



Sebze Islahında Moleküler Yaklaşımlar

Gölge SARIKAMIŞ
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara

*Sorumlu yazar:
E-posta: golge.sarikamis@agri.ankara.edu.tr

Geliş Tarihi: 04 Eylül 2014
Kabul Tarihi: 20 Ekim 2014

Özet

İnsan beslenmesinde önemli bir yere sahip sebze türlerinde, değişen çevresel koşullara ve tüketici ihtiyaçlarına uygun yeni çeşitlerin geliştirilmesi ıslah hedefleri arasındadır. Yeni çeşitlerin geliştirilmesinde klasik ıslah yöntemleri pek çok türde verim, kalite unsurları, hastalık ve zararlılar ile olumsuz çevre ve toprak koşullarına dayanıklılık gibi konularda ıslah hedeflerine yönelik olarak kullanılmaktadır. Ancak, sürecin uzun ve emek yoğun olması nedeniyle, moleküler yaklaşımların ıslah programlarına dahil edilmesi, ıslah sürecinin hızlandırılması ve etkin kılınması bakımından yarar sağlamaktadır. Son yıllarda moleküler biyoloji alanında yeni nesil teknolojilerin kullanımına bağlı olarak pek çok türde önemli ölçüde genomik bilgi, veri ve kaynağa ulaşmak mümkün olmaktadır. Sunulan makalede, sebze ıslahında moleküler uygulamalar moleküler biyoloji alanında yaşanan güncel gelişmeler ışığında değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Islah, Moleküler Genetik, Sebzeler.

Molecular Approaches in Vegetable Breeding

Abstract

Development of novel cultivars with the ability to adapt changing environmental conditions as well as consumer demands is an important challenge. Classical breeding approaches have been used in many plant species for the improvement of several agronomic characters such as productivity, quality aspects, resistance to pests, diseases and unfavourable environmental factors. However, classical approaches are usually time consuming and labour intensive therefore, involvement of molecular approaches accelerate breeding programs. Recently, great amount of genomic information and resources provided by Next Generation Sequencing Technologies is now available for many species. In the present review, current molecular approaches and applications in breeding programs for the development of improved novel cultivars have been evaluated.

Keywords: Breeding, Molecular Genetics, Vegetables.

GİRİŞ

Değişen ve ağırlaşan küresel şartlara adapte olabilen, tüketicilerin ve üreticilerin taleplerine uygun yeni çeşitlerin ülkemize ve dünyaya kazandırılması ıslah çalışmalarının temel amacını oluşturmaktadır. Yeni çeşitlerin geliştirilmesinde klasik ıslah yöntemleri pek çok türde önemli agronomik özelliklerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Ancak sürecin uzun ve emek yoğun olması, ekonomik unsurlar gibi başlıca nedenlerle, tek başına klasik ıslah yöntemleri ile elde edilen çıktılar, artan gıda ihtiyacı, toprak ve su kaynaklarındaki kısıtlar, hastalık ve zararlılar gibi etmenlere karşı artan talebi karşılamak için yeterli olamamaktadır.

Moleküler biyoloji alanında 1990'lı yıllardan itibaren yaşanan hızlı gelişmelerin ışığında, ıslah hedeflerine yönelik uygulamalardan yararlanarak ıslah sürecinin hızlandırılması ve etkinliğinin artırılması mümkün olabilmektedir [1]. Moleküler uygulamalar oldukça geniş ve kapsamlı uygulamaları içermekle birlikte ıslah hedeflerine yönelik olarak kullanımı değerlendirildiğinde, genel olarak, genomik yaklaşımlarla kalitatif veya kantitatif nitelikteki agronomik özelliklerin genetik mekanizmasının açıklanmasında, gen bölgelerinin ve genlerin tespitinde, agronomik özelliklerle ilişkili markerların belirlenmesinde kullanılmaktadır. Geliştirilen moleküler markerlar ile ıslah çalışmalarına temel oluşturan gen kaynaklarının taranması, ıslah sürecinde ilgili özelliği genetik olarak taşıyan

bireylerin seçimi ve ıslah çalışmalarının bu bilgiler ışığında sürdürülmesi (Markera dayalı seleksiyon-MAS) mümkün olmaktadır [2]. Ayrıca, ıslah edilen çeşitlerin tescil ve üretim aşamalarında, çeşit saflığı ve hibrit bitki tanısında, ıslahçı haklarının korunmasında moleküler düzeyde incelemelerden yararlanılmaktadır. Son yıllarda, yeni nesil dizileme cihazlarının geliştirilmesiyle, pek çok türde genom dizileme çalışmaları hız kazanmıştır. Söz konusu yeni teknolojiler, moleküler marker sayısının artmasına, detaylı gen haritalarının oluşturulmasına, genetik ve fiziksel haritaların ilişkilendirilmesine olanak sağlamıştır [3].

Öte yandan transkriptomik düzeyde yürütülen gen ifade analizleri ile biyotik ve abiyotik stres şartları gibi çeşitli koşullar altında ifade olan genlerin belirlenmesi sağlanabilmektedir. Bu amaçla, hibridizasyona dayalı mikroarray yönteminden yararlanılabileceği gibi yeni nesil sekans cihazlarının sağladığı olanaklar ile RNA transkriptlerinin incelenmesine dayalı RNAseq gibi yaklaşımlardan da yararlanılabilmektedir [4].

Rekombinant DNA teknolojisi ile gen aktarımı gerçekleştirilerek pek çok bitkide özellikle hastalık, zararlı ve herbisitlere dayanıklılık özelliği kazandırılmaktadır [5]. Öte yandan, transkripsiyonu düzenleyen siRNA, miRNA gibi küçük RNA moleküllerinin gen susturma başta olmak üzere gen ifadesinin düzenlenmesinde kullanımı son yıllarda moleküler biyoloji alanındaki en önemli buluşlardan kabul edilmektedir [6].

Sebze ıslahında moleküler yöntemlerin kullanım alanları

Gen Kaynaklarının Moleküler Düzeyde Taranması

Bitki gen kaynaklarının moleküler markerlar ile DNA düzeyinde taranarak genetik açıdan incelenmesi, bireyler arasındaki genetik ilişkilerin ve akrabalık düzeylerinin ortaya konması ileride yürütülecek ıslah çalışmaları için yol gösterici olmaktadır. Bu bilgiler, oldukça fazla emek ve zaman alan ıslah çalışmalarına başlarken başlangıç popülasyonunun genetik alt yapısının tanımlanması, benzer genetik alt yapıya sahip materyallerin elimine edilmesi, amaca yönelik materyalle yola devam edilebilmesi bakımından önemli avantajlar sağlayabilmektedir. Ülkemiz pek çok bitki türünde olduğu gibi sebze türleri bakımından da oldukça zengin gen kaynaklarına sahiptir [7]. Araştırmacılar tarafından toplanan ve ülkemizde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan taze fasulye, bezelye, patlıcan, kavun gibi pek çok sebze türünde, gerek yöresel gerekse ülke genelinde toplanan bitkisel materyallerde moleküler düzeyde tanımlama (karakterizasyon) çalışmaları gerçekleştirilmiştir [8,9,10,11]. Sebze gen kaynaklarının moleküler karakterizasyonu şüphesiz ileride yürütülmesi planlanan ıslah çalışmalarına ışık tutacaktır. Öte yandan maddi ve teknik zorluklarla sürdürülebilirliği sağlanan gen bankalarında genetik düzeyde tanımlanan materyallerin saklanması gen bankalarının etkinliği bakımından da yarar sağlayacaktır.

Çeşit saflığının genetik düzeyde belirlenmesi ve hibrit bitki tanısı

Moleküler yöntemlerle genom düzeyinde yürütülen taramalar çeşit saflığının genetik düzeyde belirlenmesi ve hibrit bitki tanısı amacıyla da kullanılmaktadır. Çeşit saflığının belirlenmesi, ıslah sürecinde olduğu kadar, çeşitlerin tescil ve kayıt altına alınmasında, ıslahçı haklarının korunmasında, tohumluk üretiminde, pazarlanması aşamalarında önem taşımaktadır [12]. Moleküler tanımlamalar, arazi şartlarında yürütülen ve oldukça uzun zaman ve emek gerektiren morfolojik gözlem ve incelemelerle karşılaştırıldığında, daha kısa sürede sonuç veren, çevresel şartlardan etkilenmeyen, doğrudan bitkinin genetik yapısını ortaya koyabilen güvenilir uygulamalardır. Öte yandan, son yıllarda, fidecilik sektöründe zaman zaman karşılaşılan ve üreticilerle fide firmalarını karşı karşıya getiren ismine doğru fide sorununa açıklık kazandırmak amacıyla DNA düzeyinde yürütülecek moleküler tanımlamalardan yararlanmak mümkündür.

Genomik araştırmalar ile önemli agronomik özelliklerin genetik mekanizmasının açıklanması, harita ve marker belirleme çalışmaları

Çeşitli agronomik özelliklerin genetik mekanizmalarının açıklanmasında, bu özelliklerle ilgili genomik bölgelerin tespitinde, ilgili moleküler markerların belirlenmesinde ve genlerin tespitinde kullanılan gen haritaları günümüzde pek çok sebze türünde ve pek çok önemli agronomik özellikle ilişkili olarak kaynaklarda yer almaktadır [13]. Oluşturulan gen haritalarından yola çıkılarak gen veya QTL bölgelerinin belirlenmesi ve bu özelliklerle ilişkili moleküler markerların tespiti ileride yürütülecek ıslah çalışmalarında özellikle markera dayalı seleksiyon olanağı sunmaktadır. Günümüzde yeni nesil sekans cihazlarının kullanılmaya başlanmasıyla birlikte genom dizi analizleri ve marker geliştirme çalışmaları da hız kazanmıştır. Dizi analiz çalışmaları tamamlanan hıyar [14] ve kavun [15] genomu yanısıra büyük oranda tamamlanan domates [16], fasulye [17], karpuz [18] ve

patlıcan [19] genom bilgileri kaynaklarda yer almaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen veriler ışığında genlerin tespiti, yeni moleküler markerların belirlenmesi de ivme kazanmıştır. Pek çok türde, özellikle SSR (Simple Sequence Repeats) ve SNP (Single Nucleotide Polymorphism) marker sayısında artışlar sağlanmıştır. Domateste, yeni nesil dizileme ile çok miktarda SNP marker geliştirilmiş aynı zamanda yüksek yoğunluklu gen haritaları (high density genetic linkage map) oluşturulmuştur [3]. Turpta, dizi analizleri ve SNP markerlar kullanılarak oluşturulan gen haritasında glukozinolat sentezi ile ilişkili QTL bölgeleri ve aday genler belirlenmiştir [20].

Moleküler markerlar ile markera dayalı seleksiyon (MAS) uygulamaları

Markera dayalı seleksiyon (MAS) ıslah çalışmalarında etkin olarak kullanılan moleküler yöntemlerden bir tanesidir. Haritalama çalışmaları ile belirli bir özellikle ilgili genlerle yakın ilişkilendirilmiş moleküler markerlar ile ıslah materyalleri erken dönemde taranarak, istenen genetik yapıya sahip bitkiler seçilirken, taşımayanlar elenerek zaman, emek ve masraftan kazanım sağlanabilmektedir. Yöntemin başarısı, marker ile gen veya QTL arasındaki sıkı ilişkiye bağlıdır. Marker ve gen arasındaki sıkı ilişki rekombinasyon olasılığını azaltmaktadır. Fonksiyonel markerlar olarak da isimlendirilen gen içi markerlar (intragenic markers) ise bu kısıtlamayı ortadan kaldırabilmek amacıyla tercih edilebilmektedir. Yeni nesil dizi analizleri ile pek çok türde çok sayıda fonksiyonel marker geliştirilmiştir [21]. Bu markerlar ile gerçek gen ilişkili ıslah çalışmaları (real gene assisted breeding) yürütülerek, rekombinasyona bağlı ortaya çıkabilecek sorunlar ortadan kaldırılmaktadır [21].

Markera dayalı seleksiyonla, başta hastalık ve zararlılara dayanım olmak üzere, kalite özellikleri, biyokimyasal içerik gibi pek çok amaca yönelik taramalar yapılmaktadır. Örneğin, patlıcanda fusarium solgunluğuna dayanıklılık özelliği ile ilişkili SRAP, SRAP-RGA, RAPD ve SCAR markerlar geliştirilmiştir [22]. Domateste, domates mozaik virüsüne dayanıklılık geni Tm2a ile ilişkili bir marker geliştirilmiştir [23]. Geliştirilen markerlar ile ıslah programlarında dayanıklılık özelliğini taşıyan bireyler tespit edilebilmektedir. Benzer şekilde, geliştirilen markerlar ile sebzelerin içerdiği çeşitli metabolitler bakımından taranması da mümkün olmaktadır. Brokkoli ve lahana grubu sebzelerde bulunan ve insan sağlığı bakımından yararlı olduğu bilinen glukozinolat sentezi ile ilişkili QTL bölgelerinin ve markerların tespiti, bu markerlar ile ıslah hatlarının taranması, ıslah programının bu bilgiler ışığında yönlendirilmesi sonucunda yüksek oranda glukozinolat sentezleyen hatlar elde edilmiştir [24].

Gen ifade analizleri

Gen ifadesi analizleri, bitkide pek çok karmaşık özelliğin ve işlevin moleküler alt yapısının anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Özellikle tuzluluk, kuraklık, sıcak ve soğuk stresi gibi küresel sorunlara yönelik olarak bitkilerde gerek stres mekanizmasının açıklanmasında gerekse ilgili genlerin tespitinde yol gösterici olmaktadır. Gen ifade analizlerinden elde edilen bilgiler ileride dayanıklı hatların geliştirilmesinde kullanılabilirler. Geçmişte geleneksel olarak northern blot tekniğine dayalı olarak yapılan gen ifade analizleri, günümüzde kantitatif bir yaklaşım olan ancak sınırlı sayıda geni incelemeye olanak veren q-pcr; hibridizasyona dayalı olarak yürütülen mikroarray ve yeni

nesil dizileme ile transkript profillerinin çıkarılması (RNA-seq) şeklinde yürütülmektedir [4, 25]. Farklı türlerde, çeşitli metabolik yolların aydınlatılması, hastalıklara dayanım, meyve gelişimi gibi değişik ıslah amaçlarına yönelik olarak RNA-seq yönteminden yararlanılmaktadır [26, 27, 28]. RNA-seq aynı zamanda genom yorumlama, gen bölgelerinin ve ekzon/intron sınırlarının belirlenmesi bakımından da kullanılmaktadır [26].

Rekombinant DNA Teknolojisi

Genetik modifikasyon veya gen manipülasyonu olarak da ifade edilen uygulamalar rekombinant DNA teknolojisinin kullanımı ile bir organizmanın genetik yapısının değiştirilmesini, başka bir kaynaktan alınan genin hedef organizmaya aktarılmasını amaçlamaktadır [5]. Dünyada bu uygulamalar ile herbisite dayanıklı soya fasulyesi, mısır, kanola, pamuk, böcek zararına dayanıklı mısır, pamuk yanısıra sebzelerde karpuz mozaik virüsü (WMV) 2 ve kabak sarı mozaik virüsüne (ZYMV) dayanıklı kabak (*Cucurbita pepo* L.) çeşitleri geliştirilmiştir [29].

Son yıllarda 20-30 nükleotid gibi kısa dizilişe sahip siRNA ve miRNA (small interfering RNA ve microRNA) gibi küçük RNA dizilerinin transkripsiyon sonrası (post transkripsiyon) gen susturma amacıyla kullanılmaya başlanması moleküler biyoloji alanında önemli gelişmelerden birisi olarak kabul edilmektedir [6]. Transkripsiyon sonrası gen susturulması, mRNA üzerinden protein sentezinin engellenmesiyle sağlanmaktadır. Bu mekanizma RNA interferans (RNAi) olarak adlandırılmaktadır. İlk olarak 1990 yılında bitkilerde varlığı saptanan RNAi üzerinde son yıllarda birçok çalışma yapılmaya başlanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir [6]. Günümüzde bu mekanizma, hücredeki herhangi bir genin fonksiyonunun belirlenmesinde ve gen ifadesinin düzenlenmesinde kullanılmaya başlayan güçlü bir yöntemdir [30]. RNAi ile yürütülen araştırmalarla, domateste karotenoid ve flavonoid içeriğinin artırılması [31], kavunda virüslere dayanıklılık [32] gibi konularda araştırmalar yürütülmüştür.

SONUÇ

Günümüzde moleküler yöntem ve teknolojilerin gelişmesine bağlı olarak önemli kazanımlar sağlanmaktadır. Yeni nesil dizileme gibi teknolojik uygulamalarla, pek çok türde zengin veri bankaları oluşmuştur. Verilerin analiz ve kullanımına yönelik biyoinformatik yaklaşımlar geliştirilmektedir. Bu kaynaklar, özellikle bitkilerde verim, kalite unsurları, dayanıklılık gibi önemli ıslah hedeflerine ulaşmak bakımından önemli avantajlar sunmaktadır. Ülkemizde, son yıllarda yeni çeşitlerin geliştirilmesi bakımından gelişmeler ve iyileşmeler yaşanmakla birlikte, dünyada bu alanda araştırma geliştirme faaliyetlerine daha fazla yatırım yapan ülkelerin ve bu ülkelerde faaliyet gösteren sektörel firmaların daha hızlı yol aldıkları da bir gerçektir. Bu nedenle ülkemizde de moleküler yaklaşımların kullanımına yönelik araştırma faaliyetlerinin artarak devam etmesi, bu alandaki yapılanmanın geliştirilmesi kuşkusuz yarar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] Tester M, Langridge P. 2010. Breeding technologies to increase crop production in a changing world. *Science*. 327: 818-822.
- [2] Collard BCY, Mackill DJ. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Transact. Royal Soc. B*. 363: 557-572.
- [3] Sim SC, Durstewitz G, Plieske J, Wieseke R, Ganai MW, Van Deynze A, Hamilton JP, Buell CR, Causse M, Wijeratne S, Francis DM. 2012. Development of a large SNP genotyping array and generation of high-density genetic maps in tomato. *PlosOne*. 7:7 e40563.
- [4] Marioni JC, Mason CE, Mane SM, Stephens M, Gilad Y. 2008. RNA-seq: an assessment of technical reproducibility and comparison with gene expression arrays. *Genome Res*. 18:1509-1517.
- [5] Hartung F, Schiemann J. 2014. Precise plant breeding using new genome editing techniques: opportunities, safety and regulation in the EU. *The Plant Journal*. 78(5): 742-752.
- [6] Castell SE, Martienssen RA. 2013. RNA interference in the nucleus: roles for small RNAs in transcription, epigenetics and beyond. *Nature Reviews Genetics*. 14: 100-112.
- [7] Tan A. 2010. Türkiye bitki genetik kaynakları ve muhafazası. *Anadolu J of AARI*. 20 (1): 9 – 37.
- [8] Sarıkamış G, Yaşar F, Bakır M, Kazan K, Ergül A. 2009. Genetic characterization of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes from eastern Turkey. *Genetics and Molecular Research*. 8(3): 880-887.
- [9] Sarıkamış G, Yanmaz R, Ermiş S, Bakır M, Yüksel C. 2010. Genetic characterization of pea (*Pisum sativum* L.) germplasm from Turkey by morphological and SSR markers. *Genetics and Molecular Research*. 9 (1): 591-600.
- [10] Demir K, Bakır M, Sarıkamış G, Acunalp S. 2010. Genetic diversity of eggplant (*Solanum melongena* L.) germplasm from Turkey assessed by SSR and RAPD markers. *Genetics and Molecular Research*. 9 (3): 1568-1576.
- [11] Fray A, Şığva HO, Tan A, Taşkın T, Inal A, Mutlu S, Haytaoğlu M, Doğanlar S. 2013. Molecular genetic diversity in the Turkish national melon collection and selection of a preliminary core set. *Journal of the American Society For Horticultural Science*. 138(1): 50-56.
- [12] Korir NK, Han J, Shangquan L, Wang C, Kayesh E, Zhang Y, Fang J. 2012. Plant variety and cultivar identification: advances and prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*. 1-15 DOI: 10.3109/07388551.2012.675314
- [13] Ashrafi H, Kinkade M, Foolad MR. 2009. A new genetic linkage map of tomato based on a *Solanum lycopersicum* x *S. pimpinellifolium* RIL population displaying locations of candidate pathogen response genes. *Genome*. 52(11):935-956.
- [14] Jiang S, Wang J, Du Y, Li S. 2009. The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. *Nature Genetics*. 41(12):1275-1281.
- [15] Garci-Mas J, Garcia-Mas J, Benjak A, Sanseverino W, Bourgeois M, Mir G, González VM, Hénaff E, Câmara

F, Cozzuto L, Lowy E vd. 2012. The Genome of melon (*Cucumis melo* L.) PNAS. 109(29):11872–11877.

[16] The Tomato Genome Consortium. 2012. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution. *Nature*. 485: 635–641.

[17] Schumutz J, McClean PE, Mamidi S, Wu GA, Cannon SB, Grimwood J, Jenkins J, Shu S, Song Q, Chavarro C. vd. 2014. A reference genome for common bean and genome wide analysis of dual domestications. *Nature Genetics*. 46: 707–713.

[18] Guo S, Zhang J, Sun H, Salse J, Lucas WJ, Zhang H, Zheng Y, Mao L, Ren Y, Wang Z. 2013. The draft genome of watermelon (*Citrullus lanatus* L.) and resequencing of 20 diverse accessions. *Nature Genetics*. 45: 51–58.

[19] Hirakawa H, Shirasawa K, Miyatake K, Nunome T, Negoro S, Ohyama A, Yamaguchi H, Sato S, Isobel S, Tabata S, Fukuoka H. 2014. Draft genome sequence of eggplant (*Solanum melongena* L.): the representative Solanum species indigenous to the old world. *DNA Research*. Online published doi: 10.1093/dnares/dsu027.

[20] Zou Z, Ishida M, Li F, Kakizaki T, Suzuki S, Kitashiba H, Nishio T. 2013. QTL analysis using SNP markers developed by next generation sequencing for identification of candidate genes controlling 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate contents in roots of radish, *Raphanus sativus* L. *PlosOne*. 8: 1 e53541.

[21] Andersen JR, Lübberstedt T. 2003. Functional markers in plants. *Trends Plant Sci*. 554-560.

[22] Mutlu N, Boyacı FH, Gocmen M, Abak K. 2008. Development of SRAP, SRAP-RGA, RAPD and SCAR markers linked with a Fusarium wilt resistance gene in eggplant. *Theoretical and Applied Genetics*. 117(8): 1303-1312.

[23] Panthee DR, Brown AF, Yousef G.G, Ibrahim R, Anderson C. 2013. Novel molecular marker associated with Tm2a gene conferring resistance to tomato mosaic virus in tomato. *Plant Breeding*. 132: 413–416.

[24] Sarıkamış G, Marquez J, MacCormack R, Bennett RN, Roberts J, Mithen R. 2006. High glucosinolate broccoli: a delivery system for sulforaphane. *Molecular Breeding*. 18:219-228.

[25] Galbraith DW, Birnbaum K. 2006. Global studies of cell type-specific gene expression in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 57: 451-475.

[26] Alagna F, D'Agostino N, Torchia L, Servili M, Rao R, Pietrella M, Giuliano G, Chiusano ML, Baldoni L, Perrotta G. 2009. Comparative 454 pyrosequencing of transcripts from two olive genotypes during fruit development. *BMC Genomics*. 10:399.

[27] Wang Y, Zhang H, Li H, Miao X. 2011. Second-generation sequencing supply an effective way to screen RNAi targets in large scale for potential application in pest insect control. *PLoS One*. 6(4), e18644.

[28] Shi CY, Yang H, Wei CL, Yu O, Zhang ZZ, Jiang CJ, Sun J, Li YY, Chen Q, Xia T, Wan XC. 2011. Deep sequencing of the *Camellia sinensis* transcriptome revealed candidate genes for major metabolic pathways of tea-specific compounds. *BMC Genomics*. 12: 131.

[29] CERA, Centre for Environmental Risk Assessment. 2014. <http://www.cera-gmc.org/GmCropDatabaseEvent/30>.

[30] Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Bartel B. 2006. MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annual Review of Plant Biology*. 57: 19-53.

[31] Davuluri GR, Tuinen AV, Fraser PD, Manfredonia A, Newman R, Burgess D, Brummell DA, King SR, Palys J, Uhlig J. vd.2005. Fruit-specific RNAi-mediated suppression of DET1 enhances carotenoid and flavonoid content in tomatoes. *Nature Biotechnology*. 23: 890 – 895.

[32] Rodríguez-Hernández A, Gosalvez B, Sempere RN, Burgos L, Aranda MA, Truniger V. 2012. Melon RNA interference (RNAi) lines silenced for Cm-eIF4E show broad virus resistance. *Molecular Plant Pathology*. 13(7):755–763.