

## ***BİTKİ ISLAHINDA DNA MARKERLARININ KULLANIMI***

A.Naci ONUS

Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi  
Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya/Türkiye

**Özet** DNA markerları kantitatif biyoloji içerisinde sorulan pek çok kompleks sorunun cevaplanmasında önemli bir araç olarak ortaya çıkmaktadır ve bitki ıslahı ve bitki genetiğinin çeşitli alanlarında kullanılmaya başlanmıştır. Bu markerlar taksonomi, populasyonlarda görülen varyasyonlar ve uyuma sistemleri gibi temel çalışma alanlarında kullanılmaktadır. Moleküler markerlar doğal olarak oluştuğu, fenotip üzerine olumsuz bir etkileri olmadığı ve çevre koşullarından etkilenmedikleri için son derece faydalıdır. Şu anda günümüzde kabul edilen genel inanç genetik markerlar gelecekte ziraate ve biyolojik bilimlere önemli katkılarda bulunacaktır.

### ***DNA Markers In Plant Improvement***

**Abstract** DNA markers are important tools for detailed investigation of complex questions in quantitative biology and they are beginning to be used in many aspects of plant genetics and breeding. They have been applied to basic studies of taxonomy, variability of populations and mating systems. Molecular markers are quite useful because they are naturally occurring, have very few negative effects on phenotype, and are not subject to environmental influence. It is believed that genetic markers will make a major contribution to the biological sciences, especially agriculture, for the foreseeable future.

### ***Giriş***

Bitkilerde verimliliğin artırılması yeryüzünde ziraatın başlamasından itibaren bitki bilimi ile uğraşan tüm insanların ortak çalışması ile sağlanmış ve bu alanda yapılan işlemler insanoğlunun başardığı en önemli işlevler arasında yer almıştır. Bu anlamda genetik bilimi verimliliğin artırılmasında önemli bir rol oynamıştır. Belirli zamanlarda, farklı bitkilerde, farklı varyeteler ya belirli bir pazarın ihtiyaçlarını karşılamak veya belirli bir çevre koşuluna adapte olmalarını sağlamak amacıyla sürekli bir seleksiyona tabi tutulmuşlardır. Tarihsel olarak, tarımsal verimliliğin artırılmasında genetiksel değişikliklerin diğer faktörlerden daha fazla düzeyde bir rol oynadığı söylenebilir (1).

Şimdiye kadar bitki ıslahında elde edilmiş tüm başarılarla karşın, dünya nüfusunda meydana gelen artış, tarımsal uygulamaların ve tüketici tercihlerinin değişmesi verimliliğin artırılması konusunda yeni bazı gereksinimleri ortaya çıkarmıştır.

Verimlilik artışı için moleküler biyoloji alanında son yıllarda meydana gelen değişiklikler, bitki türlerinde içinde bulunduğu yüksek organizmalarda hızlı ve detaylı genetik analizlerin yapılmasını sağlamıştır. Bu anlamda DNA markerlarından elde edilen bilgiler

forensik bilim, bazı hastalıklardan sorumlu genlerin tesbit edilmesi, organizmalarda geçirilen evölüsyonun incelenmesi gibi oldukça farklı alanlarda kullanılmaktadır.

Ancak DNA markerlarının belkide en yaygın olarak kullanıldığı yer, basit veya kompleks özellikleri kontrol eden genlerin kromozom üzerindeki yerlerini belirlemede kullanılan genetik haritaların hazırlanmasıdır. DNA markerlarının esas olarak oldukça uzun süreden beri kullanılan diğer genetik markerlardan farklı olmadıkları söylenebilir. Fakat burada unutulmaması gereken nokta, kullanılacak DNA markerlarının sayısı o kadar fazladır ki bunlarla bir organizmaya ait bir kromozomun tüm kısımları işaretlenip belirlenebilir. Herhangi bir genin harita üzerindeki pozisyonunun bilinmesi ile bu yere yakın DNA markerları kullanılarak, bu genin varlığı genin etkisinin görülmesi beklenmeden belirlenebilir.

### **Genetik Markerların Sınıflandırılması**

İki farklı bireyin kromozomları arasındaki farklılıklar değişik yöntemlerle belirlenebilir. Örneğin bu bireylerin çıplak gözle incelenmesi dışarıdan görülebilen farklılıkları ortaya koyabilir ve bu şekilde kullanılan markerlara gözle görülebilen markerlar adı verilir. Diğer markerlara örnek olarak ise dokularda yapılan enzim analizleri (isoenzimler) ve DNA'nın kendisi üzerinde yapılan analizler (DNA markerları) verilebilir. Herhangi bir özelliğin genetiksel marker olarak kullanılabilmesi için bazı önemli özellikleri taşıması gerekmektedir. Bunlar;

- 1) Farklı fenotipler içerisinde kolayca tanınabilmelidirler,
- 2) Gelişimin erken aşamalarında ortaya çıkabilmelidirler,
- 3) Farklı markerlar arasında son derece düşük interaksiyonlar olmalıdır,
- 4) Gelecek generasyonlarda açık bir şekilde görülebilmelidirler (2).

Örneğin kan grubu anne ve baba arasında farklıdır ve ebeveynlerin kan grupları çocuklarda da tam olarak açığa çıkmaktadır. Bu nedenle kan grubu genetik bir marker olarak kullanılabilir. Diğer taraftan boy uzunluğunda iki ebeveyn arasında farklılık göstermesine rağmen, anne ve babanın boy uzunlukları çocuklarda tam olarak açığa çıkmaz ve bundan dolayı yararlı bir genetik marker olarak kullanılamaz.

DNA'nın kalıtım materyali olduğunun bilinmesinden çok daha öncede genetik markerlar biyolojide kullanılıyordu. Gözle görülen markerlar, gözle görülebilen bir sonuç ortaya çıkaran mutasyonlar yirminci yüzyılın başlarından itibaren genetik markerlar olarak kullanılmıştır. Isoenzimlerle birlikte gözle görülebilen markerların kullanılması ile 1970'li yılların sonlarına doğru bazı organizmalarda genetik haritalar ortaya çıkarılmıştır. 1980'li yıllarda kalıtsal olan DNA molekülünün kendisi üzerinde farklılıkların çalışılması ile oldukça fazla sayıda genetik markerların bulunabileceği fikri ortaya atıldı ve bu anlamda RFLP tekniği ortaya çıktı (3).

Genel olarak gözle görülebilen markerlar ve isoenzmarkerları DNA markerları kadar faydalıdır. Fakat pratik uygulamalarda unutulmaması gereken nokta oldukça fazla sayıda DNA markerının bulunmasıdır. Bitkilerin oldukça fazla sayıda nükleotide sahip oldukları bilinmektedir. İki birey arasında bu kadar nükleotid içerisinde küçük miktarda dahi bir farklılık varsa oldukça fazla miktarda DNA markerı açığa çıkabilir.

### ***Genetik Markerlar Arasındaki Linkage'lerin Tespit Edilmesi***

Bir genetik harita, genetik markerların göreceli olarak bir kromozom boyunca birbirlerine olan uzaklıklarını ve onların diziliş sırasını belirtir. Yüksek organizmalarda eşeyli üreme süresince her bir kromozom çiftinin iki kopyası birbirine oldukça yakın olarak sıraya dizilirler. Bazen her bir kromozomun DNA içeren iki ipliği kırılıp ters yönde tekrar kaynaşır ve bir resiprokal değişim veya rekombinasyon oluşturabilirler. Yeni oluşan rekombinant kromozom iki ebeveyn kromozomunun mozağıdır. Bir kromozom üzerinde birbirine oldukça yakın iki pozisyonda bulunan genetik markerlar ender olarak rekombinasyona uğrarlar ve bundan dolayı bir sonraki generasyonun bireylerinde birlikte bulunurlar. Bunun tam tersi olarak, birbirine uzak pozisyonlarda bulunan veya farklı kromozom üzerinde bulunan markerlar oldukça sık olarak rekombinasyona uğrarlar ve bir sonraki generasyonda ebeveynlerden daha farklı kombinasyonlar oluştururlar. Buna göre, yeni generasyonda farklı ebeveynlerden iki markerın alanların oranının belirlenmesi ile % rekombinasyon oranı belirlenebilir ve buradan da her iki marker arasındaki oransal uzaklık tahmin edilebilir. Birbirlerine oldukça yakın mesafede bulunan markerlar düşük bir rekombinasyon oranı gösterirler ve bunların birbirine link oldukları söylenebilir. Fazla sayıda markerın kullanılması ile link olmuş fazla sayıda marker çiftleri bulunup bir kromozom boyunca birbirine yakın mesafede bulunan markerları gösteren genetik haritalar ortaya çıkarılabilir.

### ***Genetik Markerlar ve Kalıtımı Basit Olan Karakterler Arasında Linkage***

20nci yüzyılın başlarında yapılan iki önemli buluş linkage analizinin bitki ıslahında kullanılması yönünde ilk adımların atılmasını sağladı. Bu iki önemli olaydan birisi linkage olayının bulunması idi. Örneğin bir kromozom üzerinde birbirine oldukça yakın mesafede bulunan genetik faktörler ebeveynlerden bir sonraki generasyona birlikte geçerler. Bunun anlamı gözle görülebilen genetik etkisi olan genetik faktörler, yanlarında bulunan fakat etkisi gözle görülmeyen genlerin tespit edilmesinde kullanılabilirler.

Bu yöntemle kalıtımı basit olan karakterlerle bağlantılı olan pek çok genetik marker bulunmuş ve kullanılmıştır. Bunlara verilecek en güzel örneklerden birisi nematoda dayanıklılık geni ile *Aps-Isoenzimi* arasındaki linkage'dir (4). Bitkilerin bir isoenzim veya DNA markerı için test edilebilmeleri bitki gelişiminin çok erken aşamalarında yapılabilir ve bu test bitkilerin zararlılara karşı dayanıklılıklarının tespit edilmesinden çok daha kolaydır. Bu durumda bitkileri zararlılarla bulaştırmaktansa genetik markerın varlığı veya yokluğu tespit edilerek dayanıklı olan bitkiler selekte edilebilir. Bu durumda bitkilerin ortamda doğal bulunan zararlılarla bulaşmasını beklemeye veya serada veya tarlada bulunan bitkilerin yapay olarak bulaştırılmasına gerek kalmaz (5).

### ***Genetik Markerlar ve Kantitatif Karakterleri (QTL) Belirleyen Genler Arasındaki Linkage***

Genetik linkage'in keşfedilmesinden sonra tarımsal verimliliğin genetik analizinin yapılmasında ortaya çıkan ikinci önemli aşama kantitatif kalıtımı açıklayan çoklu faktör hipotezinin ortaya çıkmasıdır (6). Kalıtımı basit olan karakterler için ebeveynler arasındaki 1 veya 2 gen farklılığı bir sonraki generasyonda açığa çıkan %100 farklılığı açıklamaya yeter. Ancak tarımsal verimlilikte kullanılan şekil, hacim, verim veya kalite gibi pek çok ölçüt birden fazla gen tarafından kontrol edilmektedir. Daha da önemlisi bu gibi ölçütler kantitatif olduğu için bir sonraki generasyonda belirli, kesin farklılıklar gösteren sınıflar halinde açığa çıkmaz, ancak çoğunlukla ebeveyn ölçütleri arasında sürekli değişen farklı fenotiplere sahip bireyler olarak görülürler. Fasulyelerde, buğdayda

ve tütünde yapılan araştırmalar farklı fenotiplerde ölçütlerin sürekli bir farklılık göstermesinin birden fazla genin bağımsız olarak hareket etmeleri ve her bir genin tüm fenotip üzerinde sınırlı etkisinin olması ile açıklanabileceği fikrini ortaya çıkardı. Bu genler polygenler olarak veya kantitatif karakter lokus (QTL) olarak tanımlanmışlardır. Daha sonraları bu polygenlerin basit karakterleri kontrol eden genlerden farklılarının olmadığı, bunlarında Mendel kurallarına göre açılım gösterdikleri ve rekombinasyona uğradıkları rapor edilmiştir (7). Bundan dolayı, QTL ile genetik markerlar arasında linkage olup olmadığı araştırılabilir ve eğer varsa her bir QTL'in kromozomlar üzerindeki yeri belirlenebilir.

Son yıllarda isoenzim markerları ve RFLP markerları kullanılarak genetik markerlar ve QTL arasındaki bağlantılar özellikle domatesde (8,9,10,11,12), mısırdı (13) ve diğer pek çok üründe ortaya konulmuştur. Bu yönde yapılan tüm çalışmalar, kantitatif varyasyonların dayandıkları temelleri açıklamada ve bu temeller üzerine dayalı yeni denemelerin kurulmalarında önemli rol oynamışlardır.

QTL'lerin belirlenmesi yönünde yapılan ilk çalışmalar kullanılabilir az sayıda marker olmasından dolayı sınırlı kalmıştır. Sınırlı sayıda markerın kullanımı ile QTL'in markerın genel olarak neresinde olabileceği tespit edilebiliyor ama tam olarak yeri belirlenemiyordu. Fakat daha sonraları genetik haritalara oldukça fazla sayıda markerın eklenmesiyle bu lokusların tam olarak yerlerinin belirlenmesi mümkün olmuştur.

#### ***Her Bir QTL'in Tanımlanması***

DNA markerlarının kullanılması ile her bir QTL kromozom üzerinde bulunduğu yer, herhangi bir karakter üzerine kısmi etkisi, fenotip üzerine olan etkisi ve genin çevreye olan duyarlılığı gibi kriterlerle tanımlanabilir.

#### ***QTL'in Kromozom Üzerindeki Konumu***

Herhangi bir genin kromozom üzerinde bulunduğu yer, bu genin yakınlarında bulunan ve ebeveynlerden bir sonraki generasyona bu genle birlikte geçen markerların yardımı ile belirlenebilir. Bu temel prensip hem fenotip üzerinde büyük etkisi olan kalıtımı basit olan karakterler hemde fenotip üzerinde düşük seviyede etkisi olan QTL'ler için geçerlidir. Tek bir genetik markerın kullanımı ile herhangi bir genin veya kantitatif özellikleri belirleyen genlerin bu markerların yakınlarında bir yerde olduğu belirlenebilir. Fakat bu genin kromozom üzerindeki yerinin tam olarak belirlenmesi için, tüm kromozom boyunca, kromozomun farklı yerlerini tanımlayan fazla sayıda markera ihtiyaç bulunmaktadır. Genetik markerlarla oluşturulmuş bir harita üzerinde, istatistiksel metotların (14) kullanılması ile QTL'lerin bir kromozom üzerinde birbirlerine olan uzaklıkları tespit edilebilir (15). Domatesde her bir kromozomun yaklaşık olarak 1/5'ini ölçen aralıklarla fazla sayıda QTL genetik haritalar üzerinde işaretlenmiştir (15).

Kromozom üzerinde bir QTL'in belirli bir mesafe ile haritalanması veya işaretlenmesi ile, QTL'in kromozom üzerindeki yeri kromozomun 1/50 - 1/100 'ine düşecek şekilde belirlenebilir ki böyle bir oranda domatesde tüm genomun yaklaşık % 0.1'ini oluşturmaktadır. Böyle oldukça hassas hazırlanmış genetik haritalar üzerinde bile QTL'in sadece bir genden oluştuğunu söylemek son derece zordur. Yüksek organizmalı bitkilerde yaklaşık olarak 10000 ile 100000 arasında gen olduğu düşünülecek olursa, domatesde oluşturulan tüm genomun yaklaşık % 0.1'i ortalama olarak 10-100 gene karşılık olarak gelmektedir. Belirli bir özellik üzerinde sınırlı etkisi olan ve yan yana

bulunan fazla sayıda gen, hep birlikte geniş etkisi olan tek bir QTL olarak ortaya çıkabilir (15).

### **Genlerin Dosaj Etkisi**

Bitkilerin çoğunluğu diploid olup, her her bir genin 1 veya 2 kopyasına (allele) veya 0 kopyasına sahip olabilirler. Herhangi bir bireyde bir allelin fenotipik etkisi, o bireyde bulunan aynı genin diğer kopyalarının sayısına bağlı olarak ortaya çıkar. Buna göre heterozigot bir F1 hibrid, ebeveynlerden her bir allelin bir kopyasına sahiptir. Eğer bir F1 hibridin fenotipi ebeveynlere tam olarak benzemiyorsa iki allel arasında ortak, aynı düzeyde bir etki var demektir. Eğer hibridin fenotipi ebeveynlerden birisine tam olarak benzerse, iki allel arasında dominant/resesif bir ilişki var demektir. Bu durumda, dominant allel hibridin fenotipini belirlediği için, bu allelden sadece bir kopya olduğu zaman ortaya çıkarabileceği maksimum etkiyi verebilir. Bunun alternatifi olan resesif allel ise ancak dominant allelin olmadığı bir durumda etkisini ortaya çıkarabilir. Son olarakta, bir allelin süper dominantlık etkisi olabilir.

Gen dosajının etkisinin araştırılmasında genetik markerların kullanılması yönünde çeşitli araştırmalar yapılmıştır (16,17). Esas olarak, ilk önce üzerinde durulan allelin yakınlarındaki genetik markerlar üzerinde çalışılarak her bireyin bu allelin kaç kopyasına sahip olduğu tespit edilmeye çalışılır. İkinci aşamada ortalama olarak kaç bireyin 0, 1, 2 kopya taşıdığı hesaplanır. Son olarak ise istatistiksel metotlar kullanılarak her bir kopya ilave edilmesi ile fenotipde meydana gelen değişikliklerin, ortak etki, ilişkisine, dominant/resesif allel ilişkisine veya süper dominant allel ilişkisinden hangisine tam olarak uyduğu tespit edilir. Ancak unutulmaması gereken önemli nokta bazı zamanlarda bazı QTL'lerin yukarıda adı geçen hiç bir sınıfa girmedikleri ve iki farklı sınıf arasında bir fenotip göstermeleridir.

Diploid bitkilerde gen dosajının çalışılabileceği en ideal populasyon 1;2;1 şeklinde üç farklı genotip için açılım veren F2 populasyonudur. İslah programlarında yaygın olarak kullanılan diğer populasyonlar ise üç farklı genotipi vermedikleri için uygun değildir. Örneğin tek bir tohumdan oluşan veya sürekli olarak kendilemeye tutulan populasyonlarda heterozigot bireyler ya çok azdır veya hiç yoktur. Bundan dolayı süper dominantlıkla ilgili olarak hiç bir etki görülmez ve sonuç olarak ortak etki veya dominant/resesif allel ilişkileri birbirinden ayırt edilemez.

### **Çevresel Etkiler**

Bitki ıslahçıların sık olarak rastladıkları bir durumda bir genotipin belirli bir çevrede yüksek bir performans göstermesi fakat farklı çevre koşullarında aynı performansı göstermemesidir. Genotipler arasında görülen bu farklılıkların bazen belirli bir zararlı grubuna olan duyarlılıktan, fotoperioda karşı verilen tepkiden veya vernalizasyon ihtiyacı gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak belirli bitki ve hayvan genotiplerinin, belirli çevre koşullarına olan adaptasyonu, çevre koşullarına duyarlı QTL'lerden de kaynaklanabilir. Yapılan bir çalışmada üç farklı çevrede genetik harita üzerinde işaretlenen 29 QTL'den 4'ünün (%14) her üç çevre koşulunda, 10'unun (%34) iki çevre koşulunda ve 15'ininde (%52) sadece tek bir çevre koşulunda ortaya çıktığı bildirilmiştir (15).

Bazı QTL'lerin belirli çevre koşullarına duyarlılık göstermeleri bazı çalışmalarda zorluk çıkarabileceği gibi belirli bazı avantajlarda beraberinde getirebilir. Bitki ıslahçıları için

farklı çevre koşullarında fonksiyonel olan QTL'lerle çalışmak bir avantajdır ve arzulanan bir durumdur. Ancak farklı çevre özelliklerine sahip belirli bazı QTL'lerin tek bir genotipe aktarılması ile, farklı çevre koşullarında varyasyon göstermeyen fenotipler elde edilebilir.

### **Bazı QTL'lerin Belirli Karakterler Üzerinde Etkileri**

#### **Heterosis**

Bitki ıslahında en önemli olaylardan birisi heterosis olayının keşfedilmesidir (18). Heterosis bireyin heterozigot olması ile bağlantılıdır. Heterosis gösteren bir F1 kendilemeye tabi tutulacak olursa bir sonraki generasyonda heterosisde görülen yüksek performans artık görülmez ve heterosisde bir azalma meydana gelir. Örneğin mısırdaki ortalama verimin heterozigot marker lokusun sayısının artırılmasıyla yükseltilebileceği ortaya konmuştur.

Heterozigotluk ile heterosis arasındaki bağlantı açık iken, heterozigotluğun heterosis ile sonuçlanması uzun süre tartışılmıştır. Bir F1 hibrid, ebeveynler arasında farklılık gösteren tüm genetik faktörler için heterozigotdur. Böylelikle her iki ebeveyninden gelen dominant faktörler, herhangi bir ebeveyninden gelen ve olumsuz etkisi olan resesif faktörleri engeller ve bu şekilde elde edilen progeny her iki ebeveynin güçlü yönlerine sahip olurken, ebeveynlerde bulunan hiçbir zayıf özelliği taşımaz. Bu teori "dominant heterosis" olarak tanımlanır (19, 20). Bu teoriye alternatif olarak, bir lokusta iki farklı ebeveyn faktörlerini taşıyan bireyler kalıtsal olarak her iki ebeveyndeki üstün olabilir denmiştir. Bu teori heterosisin "süper dominantlık teorisi" olarak isimlendirilir (18).

Esas olarak bu iki temel hipotez içerisinde, heterosisin temeli olarak dominantlığı veya süper dominantlığı birbirinden ayırt etmek son derece zordur. Örneğin, iki dominant gen esas olarak tek bir heterozigot lokus olarak görülebilirler. Hemen hemen kesin olarak söylenebilecek tek nokta hem dominantlık hem de süper dominantlık heterosisin temelini oluşturabilir. Bu durumda genetik markerlar, genlerin tek tek etkilerinin araştırılması konusunda kullanılabilirler ve bu şekilde heterosis gösteren bir özelliğin dominant genler, süper dominant genler veya her iki gen sınıfı tarafından oluşturulup oluşturulmadığı saptanabilir.

#### **Yeni Generasyonların Her İki Ebeveyne Olan Üstünlükleri**

Yeni bazı çeşitler heterosisin dışında olan nedenlerden dolayı da ebeveynlerden daha üstün özelliklere sahip olabilirler. Birbirine yakın olan özelliklere sahip olan iki birey arasında yapılan bir melezlemeden elde edilen yeni generasyonda her iki ebeveyninden daha üstün özelliklere sahip bireyler elde edilebilir. Bu durum daha çok yüksek performans gösteren bitkiler arasında yapılan melezlemelerde daha yaygın olarak ortaya çıkar. Performansı yüksek olan bitkiler farklı genler taşıdığından ve bu genler oluşması mümkün olan rekombinasyonlarla bir sonraki generasyona aktarıldığından, yeni generasyon her iki ebeveyninden gelen üstün özellik genlerine sahip olabilir. Bu durum "transgression" olarak isimlendirilir.

Bu olayın dayandığı temel, genetik markerlar kullanılarak her bir gen düzeyinde çıkarılabilir. Örneğin domatesin (*Lycopersicon esculentum*) iki yabancı formunun (*L. comielevski* ve *L. cheesmanii*) daha yüksek meyve pH'sına sahip olduğu bilinmektedir. D1A markerları kullanılarak yapılan çalışmada her bir yabancı formun bazı alleller taşıdığı ve bunların bazılarının pH'yı yükselttiği (+) ve bazılarının pH'yı düşürdüğü (-) bulunmuştur (18). Bunun sonucu olarak, elde edilen yeni generasyondaki bitkiler ya (+)

allellerinin çoğunu yada (-) allellerinin çoğunu taşımışlar ve ebeveynlerin sahip olduğu pH seviyesinin dışında pH seviyesine sahip olmuşlardır.

Aynı şekilde yine DNA markerları kullanılarak meyve pH'sının dışında, yüksek verim, hastalıklara dayanıklılık, olumsuz çevre koşullarında verimlilik gibi farklı kriterlerin dayandığı genetik esaslar yapılacak çalışmalarla açıklanmaya çalışılıp bitki ıslahçısının hizmetine sunulabilir.

### ***Genler Arasındaki İnteraksiyonlar (Epistatis)***

Bir organizma birden fazla genin hep birlikte oluşturduğu etkiler sonucu meydana gelir ve bu etkileşim içerisinde tek bir gen dahi tam olarak diğer genlerden bağımsız hareket edemez. Klasik kantitatif genetik çalışmalarından elde edilen sonuçlar, genler arasında meydana gelen interaksiyonların (epistatis) bireyin fenotipini etkileyebileceğini ortaya koymuştur (21).

Üzerinde genetik haritalama yapılan çalışmaların ancak belirli bir kısmında epistatis ile ilgili bilgiler açığa çıkarılabilmektedir (21). Bu durum en azından üzerinde çalışılan türler ve özelliklerde epistatis'in açık bir şekilde görülmesinin o kadar kolay olmadığını ortaya koymuştur. Buna ek olarak, genetik haritalama çalışmaları içerisinde kullanılan istatistiksel metotlar epistatis'i tespit etmede kompleks genetik interaksiyonlar yüzünden yetersiz kalabilir.

Epistatis olayının genetik esaslarının açıklanması pratik uygulamalar için bir önem taşıyabilir. Klasik yöntemlerle yapılan ıslah çalışmalarından, genetik faktörlerin hem kalıtımı basit olan karakterlerin kontrolünde hemde QTL üzerinde etkili olduğu ortaya konulmuştur ve bundan dolayı belirli bir düzeyde olan epistatis büyük bir ihtimalle pek çok karakteri etkileyecektir. Fakat genetik markerlarla yapılan çalışmalar sonucu epistatis'in tüm karakterler üzerinde oransal olarak az bir etkisinin olduğu ortaya konarsa, genlerin tek tek tanımlanıp transfer edilmeleri, onların ikili veya üçlü gruplar halinde transferinden çok daha kolay olur.

### ***Islah Programlarının Geliştirilmesi***

Islahçılar tarafından farklı türler ve farklı durumlar, ihtiyaçlar için ortaya konan ıslah çalışmalarının başarılı olması için pek çok sayıda plan ve program yapılmıştır (22). Bununla birlikte tüm bu plan ve programlar esas olarak üç faktör üzerine dayanmaktadır; 1)Kültür formlarında, ırklarda veya türlerde görülen genetik varyasyonun tespit edilmesi, 2)Farklı genotipe sahip olan bireyler arasında melezlemeler yaparak rekombinasyon elde edilmesi ve bu yolla daha üstün özelliklere sahip bireylerin elde edilmesi; 3)Farklı çevre koşullarında yetiştirilen bu yeni bireyler arasında amaca uygun seleksiyon yapılmasıdır.

Bu üç faktörün her birinde genetik markerlar, özellikle DNA markerları kullanılarak ıslah programlarının etkinliği artırılabilir.

### ***Genetik Varyasyonun Tespit Edilmesi***

Kültüre alınmış ürünler içerisinde genetik markerlar kullanılarak bireyler arasındaki benzerlik ve akraba dereceliği saptanabilir. Bu yönde yapılan çalışmaların çoğunluğunda basit ve ucuz olduğundan dolayı isoenzim teknikleri kullanılmıştır. Bu yönde yapılan

çalışmaların büyük bir çoğunluğu mısır üzerinde yoğunlaşmış ve 20 kadar isoenzim markeri kullanılarak genetik varyasyonlar saptanmıştır.

Genetik markerlar yukarıda belirtildiği gibi akrabalık derecelerinin belirlenmesinde kullanılabileceği gibi farklılaşmanın saptanmasında ve belirli yörelere adapte olmuş grupların belirlenmesinde de kullanılabilir. Kültüre alınmış formları içerisinde en fazla farklılaşma mısırdaki olduğu için bu yönde yapılan çalışmalarda yine mısır üzerinde yoğunlaşmıştır. Buna ek olarak, ayrıca dışarıdan tozlanan *Brassica* (23) ve patatesin (24) kültüre alınmış formları içerisinde yüksek düzeyde genetik farklılaşma saptanmıştır. Bu durum domates, soya fasulyesi, buğday, pamuk gibi ürünlerde saptanan genetik farklılaşma seviyesi ile bir zıtlık oluşturmaktadır. Bu ürünlerde genetik markerların gösterdiği varyasyon çok az bulunmuştur. Gözle görülen morfolojik farklılıklara rağmen düşük oranda DNA varyasyonu gözlenmesi iki önemli noktayı açığa çıkarmaktadır;

- 1) Bu sonuçların çıkarıldığı zamana kadar araştırılmış ve tespit edilmiş markerlar, üzerinde çalışılan bitkinin tüm genomunun ancak çok az bir kısmını temsil etmektedir,
- 2) Genetik markerlar tüm genomun oldukça küçük bir kısmını oluşturmalarına rağmen, marker düzeyinde çok düşük varyasyon saptanması zirai önemi olan genlerde bulunan genetik varyasyonun istenen düzeyden çok düşük olduğunu da gösterebilir. Bundan dolayı da aynı ırklar içerisinde bulunan diğer gen kaynaklarının toplanması, sınıflandırılması ve ıslah çalışmalarında kullanılması gerekmektedir. Bu işlemler yapılırken yine DNA markerlarından yararlanılabilir.

#### ***Rekombinasyon ve Seleksiyon***

Üzerinde çalışılan genin belirli bir DNA markerının yanında olduğunun saptanmasından sonra, bu genin etkisinin görülmesi beklenmeden, genin bulunup bulunmadığı rahatlıkla söylenebilir ve bu son derece değerli olabilir.

Bir DNA markeri bitki fide veya fidan aşamasında iken dahi analiz edilebilir ve bu şekilde tüm bitkilerin belirli bir olgunluğa kadar yetiştirilmesine gerek kalmadan istenen DNA markeri taşımayan bitkiler elimine edilebilir.

Bundan daha önemlisi, pek çok karakter daha sağlıklı bir şekilde seleksiyona tabi tutulabilir. Sadece dış görünüşe bağımlı olan bir seleksiyon, dış görünüşün genotipten mi yoksa çevre koşullarından mı oluştuğunun tam olarak bilinmemesi nedeniyle yanıltıcı olabilir (25,26). Ayrıca diğer markerlardan farklı olarak DNA markerları belirli, özel çevre koşullarına gerek kalmadan büyüme odalarında, seralarda, fide ve fidan yetiştirme yerlerinde analiz edilebilirler ve bu durumda ıslah çalışmalarının daha hızlı sonuçlanmalarını sağlar.

DNA markerlarının analiz edilmesi ile bir popülasyon içerisinde bulunan bireylerin hangilerinin birbirlerine benzedikleri ortaya çıkarılabilir. Klasik ıslahda kullanılan seleksiyon genelde zayıf bir seleksiyon yöntemi olup, yaklaşık olarak tüm popülasyonun %25'i bir sonraki aşamada yapılacak çalışmalar için ayrılır. Fakat genetik markerların kullanılması ile birbirlerine benzeyen ve üzerinde durulan genleri içeren daha az sayıda birey ileri aşama çalışmaları için ayrılabilir.

DNA markerlarının yer ve zaman tasarrufu için taşıdığı önem pek çok tür için geçerli olup, özellikle geniş yer kaplayan ve uzun bir generasyon süresine ihtiyaç olan ağaçlar için çok daha belirgindir.



### ***Gen Kaynaklarının Islah Çalışmalarında Kullanımı***

Türlerin yabani formları pek çok önemli özelliğin kaynağı olup, bunların sahip olduğu potansiyelin ancak çok az bir kısmı ıslah çalışmalarında kullanılabilmiştir. Yabani formlarda herhangi bir genetik özelliğin gösterdiği varyasyon, kültüre alınmış ve oldukça uzun bir süre seleksiyona uğramış olan kültür formlarındaki varyasyonlardan çok daha fazladır.

Hastalıklara ve zararlılara dayanıklılık gibi kalıtımı basit olan karakterlerle, çözülebilir katı madde gibi QTL karakterleri yabani formlardan kültür formlarına aktarılmışlardır. Yabani formlar zirai önemi olan karakterlere sahip olmalarının yanısıra, onların doğada yaşamalarına yardımcı olan ancak zirai önemi olmayan diğer bazı karakterlerde sahiptirler. Bunlara örnek olarak dormansi, boy uzunluğu, vejetatif büyüme, hoş olmayan tat ve koku, bazı toksinler, dikenlilik ve küçük çekirdekli meyveler verilebilir. Islahçılar bu istenmeyen karakterleri, istenen karakterlerden ayıramıyacakları endişesi ile yabani formları kullanmaya karşı bir isteksizlik duyarlar. Her yönüyle mükemmel olan bir varyetede, pazar veya tüketici isteklerinin dışında, küçük oranda bile olsa bir özellik varsa bu varyete pazarda istenmez.

Bu katı ve tutucu pazar istekleri sonucu, bazı ürünlerde genetik farklılaşma son derece azalmış ve bir varyasyon yaratmak için yabani formlardan yararlanma kaçınılmaz olmuştur. Bu amaçla yapılan bir melezleme sonucu, ebeveyn genotipinde meydana gelen bozulma veya karışıklık genetik markerlar kullanılarak kontrol altında tutulur. Genetik markerlar kullanılarak istenen genlerin hangi kromozom üzerinde, hangi bölgede buldukları ve hangi bireylerin bu kromozom bölgelerini taşıdıkları tespit edilir. Daha sonra üzerinde çalışılan genlerin yakınlarında bulunan genetik markerlar seçilerek, yabani ebeveyninden gelen özellikler tutulurken geriye melezleme yapılarak da kültür formunun genotipi korunabilir (27).

Yapılan işlemler basit gibi görülmesine rağmen bazı zorluklarda karşılaşmaktadır. Geriye melezleme ile transfer edilen kromozom kısımları veya diğer adı ile linkage blokları genelde geniş olup üzerinde istenmeyen genleride taşımaktadır (28). Normalde böyle istenmeyen linkageler, kromozomları homojenleştiren rekombinasyonlarla ortadan kalkabilir. Ancak yabani ve kültür formları arasındaki kromozomlarda olduğu gibi birbirinden oldukça farklı kromozom kısımlarında rekombinasyonun oldukça az meydana geldiğide bilinmektedir ve bu nedenle en çok ihtiyaç duyulan yerde homojenleştirme meydana gelmemektedir. Bunun sonucu olarak yabani formdan gelen, istenmeyen, geniş kromozom parçaları pek çok generasyon boyunca kültür formunda istenen özelliklerle birlikte kalabilir. Örneğin domatesde yapılan bir çalışmada meyve kuru madde içeriği artırılırken, meyve iriliğinde azalma meydana gelmiştir.

Genetik markerlar, bu tür bağlantıların farklı genler arasındaki interaksiyonlardan kaynaklandığının gösterilmesinde kullanılabilir. Yine aynı markerlar, rekombinasyonla istenmeyen bağlantıların kaybolduğu, sayıları az olan bireylerin tespit edilmesinde kullanılabilir. İstenmeyen karakterlerin yok edilmesi için bir kaç generasyon boyunca, sürekli geriye melezleme yapılmasındansa, genetik markerlar kullanılarak daha geniş populasyonlar taranabilir ve istenen rekombinantlar daha önceki generasyonlarda elde edilebilir. Bu sayede kültür formunun genotipinde meydana gelen bozulma minimum seviyeye indirilirken bir yandanda yabani formlarda istenen karakterlerin aktarımı mümkün olur.

### ***Kültür Bitkileri İle Onların Yabani Formları Arasındaki Evolüsyon İlişkileri***

Genetik markerların en önemli kullanım alanlarından biriside türler, cinsler veya daha geniş taksonimik gruplar arasında evolüsyon açısından ilişkilerin ortaya konulmasıdır. Bu tür çalışmalar fazla sayıda genetik markerlar kullanılarak üzerinde çalışılan gruplar arasındaki benzerlik veya farklılıkları ortaya koyma esasına dayanır.

Bu tür çalışmalar sadece akademik bir çalışma özelliği taşımayıp, aynı zamanda yeni keşfedilmiş gen kaynaklarının sınıflandırılmasında ve bunlardan hangilerinden kültür formlarına gen aktarımının mümkün olabileceğinin belirlenmesinde de yardımcı olmaktadır (29).

Bazı durumlarda bazı türler için kromozom organizasyonu sonucu oluşan evolüsyonla ilgili değişikliklerin sonuçları incelenmiştir. Örneğin domates kromozomlarının patates kromozomlarına oldukça benzedikleri rapor edilmiştir. Toplam olarak 134 genel markerla yapılan çalışmada 7 kromozomda hiç bir değişiklik görülmemiş, geriye kalan 5 kromozom üzerinde de sadece 7 inversiyon gözlenmiştir (30). Biber ve domates kromozomları arasında homolojiyi gösteren ortak DNA markerları olmasına rağmen, her iki kromozom grubunun evolüsyon süresince yeniden yapılanma ile oldukça farklılıklar gösterdikleri bildirilmiştir (31).

### ***Sonuç***

Sonuç olarak DNA markerları kantitatif biyoloji içerisinde sorulan pek çok kompleks sorunun cevaplanmasında önemli bir araç olarak ortaya çıkmaktadır. DNA markerları genetik markerların sayısını hızla artırmış ve tarımsal verimliliğin artırılması konusunda bitki ıslahçıların programlarında yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Şu anda günümüzde kabul edilen genel inanç, genetik markerlar gelecekte zirai bilimlere ve diğer biyolojik bilimlere önemli katkılarda bulunacaktır.

### ***Kaynaklar***

1. Andrew H. Paterson, Steven D. Tanksley, and Mark E. Sorrels. DNA markers in plant improvement. *Advances in plant Agronomy* Vol, 46, 1991.
2. P. Arus and J. Moreno Gonzalez. Marker assisted selection. *Plant Breeding*. Eds. M.D. Hayward, N.O. Bosemark, I. Romagosa, pp. 314-332, 1993.
3. Botstein, D., White, R.L., Skolnik, M., and Davis, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using RFLP, *Am. J. Hum. Genet.* 32, 314-331, 1980.
4. Rick, C. M. and Fobes, J.F. Association of an allozyme with nematode resistance. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, 24, 25. 1974.
5. Young, N.D., Zamir, D., Ganai, M.W. and Tanksley, S.D. Use of isogenic lines and simultaneous probing to identify DNA markers tightly linked to Tm-2a gene in Tomato. *Genetics.* 120, 579-583. 1988.
6. East, E.M. Studies on size inheritance in *Nicotiana*. *Genetics.* 1, 164-176. 1915

7. Gelderman, H. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers. I. Methods. *Theor. Appl. Genet.* 46, 319-330. 1975.
8. Tanksley, S.D., Medina-Filho, H. and Rick, C.M. Use of naturally occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato. *Heredity*, 49, 11-25. 1982.
9. Osborn, T.C., Alexander, D.C. and Fobes, J.F. Identification of restriction fragment length polymorphisms linked to genes controlling soluble solids content in tomato fruit. *Theor. Appl. Genet.*, 73, 350-356. 1987.
10. Weller, J.I. Mapping and analysis of quantitative trait loci in *Lycopersicon* (tomato) with the aid of genetic markers using approximate maximum likelihoods method. *Heredity*, 59, 413-421. 1987.
11. Tanksley, S.D. and Hewitt, J. Use of molecular markers in breeding for soluble solids content in tomato. A re-examination. *Theor. Appl. Genet.*, 75, 811-823. 1988.
12. Martin, G.B., Williams, J.G.K. and Tanksley, S.D. Rapid identification markers linked to a *Pseudomonas* resistance gene in tomato by using random primers and near-isogenic lines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 2336-2340. 1991.
13. Stuber, C.W., Edwards, M.D. and Wendel, J.F. Molecular marker facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. II. Factors influencing yield and its component traits. *Crop. Sci.*, 27, 639-648. 1987.
14. Lander, E.S., Botstein, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 121, 185-199. 1989.
15. Paterson, A.H., Lander, E.S., Hewitt, J.D., Paterson, S., Lincoln, S.E. and Tanksley, S.D. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature*, 335, 721-726. 1988.
16. Soller, M., and Beckman, J.S. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet.*, 67, 25-33. 1983.
17. Edwards, M.D., Stuber, C.W. and Wendel, J.F. Molecular marker-facilitated investigations of quantitative-trait loci in maize. I. Numbers, genomic distribution and types of gene action. *Genetics*, 116, 113-125. 1987.
18. East, E.M. Inbreeding in corn. *Rep. Conn. Agric. Exp. Stn.* 1907 pp. 419-428. 1908.
19. Bruce, A.B. The Mendelian theory of heredity and augmentation of vigor. *Science*, 32, 627-628. 1910.
20. Keeble, F., and Pellew, C. The mode of inheritance of stature and flowering time in peas (*Pisum sativum*). *J. Genet.* 1, 47-56. 1910.

21. Allard, R.W. Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. *J. Hered.* 79, 225-238. 1988.
22. Allard, R.W. Principles of plant breeding, Wiley, New York.
23. Figdore, S.S, Kennard, W.C., Song, K.M., Slocum, M.K., and Osborn T.C. Assesment of the degree of restriction fragment length polymorphism in Brassica. *Theor. Appl. Genet.*, 75, 833-840. 1988.
24. Gebhardt, C., Blomendahl, C., Schachtschabel, U., U., Debener, T., Salamini, F., and Ritter, E. Identifacation of 2n inbreeding lines and 4n varieties of potato (*Solanum tuberosum*, ssp. *tuberosum*) with RFLP fingerprints. *Theor. App. Genet.* 78. 16-22. 1989.
25. Burr, B., Evola, S.V., Burr, F.A., and Becmann, J.S. The application of restriction fragment length polymorphism to plant breeding. In "Genetic Engineering" Vol.5. Plenum New York.
26. Lande R., and Thompson, R. Efficiency of marker assisted selection in the plant improvement of quantitative traits. *Genetics.* 124, 743-756.
27. Young, N.D., and Tanksley, S.D. RFLP analysis of the size of chromosomal segments retained around the Tm-2 locus of tomato during backcross breeding. *Theor. Appl. Genet.*, 77, 353-359. 1989.
28. Hanson. W.D. Early generation analysis of lengths of heterozygous chromosome segments around a locus held heterozygous with backcrossing or selfing. *Genetics*, 44, 833-837. 1959.
29. Dewey, D.R. The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae. *Stadler Genet. Symp.* 16, 209-281. 1984.
30. Bonierbale, M.W., Plaisted, R. L., and Tanksley, S.D. RFLP maps based on a common set of clones reveal modes of chromosomal evolution in potato and tomato. *Genetics*, 120, 1095-1103. 1988.
31. Prince, P.J., Pochard, E., Tanksley, S.D. Construction of molecular linkage map of pepper and comparison of syntenhy with tomato. *Genome*, 36, 404-417. 1993.