

Bağcılıkta Gen Transferi Çalışmaları

Muharrem GÜLERYÜZ Cafer KÖSE

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 25240, Erzurum (cafkosetr@yahoo.com)

Geliş Tarihi : 10.11.2003

ÖZET: Genetik mühendisliği sayesinde, bağcılık ve şarapçılık sektöründe de mevcut kabul görmüş çeşitlerin temel karakterlerini değiştirmeden istenilmeyen bir veya birkaç özelliğinin değiştirilmesi mümkün olmaktadır. İlk olarak *V. rupestris* türünde başlayan gen aktarım çalışmaları, günümüzde *V. vinifera* ve diğer türlerde de başarılı bir şekilde yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda asma anaç ve çeşitlerine biyotik (virüs, bakteri ve fungal patojenler) ve abiyotik (su stresi, dona dayanıklılık) stres şartlarına karşı dayanıklılığı artıran genlerin yanısıra, kalite (şeker birikimi ve taşınımı, oksidatif kararım) ve bazı meyve özelliklerini (renk, çekirdeksizlik) kontrol eden birçok gen aktarılmıştır. Böylece bu çalışmalar sonucunda 42 adet gen aktarılmış (transgenik) asmanın yetiştiriciliğine izin verilmiştir. Moleküler asma ıslahında sağlanan önemli ilerlemelere rağmen, mevcut transformasyon sistemlerinde başarıyı etkileyen bir takım sorunlar mevcuttur. Ancak, moleküler asma ıslahı çalışmaları henüz başlangıç aşamasında değerlendirilmektedir. İlerleyen yıllarda bu sorunların çözülmesi ve yeni genlerin de izole edilmesiyle bu alanda önemli gelişmeler sağlanacağı umulmaktadır. Bu sayede transgenik asmaların dünya bağcılık ve şarapçılık sektöründe önemli yer tutacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Asma, bağcılık, gen aktarımı, moleküler genetik, *Vitis vinifera*

Gene Transformation Studies In Viticulture

ABSTRACT: A few undesired characters existing in grapevine cultivars can be changed without removing their basic characters by use of genetic engineering. The first gene transformation studies were made on *V. rupestris*. Then, the studies have successfully continued on the *V. vinifera* and other *Vitis* species in recently. Several genes controlling the hardiness of biotic (viral, bacterial and fungal pathogens), abiotic (water, cold) stress conditions, quality factors (sugar accumulation, transportation, oxidative browning) and some berry characters (color, seedlessness) have been put into grapevine cultivars and rootstocks at the end of these studies. Thus, 42 transgenic grapevines have been allowed to growing. Although molecular grapevine breeding have been importantly improved, there are still some problems in terms of success on current transformation systems. However, it has been determined that molecular grapevine breeding studies are the first step. It is expected that marked improvements will be achieved in the future for overcoming these problems and isolation of new genes. Thus, transgenic grapevine genotypes will have an important role on global viticulture and wine industry.

Key Words: Grapevine, viticulture, gene transformation, molecular genetic, *Vitis vinifera*

GİRİŞ

Tarımda sürekliliği ve verimliliği uzun süre sağlayan, insan ve çevreye zarar vermeyen uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu sebeple, dünya tarımının karşı karşıya kaldığı problemleri çözümleneceğine inanılan "Genetik Mühendisliği'ne" büyük kaynaklar ayrılmaktadır. Daha sağlıklı ürün üretiminde, tarımı kimyasal girdilere bağımlılıktan kurtarmada ve dünya açlık problemini çözmeye genetik mühendisliğinin büyük faydalar sağlayacağına inanılmaktadır.

Son 20 yıl içerisinde genlerin izole edilmesi ve aktarılmasındaki ilerlemelere bağlı olarak genetik mühendisliğinde hızlı bir gelişme sağlanmıştır. Bunun sonucu olarak pek çok önemli türde (mısır, patates, pirinç, soya fasulyesi, pamuk, elma, armut, üzüm, kivi, papaya, erik, çilek, ceviz vs.) gen aktarımı başarılı ve transgenik ürünler hızlı bir şekilde sektörün hizmetine sunulmaya başlanmıştır (Sağiroğlu, 1999; Kaygısız, 2001).

Diğer pek çok bitki türünde olduğu gibi asmalarda da yeni çeşitler veya mevcut çeşitlerde yapılan genetik değişiklikler, meyve kalitesi, hastalık ve zararlılara dayanıklılık, ürün maliyetinin düşürülmesi ve tarımda sürdürülebilirlik açısından önemli faydalar sağlamaktadır.

Bu çalışmada, asma moleküler genetiğinin esasları, aktarılan genler ve gen transformasyonunda karşılaşılan güçlükler yönünden asmalarda gen transformasyon

çalışmalarının mevcut durumu değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Asmalarda Gen Aktarımı

Dünya bağcılık endüstrisi, önemli ölçüde belirli çeşitlerin veya bu çeşitlerin seçilen klonlarının üretimine dayanmaktadır. Bu durum tamamen uzun yılların birikimi olan, tüketici ve endüstrinin tercihi olarak ortaya çıkmıştır (Robinson et al., 1999). Dolayısıyla bağcılıkta mevcut, kabul görmüş çeşitlerin temel karakterlerini değiştirmeden bazı özelliklerinin iyileştirilmesi büyük öneme sahiptir. Geleneksel ıslah metodlarında çeşidin temel karakterleri değiştirilmeden, birkaç karakterini değiştirmek oldukça zordur. Zira, genotipler yüksek oranda heterozigottur ve kendileme depresyonları gösterirler. Ayrıca istenen özelliğin bir bitkide toplanabilmesi için yapılacak geriye melezlemeler uzun zaman almaktadır. Geleneksel ıslah metodlarında karşılaşılan bu problemler moleküler ıslah metodlarıyla ortadan kaldırılmakta ve bir çeşidin sadece arzu edilen tek bir özelliği bile değiştirilebilmektedir (Martinelli, 1995; Martinelli, 1997).

Moleküler asma ıslahının amacı; belli bir geleneksel çeşidin ürün kalitesini, verimliliğini, zararlı ve hastalıklara dayanıklılığını ve tarımda sürdürülebilirliğini artırmak için yeni gen teknolojilerini geliştirmek ve uygulamaktır (Thomas et al., 2000).

Asmalarda yapılan genetik değişikliklerle bir çeşidi yeni özelliklerin ilavesiyle iyileştirilerek, sadece sanayi için değil, tüketiciler için de beğenilen yeni ürünler elde edilebilir.

Moleküler asma ıslahı çok geniş kapsamlı bir çalışma alanı oluşturmakla beraber, asma anaç ve çeşitleri için gen aktarım sistemlerinin geliştirilmesinde son yıllarda önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (Ağaoğlu ve ark., 1998). Şekil 1'de transgenik asma geliştirilme ve değerlendirilme çalışmaları şematize edilmiştir.

İlk gen aktarılmış asmalar *V. rupestris* türünden elde edilmiştir (Mullins et al., 1990). Bu çalışmaları *V. vinifera* ve bu tür dışındaki diğer türlerdeki başarılı transformasyon çalışmaları izlemiştir (Nakono et al., 1994; Scorza et al., 1995; Krastanova et al., 1995; Kikkert et al., 1996a). Bu araştırmalar sonucunda; Koshusanjaku, Cabernet Sauvignon, Riesling, Sauvignon Blanc, Chenin Blanc, Muscat Gordo Blanco, Chardonnay, Dornfolder, Emperor, Almeria, Sultana, Supeiror Seedless, Chancellor, Merlot, Seyval Blanc, Ugni Blanc, Red Globe, Prime ve Shiraz üzüm çeşitleri ile *V. rupestris*, 110 Richter, 41 B, SO⁴, Georgikon 28, 3309 C, *V. riparia*, MGT 101-14 ve 5 C Teleki anaçlarında transgenik bitkiler elde edilmiştir (Thomas et al., 2000; Iocco, et al., 2001).

Bu çeşit ve anaçlara biotik (virüs, bakteri ve fungal patojenler) ve abiyotik (su stresi, don zararı) stres şartlarına karşı dayanıklılığı artıran genler, kalite (şeker birikimi ve taşınımı, oksidatif kararma) ile ilgili genler ve bazı meyve özelliklerini (renk, çekirdeksizlik) kontrol eden pek çok gen aktarılmıştır (Tablo 1).

Asma genotiplerinin geliştirilmesinde gerekli moleküler tekniklerde son zamanlarda önemli ilerlemeler sağlanmıştır. Bununla beraber, genetik mühendisliğinin sınırları dikkate alındığında; bu çalışmalar halen başlangıç aşaması olarak değerlendirilmektedir. Transforme edilen çeşit ve anaçların sayısı şimdilik sınırlıdır.

Asmalarda gen transferi çalışmaları daha çok bakteriyel ve mantari hastalıklara dayanıklılık üzerinde yoğunlaşmıştır. Bakteriyel hastalıklara dayanıklılık yönünden pek çok ülkede yapılan çalışmalarda önemli sonuçlar alınmıştır. Bakteriyel hastalıklar için; lytic peptide üretimini artırarak dayanıklılığı artıran Shiva-1 ve sarcotoxin gibi lytic peptide genleri üzerinde yoğun çalışmalar yapılmış ve bu genler başarılı bir şekilde birçok üzüm çeşidine aktarılmıştır.

Scorza et al., (1996) Shiva-1 lytic peptide genini bakteriyel hastalıklara karşı dayanıklılığı artırmak için Thompson Seedless üzüm çeşidine aktarmışlardır.

Xylella fastidiosa'nın sebep olduğu Pierce's hastalığı (asma vebası), ABD'de çok yaygın olarak görülen önemli bir bakteriyel asma hastalığıdır. Bu hastalığa dayanıklılığı artırmak için Florida Üniversitesi'nde ipek böceğinde bulunan cecropin geninin sentetik bir versiyonu Thompson Seedless üzüm

çeşidine aktarılmıştır (Scorza et al., 1996). Gianessi et al., (2002) de aynı geni Merlot ve Chardonnay üzüm çeşitlerine aktarmışlardır. Colova-Tsolova ve Lu (2001) bakteriyel hastalıklara dayanıklılıkta bir lytic peptide geni olan sarcotoxin geninin de asmalara aktarılma çalışmalarının sürdüğünü belirtmektedirler.

Mantari hastalıklara dayanıklılık konusunda da önemli çalışmalar yapılmaktadır. Fungal hastalıklara dayanıklılık çalışmalarında chitinase, glucanase (chitinase ve glucanase hücre duvarını bozan enzimlerdir) ve ribozom inhibitörlerini (RIBs) (RIBs hücrede protein oluşumu için gerekli olan mantar ribozomlarını bloke eder ve böylece mantar gelişimini baskı altında tutar) kodladığı bilinen genler asmalara aktarılmıştır. Bunun yanında, asmalarda doğal olarak üretilen bir antifungal olan Resveratrol'un biyosentezinde rol oynayan stilbene synthase enziminin geni (Vst1) birçok çeşide aktarılmıştır (Kikkert et al., 1996b).

Mantari hastalıklara dayanıklılık konusunda yapılan çalışmalar özellikle mildiyö, külleme ve kurşuni küf üzerinde yoğunlaşmıştır. İlk mildiyöye dayanıklılık çalışmaları Almanya'da 1980'li yıllarda başlamıştır. Bu çalışmalar sonucunda elde edilen transgenik asmalar 1999 yılında tarla denemelerine alınmıştır. Bu transgenik bitkilere chitinase, glucanase ve ribozom inhibitörlerini (RIBs) kodladığı bilinen genler aktarılmıştır (Anon., 2002).

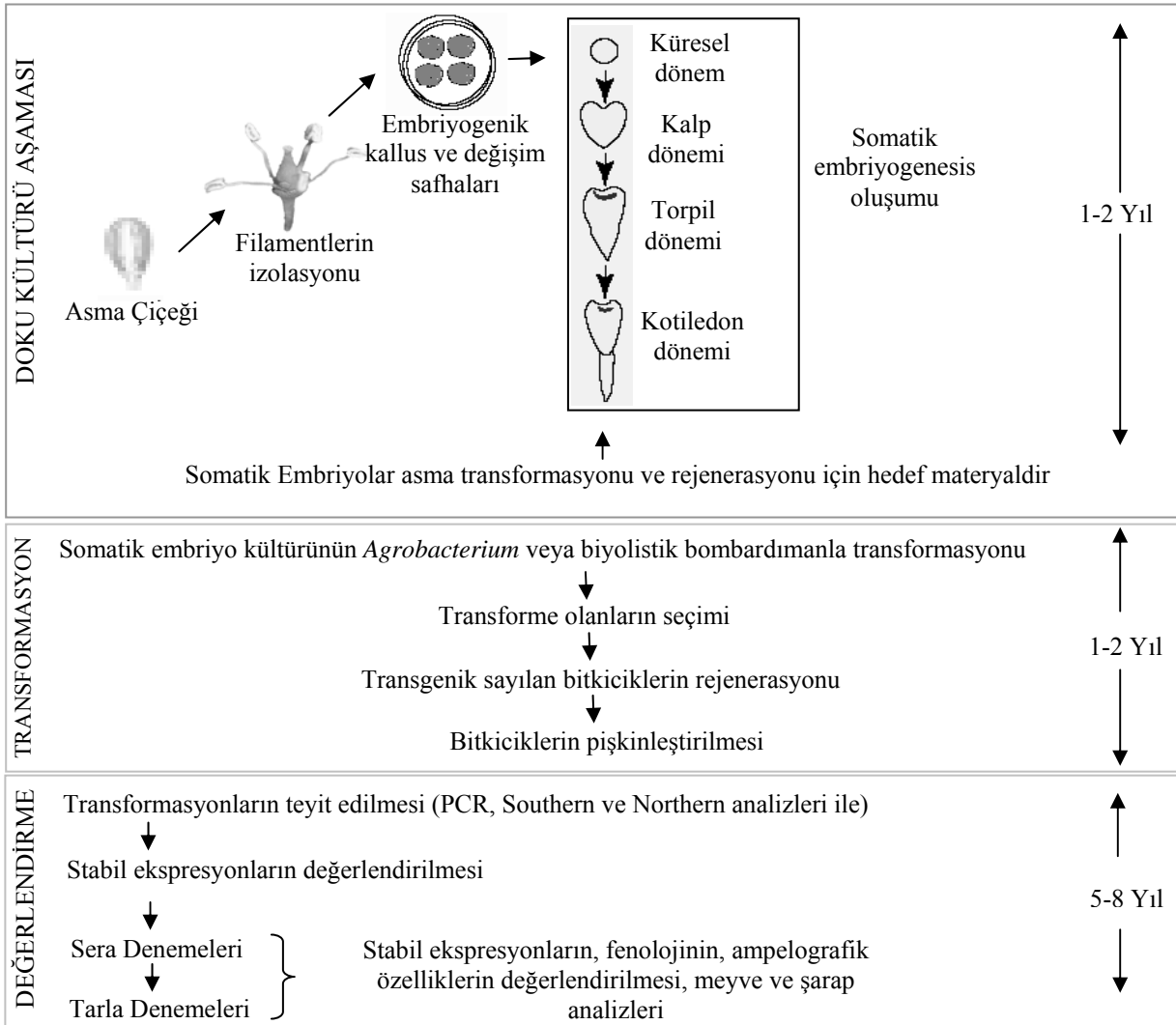
Kikkert et al., (1996b) da mantari hastalıklarla biyolojik mücadelede kullanılan *Trichoderma* mantarından bir endochitinase genini asmalara aktarmışlardır. Elde edilen transgenik bitkilerin değerlendirme çalışmaları devam etmektedir.

Almanya'da yapılan bir çalışmada da bir stilbene synthase geni olan Vst1 geni Seyval Blanc çeşidine başarılı bir şekilde aktarılmıştır (Buck, 1999).

Yamamoto et al., (2000) yaptıkları bir çalışmada *V. vinifera* türüne ait Neo Muscat üzüm çeşidine pirinç chitinase (RCC2) genini aktararak külleme (*Uncinula necator*) dayanıklı 2 transgenik bitki elde etmişlerdir. Bu transgenik bitkiler aynı zamanda antraknoza sebep olan *Elisinoe ampelina*'ya da direnç göstermişlerdir.

Moleküler asma ıslahında üzerinde durulan önemli bir konu da virüslere karşı dayanıklılığın artırılmasıdır. Bu amaçla pek çok ülkede farklı üzüm çeşit ve anaçların değişik virüslere karşı dayanıklılığının artırılmasına çalışılmıştır. Virüslere dayanıklılığın sağlanması açısından; Asma Kısa Boğum virüsü (Grapevine fanleaf nepovirus: GFLV), Domates Halkalı Leke virüsü (Tomatoes ring spot virüs. TomRSV), Asma Krom Mozaik virüsü (Grapevine crome mosaic virus: GCMV) ve Arabis Krom Mozaik virüsü (Arabic crome mosaic virus: ArCMV)'ünün kılıf protein genleri asmalara aktarılmıştır.

Gall et al., (1994) tarafından yapılan bir çalışmada 110R anacına GCMV'ün kılıf protein geni aktarılmıştır.



Şekil 1. Transgenik asmaların geliştirilmesi ve değerlendirilmesi işlemleri (Vivier and Pretorius, 2002).

Fransa'da yapılan bir çalışmada ise GFLV'ün kılıf protein geni *V. rupestris* ve 110R anaçlarına aktarılmıştır (Krastanova et al., 1995).

Yine GFLV'ün kılıf protein genleri 41B, SO⁴ anaçları ile *V. vinifera*'nın bir çeşidi olan Chardonnay üzüm çeşidine (Mauro et al., 1995), Gloire de Montpellier, 3309 Couderc ve Millardet de Grasset 101-14 anaçlarına (Spielmann et al., 2000) aktarılmıştır.

Diğer önemli bir virüs olan Arabis mosaik nepovirüs'ün (ArMV) kılıf protein genleri de *V. rupestris*'e başarılı bir şekilde aktarılmıştır (Spielmann et al., 2000).

Asmalarda gen transferi çalışmalarında bazı meyve ve kalite özellikleri üzerinde de önemle durulmaktadır. Üzerinde durulan en önemli meyve özelliği partenokarp ve çekirdeksiz üzüm eldesidir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda partenokarp tane oluşumunu kontrol eden

DefH9-iaaM geni Silcora ve Thompson Seedless üzüm çeşitlerine aktarılmıştır (Mezzetti et al., 2002).

Çekirdeksiz üzüm eldesinde SF4 Barnase geni üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Bu genin değerlendirme aktarılma çalışmaları devam etmektedir (Colova-Tsolova and Lu, 2001).

Çekirdeksizlik yanında asmalarda çiçeklenme ve tane gelişimini kontrol eden MADS-box genleri de izole edilmiştir. Bu genler üzerindeki çalışmalar da devam etmektedir (Boss et al., 2002).

Asmalarda tane kalitesi ile ilgili olarak özellikle tane ve şarabın rengi ile kimyasal içeriğinin düzenlenmesine yönelik transformasyon çalışmaları yoğunluk kazanmıştır. Bunun yanında, kuru üzüm ve beyaz şaraplarda enzimatik esmerleşmenin azaltılmasına yönelik önemli çalışmalar da yapılmaktadır.

Tablo 1. Asma çeşit ve anaçlarında, genetik ilerleme hedefleri (Vivier and Pretorius, 2002'den modifiye edilmiştir).

Islah Amaçları	Üzerinde Durulan Konular	Potansiyel ve mevcut olan hedef gen örnekleri
Hastalığa Dayanımın Geliştirilmesi		
Mantarlara Dayanım	-Üzümlerin mantari patojenlere gösterdikleri savunma mekanizmaları; -Çeşitli mantarların patolojileri; -Mantari patojenlere karşı çeşitli türlerin moleküler kaynaklı doğal dayanıklılığı	Mantar, maya ve bitkilerden alınan glucanase ve chitinase'yi kodlayan genler; ribosomu inaktive eden proteinler (RIPs); thaumatin benzeri proteinler (Vvt1); bitki ve böceklerden alınan antifungal peptitleri kodlayan genler; bitkilerden alınan polygalacturonase'nin inhibitör proteinlerini kodlayan genler; stilbene phytoalexin'ler (stilbene synthases: stsy, vst1, vst2); phenylalanineammonia lyase:pal; detoxification enzim üreten genler
Bakterilere Dayanım	-Üzümlerin bakteriyel patojenlere gösterdikleri savunma mekanizmaları; -Çeşitli bakterilerin patolojileri; -Bakteriyel patojenlere karşı çeşitli türlerin moleküler kaynaklı doğal dayanıklılığı	Antimikrobiyal peptitler (lytic peptide, Shiva-I, defensin); <i>Agrobacterium</i> 'dan alınan virE2delB geni
Virüslere Dayanım	-Virüs enfeksiyonlarının ve vektörlerinin epidemiyolojisi; -Virüsün moleküler biyolojisi; -Kılıf proteinler	Virüs kılıf proteinleri; virüs hareket proteinleri; 2,5 oligoadenylate synthase
Stres Şartlarına Dayanımın Geliştirilmesi		
Su Stresine Dayanım	-Su gözenekleri; -Köke özel promotörlerin izolasyonu	Tonoplast integral proteinleri (TIPs); Plazma membran integral proteinleri (PIPs)
Oksidatif Zararlanma	-Karotenoid biyosentezi ve kontrolü; -Anaerobiosis	Karotenoid biyosentetik genleri; alcohol dehydrogenase (Adh) genleri;
Osmotik ve Diğer Abiyotik Streslere Dayanım,	-Prolin birikimi; -Poliaminler ve poliaminlerin stres olayındaki rolleri	Δ -proline-5-carboxylate (Vvp5cs); γ -ornithine aminotransferase (vvoat);
Dona Dayanım ^a		Dil balıklarından alınan antifiriz genler; Dehydrins, Antioxidant genleri Osmotin geni
Tuza Dayanıklılık ^b		
Kalite Özelliklerinin Geliştirilmesi		
Renk	-Olgunlukla ilgili mekanizma, antosiyanin biyosentezi ve kontrolü; -Teneşe özel promotörlerin izolasyonu	Flavanoid 3-O-glucosyltransferase; yeni tane renkleri için pelargonidin tabanlı antosiyaninlerin üretimi; antosiyanin metil transferase
Şeker Birikimi ve Taşınması	-Floemde taşınma ve taşınmama; -İnvertaz enzimi; -Şeker Taşıyıcıları; -Teneşe özel promotörlerin izolasyonu	Floemde taşınma ve taşınmama çalışmaları için maya ve bitkilerden alınan invertaz enzimleri; sakaroz taşıyıcıları (Vvsuc11, vvsuc12, Vvsuc27), hexos taşıyıcıları (vvht1, vvht2), Suc II ^c
Sofralık ve Kuru Üzümlerde Kararmanın Azaltılması	-Oksidasyon reaksiyonları	Polifenol oksidaz enziminin baskılanması
Çekirdeksizlik	-Tohum oluşumu; -Tohuma özel promotörlerin izolasyonu	Baranase geni

^a Anon., (2003), ^b Loulakis, (1997) ^c Perl et al., (1994)

Siyah ve kırmızı üzümler ile şaraplarda kaliteyi etkileyen antosiyanin birikimini düzenleyerek, üzüm ile şarabın renk ve tadında değişiklikler yapmak amacıyla flavonoid biyosentezinde rol oynayan enzimlerin genleri üzerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Bu amaçla üzümde antosiyanin oluşumu üzerinde önemli rol oynadığı bilinen flavonoid-3-glucosyltransferase (UFGT), phenylalanin ammonia lyase (PAL), chalcone synthase (CHS), chalcone isomerase (CIM), Flavanone-3-hydroxylase (F3H), dihydroflavonol 4-reductase (DFR), leucoantocyanidin dioxigen-ase (LDOX) genleri

izole edilmiştir (Kobayashi et al., 2001). Bu genlerden biri olan flavonoid-3-glucosyltransferase (UFGT) geninin aktarıma çalışmaları devam etmektedir (Kobayashi et al., 2001).

Asmalarda meyve ve şıra bileşimini etkileyen genler de başarılı şekilde transfer edilmiştir. Asmalarda şeker bir disakkarit olan sakaroz şeklinde taşınır ve birer monosakkarit olan glukoz ve fruktoz şeklinde depo edilir. Sakaroz bu şekerlere invertaz enzimi yardımıyla dönüştürülür. Bu enzimin bir geni (Suc II) asmalarda başarılı bir şekilde aktarılmıştır (Perl et al., 1994).

Yine asit içeriğinin düzenlenmesi amacıyla, üzümlerde malik asidi parçalayan malik enzim'in de 2 geni izole edildi. Bu genlerde yapılacak manipülasyonlarla şıranın asit içeriği artırılıp azaltılabilecektir. Bu sayede gerek sofralık üzümlerde yeme kalitesi, gerekse şaraplık üzümlerde şarap kalitesi düzenlenebilecektir (Meredith and Reisch, 1996).

Kuru üzümlerde ve beyaz şaraplarda enzimatik esmerleşmeye neden olan polifenol oksidase (PPO) enziminin bir geni asmalarda izole edilmiştir (Meredith and Reisch, 1996). Bu geni baskı altında tutan bir antisense gen Sultana üzüm çeşidine aktarılmıştır (Thomas et al., 2000). Bu sayede hem kuru üzümlerde hem de beyaz şaraplarda meydana gelen kararmaların önüne geçilebileceği tahmin edilmektedir. Ancak, meyve kalitesi üzerindeki çalışmalarda asmalarda gençlik periyodunun 3 veya daha fazla yıl sürmesi, sınırlayıcı bir faktör olarak çalışmaların süresini uzatmaktadır.

Bunun yanında üzümlerde erkenciliği kontrol eden GIN1 ve GIN2 genleri de izole edilmiş ve bu genler üzerindeki değerlendirmeler devam etmektedir (Davies and Robinson, 1996).

SONUÇ

Son yıllarda asma moleküler biyolojisindeki gelişmelere rağmen, halihazırda üretimine izin verilen transgenik asma sayısı sınırlıdır. 1999 yılına kadar 42 adet transgenik asmanın yetiştiriciliğine izin verilmiştir. Bu transgenik bitkilerin önemli bir kısmı ABD'de, bir kısmı da Fransa, İtalya, Almanya, Kanada ve Avustralya'dadır. Japonya, İspanya ve G. Afrika'da çalışmalar devam etmektedir (Anon., 2002). Bütün bu gelişmelere rağmen moleküler asma ıslahının yapabilecekleri düşünüldüğünde; bu çalışmalar başlangıç aşaması olarak değerlendirilmektedir. Yeni geliştirilmiş bir transgenik asmanın ticari yetiştiricilik için serbest bırakılmasına kadar bu çalışmaların en az 10 yıl süreceği tahmin edilmektedir.

Transformasyon sistemlerinin her genotip için uygun olmaması, çalışmalarda zaman kaybına neden olmaktadır. Bu sebeple, birçok genotipe uygun yeni transformasyon sistemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

Asmalarda gerek abiyotik ve biyotik stres şartlarına karşı gerekse meyve özelliklerine ait birçok gen izole edilmiştir. Gelecekte de bitki sağlığının korunması yanında, meyve kalitesi, üretim maliyetinin düşürülmesi ve sürdürülebilirlik üzerinde etkili diğer genlerin de izolasyonu gerekmektedir.

Transgenik bitkilerin riskleri ve transgenik ürünlerin ülkelere göre satışlarının serbest bırakılması farklılık arz eder. Bu sebeple; transgenik ürünlerin pazarda kabulü biraz zaman alacaktır. Bütün bunlara rağmen, verimlilik, sürdürülebilirlik ve üretim maliyetlerinin düşürülmesi açısından transgenik asmaların, dünya bağcılık ve

şarapçılık sektörünün geleceğinde önemli derecede rol oynayacağı söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y.S., Marasalı, B. ve Ergül, A., 1998. Asma Islahında Son Gelişmeler. 4. Bağcılık Sempozyumu, (9-17), 20-23 Ekim, Yalova.
- Anonymous, 2002. Transgenic Plants in Viticulture and Fruit Growing. Genetic Engineering Newsletter, Special Issue 9/10 October 2002.
- Anonymous, 2003. Freeze Damage and Protection of Horticultural Species. The Western Association of Agricultural Experiment Station Directors, Annual Meeting, SAES-422.
- Boss, P.K., Sensi, E., Hua, C., Davies, C. and Thomas, M.R., 2002. Cloning and Characterization of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) MADS-box Genes Expressed During Inflorescence and Berry Development. Plant Science 162:887-895.
- Buck, S., 1999. Transformationsstudien an *V. vinifera* cv. Seyval Blanc. Hohenheim Univ. 1999:133p.
- Colova-Tsolova, V. and Lu, J., 2001. Genetically Engineered Grape for Seedless and Stress Tolerance. ASEV 52nd annual Meeting, San Diego, California, June 2001; 24-25.
- Davies, C. and Robinson, S.P., 1996. Sugar Accumulation in Grape Berries. Cloning Two Putative Vacuolar Invertase cDNAs and Their Expression in Grapevine Tissues. Plant Physiology, 111(1):275-283.
- Gall, O., Torregrosa, L., Danglot, Y., Candresse, T. and Bouquet, A., 1994. Agrobacterium-mediated Genetic Transformation of Grapevine Somatic Embryos and Regeneration of Transgenic Plants Expressing the Coat Protein of Grapevine Chrome Mosaic nepovirus (GCMV). Plant Sci., 102(2):161-170.
- Gianessi, L.P., Silvers, C.S., Sankula, S. and Carpenter, J.E., 2002. Virus Resistant Papaya. Bacterial Resistant Grape. Herbicide Tolerant Strawberry. www.ncfap.org/40casesudies.htm.
- Iocco, P., Franks, T. and Thomas, M.R., 2001. Genetic Transformation of Major Wine Grape Cultivars of *Vitis vinifera* L. Transgenic Res., 10(2):105-112.
- Kaygısız, H., 2001. Genetik Mühendisliğin Gerçekleri ve Hedefleri, Hasat 190: 12-15.
- Kikkert, J.R., Hebert-Soule, D., Wallace, P.G., Striem, M.J. and Reisch, B.I., 1996a. Transgenic Plantlets of Chancellor Grapevine (*Vitis* sp.) from Biolistic Transformation of Embryogenic Cell Suspensions. Plant Cell Rep., 15:311-316.
- Kikkert, J.R., Ali, G.S., Striem, M.J., Martens, M.H., Wallace, P.G., Molino, L. and Reisch, B.I., 1996b. Genetic Engineering of Grapevine (*Vitis* sp.) for Enhancement of Disease Resistance. 3rd International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding.
- Kobayashi, S., Ishimaru, M., Ding, C.K., Yakushiji, H. and Goto, N., 2001. Comparison of UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase (UFGT) Gene Sequences Between White Grapes (*Vitis vinifera*) and Their Sports with Red Skin. Plant Sci., 160(3):543-550.
- Krastanova, S., Perrin, M., Barbier, P., Demangeat, G., Cornuet, P., Bardonnnet, N., Otten, L., Pinck, L. and Walter, B., 1995. Transformation of Grapevine Rootstocks with The Coat Protein Gene of Grapevine Fanleaf Nepovirus. Plant Cell Rep., 14:550-554.
- Loulakakis, K.A., 1997. Genomic Organization and Expression of Osmotin-like gene in *Vitis vinifera* L. Vitis, 36(3):157-158.
- Martinelli, L., 1995. Riflessioni Sula Prospettiva di Introdurre le Tecniche Molecolari nel Miglioramento Genetico della Vite. Frutticoltura, 5:71-74.
- Martinelli, L., 1997. Il Miglioramento Genetico della Vite: Moderne Tecnologie per una Pianta Antica. Bio. Tec., 5:24-28.
- Mauro, M.C., Toutain, S., Walter, B., Pinck, L., Otten, L., Coutostevenot, P., Deloioire, A. and Barbier, P., 1995. High Efficiency Regeneration of Grapevine Plants Transformed with GFLV Coat Protein Gene. Plant Sci., 112:97-106.

- Meredith, C.P. and Reisch, B.I., 1996. The New Tools of Grapevine Genetics. Fourth International Symposium on Cool Climate Viticulture and Enology, 16-20 July, New York, USA.
- Mezzetti, B., Pandolfini, T., Navacchi, O. and Landi, L., 2002. Genetic Transformation of *V. vinifera* via Organogenesis. BMC Biotechnology, 2:18-28.
- Mullins, M.G., Tang, F.C.A. and Facciotti, D., 1990. Agrobacterium-mediated Genetic Transformation of Grapevines: Transgenic Plants of *Vitis rupestris* Scheele and Buds of *Vitis vinifera* L. Bio/Technology 8:1041-1045.
- Nakano, M., Hoshino, Y. and Mii, M., 1994. Regeneration of Transgenic Plants of Grapevine (*Vitis Vinifera* L.) via *Agrobacterium rhizogenes*-mediated Transformation of Embryogenic Calli. J. Exp. Bot. 45:649-656.
- Perl, A., Lotan, L., Willmitzer, L. and Holland, D., 1994. Establishment of Transformation System for *Vitis vinifera*: Transgenic Grape Plants Overexpressing a Yeast Derived Invertase in the Ripening Berries. 75th General Assembly of the International Vine Office (O.I.V), Aspects Botanique de l'application des Nouvelles Techniques et de Biotechnologies (transfer de genes) la vigne., 1-9.
- Robinson, S.P., Thomas, M., Scott, N.S., Dry, I., Davies, C., Frank, T., Boss, P., Hoj, P.B. and Heeswijck, R. van, 1999. Application of Gene Technology in Viticulture. The Australian Wine Research Inst, 1999: 134-138.
- Sağiroğlu, A.K., 1999. Genetik Mühendisliği, Bilim ve Teknik, 378:34-41.
- Scorza, R., Cordts, J.M., Ramming, D.W. and Emershad, R.L., 1995. Transformation of Grape (*Vitis vinifera* L.) Zygotic-derived Somatic Embryos and Regeneration of Transgenic Plants. Plant Cell Rep. 14:589-592.
- Scorza, R., Cordts, J.M., Gray, D.J., Gonsalves, D., Emershad, R.L. and Ramming, D.W., 1996. Producing Transgenic Thompson Seedless Grape (*V. vinifera* L.) Plants. Jor. Amer. Soc. Hort. Sci., 121(4):616-619.
- Spielmann, A., Krastanova, S., Dovet-orhant, V. and Gugerli, P., 2000. Analysis of Transgenic Grapevine (*V. rupestris*) and *Nicotiana benthamiana* Plants Expressing an Arabic Mosaic virus Coat Protein Gene. Plant Science, 156:235-244.
- Thomas, M.R., Iocco, P. and Frank, T., 2000. Transgenic Grapevines: Status and Future. Acta Hort., 528: 279-287).
- Vivier, M.A. and Pretorius, I., 2002. Genetically Tailored Grapevines for the Wine Industry. TRENDS in Biotechnology, 20(11):472-478.
- Yamamoto, T., Iketani, H., Ieki, H., Nishizawa, Y., Notsukaa, K., Hibi, T., Hayashi, T. and Matsuta, N., 2000. Transgenic Grapevine Plants Expressing a Rice Chitinase with Enhanced Resistance to Fungal Pathogens. Plant Cell reports 19:639-646.