

## BİTKİ ISLAHINDA HAPLOİDİ VE PATATES BİTKİSİNDE UYGULANMASI

Erol ORAL/1

### Ö Z E T

*Haploidi tekniği mevcut ıslah yöntemlerinin daha etkin bir şekilde kullanılmasına olanak sağlamada önemli yeri olan bir uygulamadır. Bir çok bitkideki yeri saptanabilmiş, bazılarında ise çalışmalar devam etmektedir. Bu konuda yeterli bilgiler ortaya konuldukça, haploidi hakkında çok daha fazla şey söylemek mümkün olacaktır.*

*S. tuberosum ile S. phureja arasında yapılan melezlemede % 3.4 - % 28.6 arasında haploid bitkiler meydana gelmekte ve bu şekilde patatesten suni haploidi yoluyla melezleme çalışmaları kolaylaştırılabilmektedir.*

### G İ R İ Ő

Gerçekte haploid bitkilerin, pratikte ıslahçılar için cesaret verici olmayan bir görünümüleri vardır. Bu bitkiler genellikle küçük, düşük verimli ve gösterişli değillerdir. Çok çeşitli istenilmeyen karakterlere sahip olup tamamen sterildirler. Bütün bunlara ila- zeten birçok bitkide hem haploidinin

elde edilmesi ve hem de ploidi seviyesinin ikilenmesi hem zaman alıcı ve hem de masraflı olmaktadır. Bütün bunlara rağmen, haploidi tekniğinin bitki ıslahçıları tarafından ıslah programlarına alınması giderek önem kazanmaktadır.

### HAPLOİDİNİN BİTKİ ISLAHINDA DİREKT OLARAK KULLANILMASI

İnce, zarif ve gösterişli bitkilerin gaye olduğu süs bitkileri hariç, genel olarak haploidi elde edilmesi bitki

ıslah çalışmalarının son ürünü değildir. Haploidi, kendilenmiş hatlar ve melez varyetelerde olduğu gibi orta

(1) Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Doçenti.

bir kademeyi oluşturmaktadır. Yani haploid bitki elde edildikten sonra, bunun kullanılmasını gerektiren daha ileri ıslah kademelerine gerek vardır.

Haploidinin bitki ıslahında başarılı bir şekilde kullanılması için bazı ön koşullara ihtiyaç vardır. İlk olarak, haploid ıslah programının her türlü genetik varyabilitenin sözkonusu olduğu geniş bir populasyon kaynağına dayalı olması gerektir. Diğer taraftan, nisbetten düşük bir masrafla ve temsil etme niteliği fazla olan haploidlerin elde edilmesine olanak sağlayan yöntemlerin mevcut olması şarttır. Son olarakta, kromozom sayılarının ikilenmesini sağlayabilecek yeterli bir tekniğin imkân dahilinde olması lazımdır.

Konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalar, bu koşulları karşılayabilecek olan bitkilerin var olduğunu göstermiştir. Buna örnek olarak mısır, patates ve tütün bitkileri gösterilebilir. Aynı şekilde arpa, pamuk ve yonca bitkileri pratiğe intikali mümkün olan bitkilerdir.

Haploidi elde etmede en iyi yöntemi saptayıp daha sonra bunların ploidi düzeylerinin iki misliye çıkarılmasında, yani diploid bitkiler elde etmede, bitki ıslahçıları; fizyolojistler, biokimyacılar ve genetikçilerle birlikte çalışmak zorunluğundadırlar.

Haploidinin bitki ıslahında direkt olarak kullanılmasında iki önemli yöntem sözkonusu edilebilir:

1- İki kademeli olarak, diploid ve allopoloid kaynaklı populasyonlardan haploidlerin indirgenmesiyle tamamen homozigot hatların elde edilmesi ve bunların daha sonra tabii veya suni

olarak kromozom sayılarının ikilenmesi. Bu uygulama, Chase (1969) tarafından "monoploid metodu" olarak ortaya konulmuştur.

2- Başlangıç materyali olarak autotetraploid stokların kullanıldığı, bilahare bunlardan dihaploid gametik örneklerin indirgendiği ve en son olarak da kromozom sayısının ikilendiği üç kademeli bir yöntem.

Melez kültür ırkları ıslahının kullanılmasından ayrı olarak, ikilenmiş monohaploidler diğer ıslah uygulamalarındaki seleksiyonun uygun bir şekilde yapılmasını artırıcı olmaktadır. Zira, bunlar ıslah programının herhangi bir safhasındaki hatların doğru ve çabuk bir şekilde değerlendirilmelerine olanak sağlarlar. Chase (1952), ikilenmiş monohaploidlerin tekrarlamalı seleksiyon ile ilgili olarak kullanılmasını önermiştir.

Haploid metodu, modeli bilgisayarlarla saptanan diğer ıslah çalışmaları ile karşılaştırıldığında, bu çalışmalarda görülen eksikliklerden dolayı daha olumlu sonuçlar sağlamıştır. Komputerli modelleri sonuçları, aynı amaçla yapılar tarla denemeleri ile de karşılaştırmak aym yargıyı ortaya koymaktadır. Her sen (1974) komputerli modelleri olarak yapılan denemelerin pedigri metodu ile birlikte uygulanan haploid metoduyla karşılaştırılmasının tatmin edici olmayacağını ileri sürmektedir. Zira, araştırmacıya göre, içerisinde tekrarlamalı rekombinasyon ve seleksiyonun bulunmadığı bir ıslah çalışması iyi bir mukayese unsuru olmamaktadır. En doğru olanı, eşit koşullar altında bir karşılaştırmaya gitmektir. Örneğin; haploid safhasız bir pedigri, pedigri safhası ile takip edilen bir haploid devresi veya

haploid çalışmasının ikili sirkülasyonu gibi.

Bazı bitki gurupları monohaploid metodunun kullanılmasıyla ilgili olarak özel bir öneme sahiptirler. Bunlardan iki evcikli olan bitkilerde, sib'lenme özelliğinden dolayı kendilenmiş hatların elde edilmesinde monohaploid metodu, yavaş hareket eden bir yöntem olmaktadır. Örneğin, bu durumun, monohaploidlerin ikilenmesinin henüz başarılı bir çalışma düzeyine ulaşmaması olduğu kuşkonmaz bitkisinde uygulandığı saptanmıştır (Hermsen, 1974).

Diğer bir gurup bitki de melez tohum elde etmek amacıyla kendine kısırlığın başarılı bir şekilde uygulandığı bazı sebzeler ve bazı yem bitkileridir. Bu kendine kısır bitkilerin kendilenmesi, sadece çiçeklerin tomurcuklanma safhasında mümkün olup, ancak çok zaman alıcıdır. Bu bitkilerde zorla yapılan bu kendileme, melez kültür ırklarının ebeveyn materyalini işe yaramaz ve gereksiz bir duruma getirmek suretiyle, zayıf olan kendine kısır hatlar için bir seleksiyonu zorunlu kılmaktadır. Geniş ölçüde yapılan melezlemelerin projenilerinde meydana gelen anaya ait melez olmayan bitkiler (matromorph) üzerinde Nishi ve arkadaşları (1964) tarafından birçok çalışma yapılmıştır. Bu bitkiler diploid partenogenesis kaynaklı olarak meydana gelmiştir. Gen işaretçileri kullanan Nishi ve arkadaşları (1964) ile Röbbelen (1966)'e göre, anaya ait bu melez olmayan bitkiler homozigot karakterlidirler. Bununla beraber, MacKay (1972) ve Eenink (1974 a,b) tarafından yapılan son araştırmalar, bu bitkilerin bir çok karakter bakımından heterozigot olduğunu göstermiştir. Zira, diploid *So-*

*lanum* gibi meiosis bölünmeden sonra değil, ancak meiosis sırasında kromozom sayılarında bir eski haline gelme durumu sözkonusu olmaktadır. Anter ve pollen kültürü yoluyla monohaploidlerin elde edilmesi ve müteakiben de bunlarda kromozom sayılarının ikilenmesi, kendine kısırlık seviyesini düşürmeksizin en seri bir şekilde tamamen homozigot hatların elde edilebilmesine fırsat vermektedir. Bu konudaki çalışmalar halen devam etmektedir.

Müşterek uzun bir olgunlaşmaya geçit dönemine sahip çok farklı bir gurup daha vardır. Bu gurup içerisine orman ve meyve ağaçları, çalı karakterinde olan bitkiler ile zambak ve lâl gibi bitkiler girmektedirler. Bu bitkilerde homozigot hatların elde edilmesi ancak monohaploid metod uygulanması ile elde edilir. Ancak, kombinasyon kabiliyetinin değerlendirilmesi bu bitkilerde çok uzun yılları gerektirir. Bununla beraber, sonuçları gelecek nesillerde alınmak üzere bu çalışmalara girişilmesi faydadan uzak değildir.

Autotetraploid bitkilerde (örneğin patates, yonca ve bazı otlar) çok karmaşık olan tetrasomik kalıtları nedeniyle, bu metodla haploidiye gidilmesi zordur. Bu bitkilerde haploidizasyon yoluyla ploidi seviyesi diploidi'ye dönüştürülebilmekte ve bu seviyede ıslah çalışmaları için her türlü avantaj sağlanabilmektedir. Bu aşamada sözkonusu olabilecek bir başka sorun da, gerekli olduğunda acaba yeniden tetraploidi'ye dönüşün mümkün olup olup olamayacağıdır? Diğer bir sorun da, diploid ya da triploid kültür ırklarının geleceğinin ne olabileceğidir? En azından patatesten bu sorunun cevabı halen

yapılmakta olan çalışmalarla çözümlenebilecektir.

Nitekim Hermsen (1974)'in Peloquin ve arkadaşlarının çalışmalarına atfen bildirdiğine göre, patatesten meiotik ikileme yolunun ıslahçılara diploid ve triploid kültür ırklarını unutturmaya başladığını göstermiş bulunmaktadır. Marks (1966)'a göre de, triploidlerin fazla miktarda elde edilememesi de diğer bir şanssızlıktır. Tetraploidleri avantajlı duruma getiren önemli bir husus daha vardır. Bu da diploidlerde lokusta sadece iki allelin bulunmasına karşılık tetraploidlerde üç ya da dört allelin mevcut olmasıdır. Bu ise Busbice ve Wilsie (1966) ile Lundqvist (1966)'ın bildirdiklerine göre örneğin çavdar bitkisinde ekstra bir heterosis etkinin meydana gelmesine neden olmaktadır.

Teorik olarak patates ve yonca da melez kültür ırklarının ıslahında, bu bitkilerin autoteraploid özellikleri nedeniyle çiftsel-melez uygulaması esas olmaktadır. Bu bitkilerde haploidler ise inbred hatların elde edilmesinde daha

yararlı olmaktadır. Uygulamada ilk aşama çiftsel melez bitkilerin elde edilmesidir. Bundan sonraki kısım ise çoğaltma işleminin vegetatif olarak yapılmasıdır. Hatta daha ileri gidilerek üretme işi tohumla da yapılabilir. Zira, ebeveyn materyal zaten vegetatif olarak üretilmek suretiyle muhafaza edilebilmektedir. Tohumla üretmede, patatesten bütün virüs hastalıkları kontrol altına alınabilmektedir. Bu şekilde tohumdan üretilen fidelerin daha sonra tarlaya şaşırtılması ile melez kültür ırkları elde edilmektedir. Mendiburu (1971)'nin bildirdiğine göre, Peloquin ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan bu yöntem heterozigotinin maksimum olmasına olanak sağlamaktadır. Bu nedenle, ürün açısından, bu metod yüksek kombinasyon kabiliyetindeki safhatlar arasında yapılan melezleme çalışmalarına benzer sonuç vermektedir. Elde edilecek döller zayıf ve gösterişsiz olması pahasına, eğer safhat elde etme yöntemi patatesten uygulanmaya başlarsa, bu şekilde dihaploidlerin homozigotiye yaklaşma nisbeti de artmış olacaktır,

## HAPLOİDLERİN BİTKİ ISLAHINDA İNDİREKT KULLANILMASI

Haploidlerin indirekt kullanılması ile ilgili olarak genetik oranları ve mutasyon nisbetleri direkt olarak monohaploid populasyonlardan okunabilir. Bununla beraber, kesin bir karar verebilmek için haploidizasyon olayı sırasındaki gamet seleksiyonu noksanlığının tamamından emin olmak gerektir.

Homozigot hatların da bitki ıslahında indirekt olarak önemi büyüktür. Bunlar çeşitli ölçülebilen karakterlerde bilinmeyen genotiplerin değerlendirilmesinde standart olarak kullanılır-

lar. Aynı şekilde, çevre faktörü ile ilgili varyans ile genotip x çevre interaksyonunun tahmininde bunlardan faydalanırlar. Birçok karakter için resesiv durumda da olan homozigot hatlar, bilinmeyen hatların genotipinin değerlendirilmesinde önemli katkıda bulunurlar.

Aneuploidlerin kaynağı olarak da haploidlerden söz etmek mümkündür. Örneğin *Solanum*, buğday, tütün ve biberde olduğu gibi. Khush (1973), aneuploidiye farklı sitolojik mekanizmaların sebep olduğunu ileri sürmektedir.

## PATATESTE SUN'İ HAPLOİD ELDE ETME

Patateste kombinasyon ıslahında arzu edilen karakterlerin birleştirilmesi diploid karakterli kültür bitkilerinde olduğu gibi kolay değildir. Çünkü daha önce de değindiğimiz gibi, *Solanum tuberosum* türüne dahil kültür patatesleri tetraploid yapıya sahiptirler. Bu kombinasyon çalışmalarında 4x'li kültür patateslerini 2x'li yapmak, yani bunlardan haploidler elde etmek gerekli kolaylığı sağlayabilmektedir. İncekara (1973)'nin bildirdiğine göre, bu konu üzerinde çalışan Hougas ve Peloquin bu maksat için, yani suni haploid bitkiler elde etmek için, en uygun türün *S. phureja* olduğunu bulmuşlardır. Bu nedenle de haploidi elde etmede, yöntemin esasını *S. tuberosum* ile *S. phureja* arasında yapılan melezleme teşkil etmektedir. Burada önemli olan husus bu melezleme çalışmasında *S. phureja*'nin polinatör olarak kullanılmasıdır.

*S. tuberosum* (♀) x *S. phureja* (♂)  
 $2n=4x=48$        $2n=2x=24$

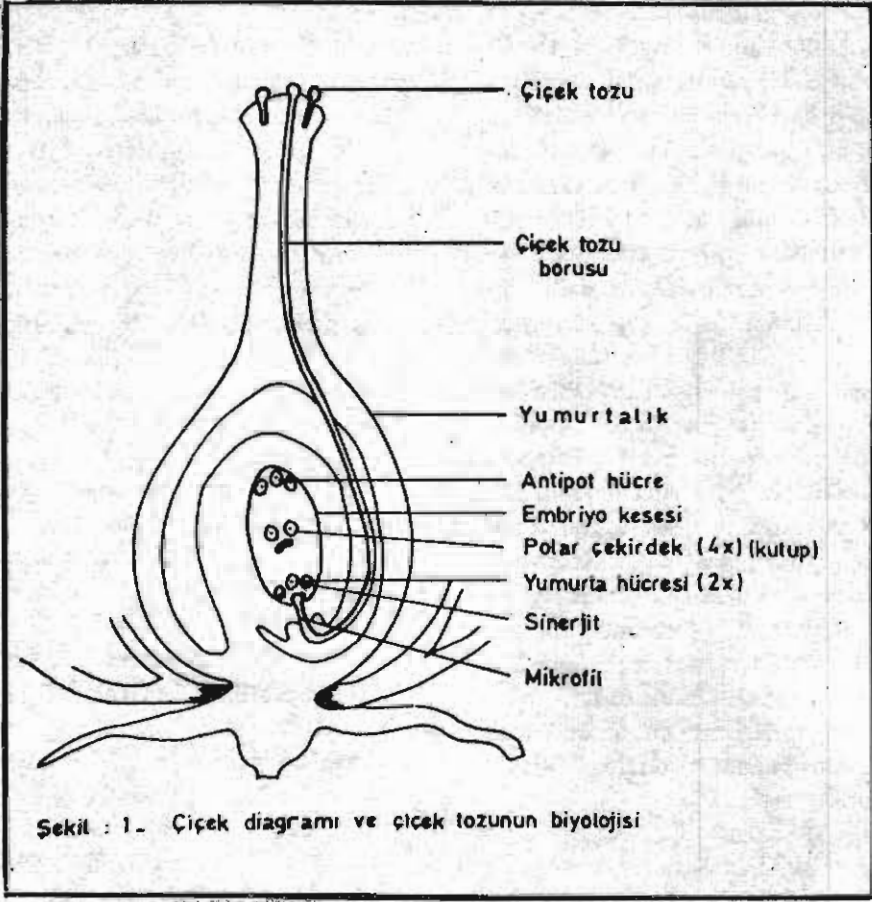
Bilindiği gibi yüksek bitkilerde döllenme çift yönlü cereyan etmektedir. Yumurta hücresinin polenden gelen generatif nükleuslardan biri ile birleşmesinden zigot ve bundan da embriyo meydana gelmektedir. Bu döllenmenin yanı sıra embriyo kesesindeki kutup çekirdekleri ile diğer generatif nükleusun birleşmesinden de endosperm teşekkül etmektedir.

Tetraploid *S. tuberosum* ile diploid *S. phureja* melezlenmesinde Şekil 1:de de görüldüğü gibi yumurta hücresi 2x ve kutup çekirdekleri 4x yapıdadır. Buna göre, melezleme sıra-

sında diploid bitkiden gelen x kromozomlu generatif nükleus, 2x kromozomlu yumurta hücresi ile birleşerek  $2x+x=3x$  kromozomlu embriyoyu ve diğer generatif nükleusla birleşen kutup hücresi de  $4x+x=5x$  kromozomlu endospermi meydana getirmektedir. *S. tuberosum* ile *S. phureja* arasında yapılan melezlemelerde bu şekildeki döllerin sayısının çok düşük olduğu ve ancak % 0.2-0.6 arasında bulunduğu saptanmıştır (İncekara, 1973).

Bazen bu normal döllenmenin yanında, diploid ebeveynden gelen  $x=12$  kromozomlu generatif nükleusların her ikisinde kutup çekirdekleri ile birleşmekte ve  $4x+x+x=48+12+12=72$  kromozomlu endosperm çekirdeği teşekkül etmektedir. Generatif nükleus ile döllenmemiş olan 2x'li yumurta hücresinin partenogenetik olarak gelişmesi suretiyle haploid kromozom sayılı ( $2x=24$ ) embriyo meydana gelmiş olmaktadır. Bu şekildeki fertlerin sayısının % 3.4-28.6 oranında olduğu saptanmıştır ki, bu normal döllenme oranına göre oldukça yüksek bir değerdir (İncekara, 1973).

Yine bu melezleme çalışması sırasında, diploid erkek ebeveynde reduksiyona uğramamış 2x kromozomlu generatif nükleuslar meydana gelebilmekte ve bunların 2x kromozomlu yumurta hücresi ile birleşmesinden  $2x+2x=(24+24)=48$  kromozomlu tetraploid embriyo ve 4x kromozomlu kutup çekirdekleri ile birleşmesinden de  $4x+2x=6x=72$  kromozomlu endosperm teşekkül etmektedir. Bu tip döllenme de % 71-94 oranında söz konusu olmaktadır (İncekara, 1973).



Bu şekilde yapılan melezlemede görüldüğü gibi 3 ayrı ihtimal dahilinde fertler meydana gelmektedir. Burada bizim için konumuzla ilgili olması bakımından, önemli olan partenogenetik olarak meydana gelen haploid kromozom sayılı embriyo taşıyan bitkilere dir. Bu bitkiler ploidi düzeylerine

göre kolayca diğerlerinden ayırtedilebilirler. Bu maksatla bitkilerin epidermislerindeki kilit hücrelerinin taşıdıkları plastid sayıları saptanarak melez bitkiler kromozom sayılarına göre sınıflandırılır. İncekara (1973), Frandsen' in bu konudaki tespitlerini şu şekilde sıralamıştır:

		<i>Plastid sayısı</i>
4x'li (2x=48)	Patateslerde	: 22.12 ± 0.29 (Sx=1.87)
3x'li (2x=36)	Melezlerde	: 16.28 ± 0.21 (Sx=1.87)
2x'li (2x=24)	Haploidlerde	: 12.24 ± 0.04 (Sx=1.56)

Bu şekilde plastid sayılarına göre haploid bitkiler diğerlerinden ayıttedilirler.

Patateste uygulanan bu haploid tekniđi ile;

1. Tür melezlerinde fertile derecesi artmakta,

2. Melezleme çalışmaları kolaylaşmakta,

3. Elde edilen ıslah melezlerinde homozigotlaştırma daha kolay sonuç vermekte,

4. Haploid bitkilerden heterosis çalışmalarında faydalanmak mümkün olmaktadır.

### LİTERATÜR LİSTESİ

- Busbice, T.H. and C.P. Wilsie. 1966. Inbreeding depression and heterosis in autotetraploids with application *Medicago sativa* L. *Euphytica* 15: 52-67.
- Chase, S.S. 1952. Production of homozygous diploids of maize from monoploids *Agron. Jour.* 44: 263-267.
- Chase, S.S. 1969 Monoploids and monoploid-derivatives of maize (*Zea mays* L.) *Bot Rev.* 35: 117-167.
- Eenik, A.H. 1974 a. Matromorphy in *Brassica oleracea* L. 4. Formation of homozygous and heterozygous diploid products of gametogenesis and qualitative genetical research on matromorphic plants *Euphytica*. 23.
- Eenink, A.H. 1974 b. Matromorphy in *Brassica oleracea* L. 5. Studies on quantitative characters of matromorphic plant and their progeny. *Euphytica* 23.
- Gökçora, H. 1969. Bitki Yetiştirme ve Islahı. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yardımcı Ders Kitabı. 128: 28-30.
- Hermesen, j.G.Th. 1974. Haploids in Plant Breeding. Proceedings of International Symposium on Haploids in Higher Plants, University of Guelph. 281-286.
- İncekara F. 1973. Endüstri Bitkileri Nişasta-Şeker Bitkileri ve Islahı, Bornova, Cilt 3: 86-89
- Kermicle, J.L. 1969 Androgenesis conditioned by mutation in maize. *Science* 166: 1422-1424.
- Khush, G.S. 1973. Cytogenetics of Aneuploids. Academic Press, New York and London, 301.
- Lundqvist, A. 1966. Heterosis and inbreeding depression in autotetraploid rye. *Hereditas* 56: 317-366.
- MacKay, G.R. 1972. On the genetic status of the maternals induced by pollination of *Brassica oleracea* with *Brassica campestris* L. *Euphytica* 21: 71-77.
- Marks, G.E. 1966. The enigma of triploid potatoes. *Euphytica* 15: 285-290.
- Mendiburu, A.D. 1971. The significance of 2n gametes in potato breeding and genetics. Ph. D. Thesis. Univ. Of Wisconsin, 89.
- Nishi, S., T. Kuriyawa and T. Hiraoka, 1964. Studies on the breeding of

crucifer vegetables by interspecific  
and intergeneric hybridization Bull.  
Hortic. Res. Station, Japan, Series  
A 3: 161-250

Röbbelen, G. 1966. Beobachtungen bei  
interspezifischem *Brassica*-Kreu-  
zungen, insbesondere über die Ent-  
stehung matromorpher Pflanzen.  
Angewandte Botanik. 39: 205-221.