1	2	2	2	2	2	3	
Pürüzlülük	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1
Kılçıklılık	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1
Uç şekli	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
Renk	4	3	4	4	4	4	4	2	4	4	4	4	4	4	4	4	2	4	4	3	4
Benek rengi	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
Kıvrılma düzeyi	2	2	2	1	1	2	1	1	1	2	2	2	2	1	2	3	1	2	1	4	2
Tohumun belirginliği	3	3	3	4	4	4	3	2	4	4	4	2	2	2	2	2	1	3	1	2	3
TOHUM																					
İrilik (g)	3	5	5	5	5	3	5	4	5	5	3	4	4	4	4	2	4	4	4	5	4
Şekil (Boy/En)	3	3	1	1	1	2	2	1	1	1	2	1	1	2	3	3	2	2	3	4	
Ana renk	5	2	1	4	4	3	2	2	4	4	3	5	5	6	4	1	1	1	5	1	
İkinci renk	2	-	-	1	1	1	-	-	-	-	1	-	-	-	3	-	-	-	-	-	
FENOLOJİK GÖZLEM																					
Çiçeklenme zamanı	1	2	2	3	3	1	3	1	3	2	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	1
Hasat zamanı	2	3	3	2	3	1	3	1	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1

*: Bu özellik sadece sırik çeşitlerde belirlenmiştir.

Çizelge 2. Çeşit adayları ve çeşitlerin girdikleri sınıflara göre gruplandırılması

Ozellik	Sınıflar	Gruplar
Erkencilik	Erkenci	6, 8, 11, A
	Vakitli	1, 10, 12, 13, 14, 15, G, Y-5, Y-17, F
	Geççi	2, 3, 4, 5, 7, 9
Yaprak rengi	Açık yeşil	1, 4, 5, 8, 14
	Yeşil	2, 3, 7, 9, 10, 12, 13, 15, A
	K. yeşil	11, G, Y-5, Y-17, F
	Ç.K yeşil	6
Uç yaprak şekli	Kısa-sivri	9, 10
	Sivri	1, 3, 4, 5, 8, 11, 14, 15
	U.-sivri	2, 6, 7, 12, 13, Y-5, Y-17, F, A
Uç yaprak boyu	Kısa	1, 5, 10, 12, G
	Normal	4, 5, 7, 9, 11, Y-5, Y-17, A
	Uzun	2, 3, 8, 13, F
Uç yaprak eni	Dar	8, 10, 12, G, Y-17
	Normal	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 14, 15, Y-5, A
	Geniş	2, 6, 13, F
Yan yaprak boyu	Kısa	12, 15, G, Y-17
	Normal	1, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 14, Y-5, A
	Uzun	2, 3, 8, 13, F
Yan yaprak eni	Dar	10, 12, 14, G, Y-17
	Normal	1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 15, A
	Geniş	2, 13, Y-5, F
Bayrak rengi	Beyaz	1, 2, 4, 5, 6, 9, 10, 11, G, Y-5, Y-17, A
	A. leylak	3
	Leylak	7, 8, 12, 13, 14, 15, F
Kanat. rengi	Beyaz	4, 9, 10, G, Y-5, Y-17, A
	A.leylak	1, 2, 5, 6, 11,
	Leylak	3, 7, 6, 12, 13, 13, 13, F
Bakla boyu	Kısa	11
	Normal	3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, G, Y-5, Y-17
	Uzun	1, 2, F
Pürüzlülük	Yok	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, G, Y-17, F, A
	Az	1, 2, 3, Y-5
Eniye kesit şekli	D. eliptik	3, 6, 11, 13, 14
	G. eliptik	1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 15, G, Y-5, Y-17, F,
	Yuvarlak	A
Bakla rengi	Açık yeşil	8, G
	Yeşil	2, F
	K. yeşil	1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, Y-5, Y-17, A
Kıvrılma düzeyi	Yok	4, 5, 7, 8, 9, 13, G, Y-17
	Az	1, 2, 3, 6, 10, 11, 12, 14, Y-5, A
	Orta	16
	Fazla	F
Tohum belirginliği	Belirsiz	G, Y-17
	Az	8, 12, 13, 14, 15, F
	Belirgin	1, 2, 3, 7, Y-5
	Fazla	4, 5, 6, 9, 10, 11
Tohum iriliği	Küçük	1, 5, 15
	Orta	11
	Büyük	6, 8, 12, 13, 14, G, Y-5, Y-17, A
	Ç. büyük	2, 3, 4, 5, 7, 9, 10, F
Tohum şekli	Yuvarlak	3, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 13
	Eliptik	6, 7, 11, 14, Y-5, Y-17
	Oval	1, 2, 15, F, G
	Silindirik	A
Tohum ana rengi	Beyaz	3, G, Y-5, Y-17, A
	Krem	2, 7, 8
	Sarı	6, 11,
	Kahve	4, 5, 9, 10, 15
	Mor	1, 12, 13, F
Tohum ikinci rengi	Siyah	14
	Yok	2, 3, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, G, Y-5, Y-17, F, A
	Beyaz	4, 5, 6, 11
	Krem	1
	Sarı	15

Morfolojik ve fenolojik özellikler yönünden ortaya çıkan farklılıklar, laboratuvar deneyleri ile de kanıtlanmaktadır. Şekil 1'de sunulan protein bant desenleri, bant sayıları ve Rf değerlerine göre hazırlanan zimogramlara göre çeşit ayrımında; bant sayısındaki farklılıklar çeşitlerin birbirinden doğrudan ayırt edilmesini sağlarken, bant sayısının aynı olduğu bireylerde ise bantın jel üzerindeki pozisyonunu belirleyen Rf değerleri dikkate alınmaktadır. Buna göre ulaşılan sonuçlar değerlendirildiğinde bant sayıları ve Rf değerlerinin ticari çeşitlerde 7-13 ve 0.15-0.78; çeşit adaylarında ise 6-15 ve 0.14-0.77 arasında değiştiği belirlenmiştir (Şekil 1)

Şekil 1'den de görülebileceği gibi, ticari çeşitlerden F, 7 bant verirken, G 8 bant, Y-5 10 bant, A 11 bant ve Y-17'de ise 13 bant elde edilmiştir. Buna göre söz konusu çeşitler birbirlerinden farklılık göstermektedir. Üzerinde çalışılan çeşitlerden F ve Y-17 için bulunan bant sayıları daha önce yapılan çalışma sonuçları ile uyum içindedir (Tayyar ve Demir 1997).

Çeşit adaylarından 6 ve 12 nolu hatlar 6 bant verirken, 11, 13, 14 ve 15 nolu hatlar 9, 8 ve 10 nolu hatlar 10, 2 ve 3 nolu hatlar 11 bant, 1 ve 7 nolu hatlar 12 ve 4 ve 5 nolu hatlar da 15 bant vermiş ve bant sayıları yönünden 6 farklı grup oluşmuştur. Grup içi farklılıklar ise Rf değerlerine bakılarak görülebilmektedir (Şekil 1).

Birinci grupta yer alan 6 ve 12 nolu hatlarda 6 banttan hiçbir ortaklık göstermezken, 2. grupta yer alan 11, 13, 14 ve 15 nolu hatlar kendilerine özgü Rf değerleri ile farklı genotip özelliği taşımaktadır. Diğer gruplardan ise 8 ve 10 nolu hatlar 4 Rf değerinde (0.17, 0.30, 0.38, 0.47) ve 5. gruptaki 1 ve 7 nolu adaylar ise 3 Rf değerinde (0.46, 0.53, 0.59) ortak bant gösterirken diğer bantlarında polimorfiklik göstermişlerdir. Son grupta yer alan 4 ve 5 nolu hatlar ise sadece 8 bantda (0.15, 0.20, 0.23, 0.33, 0.53, 0.70, 0.72, 0.76) homojenlik göstermişlerdir.

Bu sonuçlar araştırmada kullanılan SDS-PAGE tekniği ile gerek çeşitler ve gerekse hatlar yönünden tam bir polimorfiklik sağlandığını ve her bir genotipin kendine özgü bant deseni sergilediğini göstermektedir. Bununla birlikte ileride yapılacak çalışmalarda çeşit tanımlama yönünden daha kesin sonuçlar veren DNA markörleri (RAPD (AMPLIFIED Polymorphic DNA, AFLP (Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeats) vb) ile de tanımlamaların yapılması yararlı olacaktır.

Araştırma sonucunda morfolojik özellikler ile protein bant desenlerine göre yapılan değerlendirmeler sonucunda Karadeniz Bölgesinden seçilerek geliştirilen taze fasulye hatlarının morfolojik özellikleri yönünden birbirlerinden farklı oldukları ortaya konulmuştur. Ayrıca laboratuvar koşullarında belirlenen protein bantlarının sayısı ve Rf değerleri yönünden de hatlar ve çeşitler arasında fark olduğu belirlenmiştir. Tarla gözlem ve ölçümlerine dayalı karakter belirleme çalışmalarında

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	G	F	Y5	Y-17	A	Rf
					-	-														0.14
-	-		-	-												-	-		-	0.15
							-	-	-	-	-	-	-	-						0.17
		-																		0.18
						-														0.19
-	-		-	-	-													-		0.20
							-	-	-	-					-		-		-	0.21
																-				0.22
			-	-						-	-	-	-	-						0.23
	-							-	-		-							-		0.24
					-	-	-								-		-		-	0.25
		-	-																	0.27
-				-														-	-	0.28
						-	-		-	-					-	-	-			0.29
									-	-								-		0.30
													-	-						0.31
	-												-	-					-	0.32
-		-	-	-				-	-											0.33
				-	-	-				-	-	-	-	-						0.34
			-																-	0.37
-	-	-					-	-	-	-	-	-	-	-					-	0.38
				-						-							-			0.39
	-		-	-	-	-									-		-		-	0.40
				-																0.42
-		-	-																	0.43
								-	-										-	0.44
																				0.45
-						-											-	-	-	0.46
			-				-	-	-	-	-	-	-	-	-				-	0.47
		-			-	-		-	-										-	0.51
-	-		-	-		-					-	-								0.53
		-																	-	0.54
							-		-	-	-									0.57
				-																0.58
-	-		-					-											-	0.59
		-					-													0.60
				-															-	0.62
										-							-			0.63
																-				0.64
	-	-	-					-												0.65
-				-									-						-	0.69
										-									-	0.69
			-	-																0.70
-	-	-	-	-																0.72
																				0.73
																			-	0.75
	-		-	-			-	-		-	-			-					-	0.76
-		-																		0.77
																				0.78
12	11	11	15	15	6	12	10	8	10	9	6	9	9	9	8	7	10	13	11	BS

Şekil 1. Fasulye çeşitlerine ait protein bant desenleri ve Rf değerleri

gerekli özelliklerin değerlendirme sınırlarını belirlemek amacıyla yeterli sayıda ölçüm yapıldığından, elde edilen sonuçlar fasulyede çeşit karakterizasyonu çalışmalarında kullanılabilir.

Çeşit adayları morfolojik özellikler ve protein markörler yönünden farklı olsalar da çeşit olarak kabul edilebilmeleri için tarımsal değerlerinin yani verim ve teknolojik değerlerinin de incelenmesi gerekir. Bundan sonra yürütülecek çalışmalarda bu adayların verim yönünden üstünlükleri de ortaya konularak tescile aday olmaları sağlanacaktır.

Kaynaklar

- Ağaoğlu, Y. S., G. Söylemezoğlu, M. Çalışkan ve A. Ergül, 1999. Türkiye'de yetiştirilen Razaki üzüm çeşidi ekotiplerinin elektroforetik tanımlamaları üzerinde araştırmalar. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri, 389-394.
- Anonim, 1982. French Bean. Guidelines for the conduct tests for distinctness, homogeneity and stability of new varieties of plants. UPOV, Geneva, Switzerland.
- Balkaya, A. 1999. Karadeniz bölgesindeki taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) gen kaynaklarının toplanması, fenolojik ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi ve taze tüketime uygun tiplerin teksel seleksiyon yöntemi ile seçimi üzerinde araştırmalar. Ondokuz Mayıs Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 199s. Samsun.
- Balkaya, A. ve R. Yanmaz, 2001. Bitki genetik kaynaklarının muhafaza imkanları ve tohum gen bankalarının çalışma sistemleri. Ekoloji Çevre Dergisi, 10, 39, 25-30.
- Bonetti, A., A. Miggiano, G. Dinelli and A. Lovato, 1995. Identification of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars grown in Italy by field and electrophoresis tests: A comparative study. Seed Sci and Technology, 23, 69-84.
- Centner, M. S. and E. E. Roos, 1984. Protein and enzyme variability in plant introduction sublines of *Phaseolus vulgaris*. Ann. Rpt. Bean Improvement coop. 27, 60-62.
- Dinelli, G. and A. Bonetti, 1992. Capillary electrophoresis as an identification tool for *Phaseolus vulgaris* L. cultivars. Seed Sci. and Technol., 20, 241-249.
- Dölkeleş, A. 1993. Türkiye'de yetiştirilen fasulye çeşitlerinin elektroforetik yöntemlerle ayırt edilmesi. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enst. Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı. Uzmanlık Tezi. 44s. Ankara.
- Gepts, P. and F. A. Bliss, 1986. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Colombia. Economic Botany, 40 (4) 469-478.
- Laemli, U. K. 1970. Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227 (15) 680-685.
- Liaca, V. and P. Gepts, 1997. Pulsed-field gel electrophoresis analysis of the phaseolin locus region in *Phaseolus vulgaris*. Plan Breeding Abs., 67 (1) 481.
- Lucia, L., L. Castineiras, M. Esquivel and K. Hammer, 1990. Phaseolin variation among common bean landraces from Cuba. Biol.Zent.BI. 109, 231-233.
- Şehirli, S. 2002. Tohumluk ve Teknolojisi. 3.Baskı, 464s., Fakülteler Matbaası Vefa-İstanbul.
- Tayyar, Ş. ve Demir, İ. 1997. Bazı fasulye çeşitlerinde (*Phaseolus vulgaris* L.) tohum proteinlerinin SDS-Page yöntemi ile tanımlanması üzerinde bir araştırma. II. Tarla Bit. Kongresi, 586-589, Samsun.
- Volodin, V. I., Q. F. Gurinovich, A. N. Timofeev and R. S. Muzalevskaya, 1984. Electrophoresis of the seed proteins in identifying economically useful character in legumes. Sel'skokhozyazistvennaya- Biologiya, 7. 28-30.

İletişim Adresi:
 Ruhsar YANMAZ
 Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi
 Bahçe Bitkileri Bölümü-Ankara
 Tel: 03123170550/1298
 Fax: 03123179119
 E-Mail:yanmaz@agri.ankara.edu.tr