

# SEBZE ISLAHINDA IN VİTRO TEKNİKLER VE BİYOTEKNOLOJİNİN KULLANIM ALANLARI

H. Filiz BOYACI<sup>1</sup>

Türkiye’de örtü altı yetiştiriciliği ilk defa 1940’lı yıllarda Antalya’da kurulan seralarda başlamıştır (SEVGİCAN, 1989). Günümüzde ülkemizin örtü altı alanının %91.6’lık kısmı Akdeniz Bölgesindedir. Geriye kalan kısmın %7.4’ü Ege Bölgesinde ve %1’lik kısmı diğer bölgelerdedir.

Ülkemizde sera alanlarının yaklaşık %95’inde sebze, %4.1’inde süs bitkileri ve %0.9’unda meyve yetiştirilmektedir. Cam ve plastik sera alanlarında yetiştirilen sebze türleri içerisinde birinci sırayı %44.6 ile domates almakla birlikte hıyar, patlıcan, dolmalık ve sivribiber, sakız kabağı, fasulye, kavun, karpuz, yetiştirilmektedir (CEVRI ve ark., 2000).

Bölgemizde en fazla yetiştirilen türler; domates, hıyar, biber ve patlıcandır. Bu türlere ait çeşitlerin tohumlarının tamamına yakını hibrittir ve çoğu yabancı orijinlidir (EKİZ ve BOYACI, 2001). Hibrit sebze tohumu bakımından dışa bağımlı olmamız sonucu son yıllarda kendi çeşitlerimizin geliştirilmesi amacıyla araştırma kuruluşları ile özel kuruluşlarda ıslah çalışmaları başlatılmıştır. Ülkemizde sebze türlerinde oldukça gecikmiş olarak başlayan ıslah çalışmalarının hızlandırılması gereklidir.

Bitki ıslahında kullanılan geleneksel yol, amaçlara uygun olarak seçilmiş ebeveyn bitkiler arasında yapılan melezlemelerle işe başlamaktır. İstenilen karakter kuruluncaya kadar bir çok generasyon kendilenir ve melezlenir. Geleneksel ıslah yöntemi her ne kadar pek çok bitkide uygulanıyorsa da zaman ve kaynak kullanımı bakımından dezavantajlara sahiptir. Bitki doku kültürleri ve biyoteknoloji alanlarında olan gelişmeler bu tekniklerden ıslahta doğrudan veya dolaylı olarak yararlanma imkanı doğurmuştur (GÖNÜLŞEN, 1993).

## 1. IN VİTRO TEKNİKLERİN SEBZE ISLAHINDA KULLANIM ALANLARI

Bitki doku kültürleri alanında 1970’lerden sonra olan gelişmeler bu teknikten ıslahta yararlanma şansını doğurmuştur. Bitki doku kültürlerinin ıslahta doğrudan veya dolaylı olarak kullanılması çeşitli şekilde olmaktadır (GÖNÜLŞEN, 1987).

### 1.1. Üretim

Genellikle kök, kotiledon, hipokotil, gövde, yaprak, sürgün, meristem, tomurcuk, boğum ve boğum arası parçalar ve embriyolar besin ortamında kültüre alınarak kısa sürede bitkicik elde edilmektedir. Mikro besin elementleri, vitaminler, hormonlar, karbon kaynakları, nitrojen kaynakları, aminoasitler kullanılan besin ortamının önemli bileşimlerini oluşturmaktadır. Üretimdeki

<sup>1</sup> Zir. Yük. Müh., Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü - ANTALYA

başarı kullanılan explantın yaşı, fotoperiyot, sıcaklık, ışık yoğunluğu ile besin ortamının bileşimine bağlıdır (DIXON, 1985). Bu nedenle araştırmacılar çoğaltım için sebze türü ve kullanılan explanta göre farklı besin ortamı geliştirmişlerdir. Sebze türlerinin bu teknikle üretilmesinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Bu yöntem erkek steril, kendine uyumsuz ve haploidler gibi bazı ıslah materyallerinin tohumla kolaylıkla çoğaltılmadığı durumlarda avantaj sağlamaktadır (KALLOO, 1986). Ayrıca ıslahçılar hibrit tohum üretimi için diploid ve tetraploid tozlayıcılar geliştirmek amacıyla bu tekniklerden yararlanılabilmektedir. Buna ilaveten erkek kısır iki yıllık bitkilerde hastalık ve zararlılara dayanıklı verimi yüksek bitkilerin seçimi gibi kompleks bir ıslah programı, üstün tiplerin seçilip klonal olarak üretimi ile basitleştirilebilmektedir (GÖNÜLŞEN, 1987)

## **1.2. In Vitro Tozlanma ve Döllenme Teknikleri**

Bu yöntem üç şekilde uygulanmaktadır.

### **1.2.1. Stigma tozlanması ve döllenmesi**

Bu yöntemde erkek kısır organları uzaklaştırılmış bir çiçek bilinen sterilizasyon yöntemleriyle sterilize edilerek dişi organın besin ortamına yerleştirilir. Sterilize edilmiş olgun bir anterden alınan polen stigma üzerine yerleştirilir. Bitkinin normal doğa koşullarındaki tozlanma ve döllenmesine benzeyen bu yöntem yumurtalığın olgunlaşmadan öldüğü *Pisum sativum* türlerinde uygulanmaktadır.

### **1.2.2. Plesanta döllenmesi**

Bu yöntemde çiçek sterilize edilir ve döllenmemiş yumurtaları kapsayan plasenta stero mikroskop altında izole edilir. İzole edilen plasanta besin ortamına yerleştirilir. Açılmak üzere olan anterler sterilize edilir ve anterler açılarak içindeki polen daneleri yumurtalara yakın kısma yerleştirilir. Bu işlemden sonra polen danelerinin çimlenip çimlenmedikleri embriyo kesesine erişip erişmedikleri kontrol edilir.

### **1.2.3. İzole edilmiş yumurtanın in vitro döllenmesi**

Bu yöntem plasanta döllenmesine benzemektedir. Ancak in vitro döllenmiş yumurtadan embriyonun oluşması çok güç olduğundan bu yöntemin uygulanması çok başarılı değildir.

In vitro tozlanma ve döllenme tekniklerinin sebze ıslahında ile kullanım alanları:

a) Kendine uyumsuzluğun önlenmesi :

Plesanta tozlanması tekniği ile bazı durumlarda tamamıyla kendine uyumsuz olan bitkilerde kendilenmiş döllerin elde edilmesi mümkün olabilmektedir.

b) Melezlenme uyumsuzluğunun önlenmesi :

Doğada normal olarak mümkün olmayan türler ve cinsler arası melezlemeler in vitro tozlama ve dölleme teknikleri ile başarılmıştır.

c) Haploid bitkilerin elde edilmesi :

Bir tür başka bir türün polen tozlarıyla in vitro koşullarda döllenerek haploid bitkiler elde edilebilmektedir.

d) Çiçek veya yumurtalığın ana bitki üzerinde olgunlaşmadan döküldüğü durumlarda tohum elde edilmesi :

Böyle durumlarda stigma tozlama ve döllemesi ile tohum elde edilebilmektedir.

e) Dölleme fizyolojisinin incelenmesi amacıyla kullanılmaktadır (HATİPOĞLU, 1993).

## **2. VARYASYON**

Bitki ıslahında en önemli amaçlardan biri istenilen özelliklere sahip homojen bitkileri elde etmektir. Bu da varyasyon yaratma ve bunlar içerisinde istenilen karakterlere sahip bireylerin seçimi ile gerçekleştirilebilmektedir. Varyasyon yaratma konusunda doku kültürlerinden başlıca dört şekilde yararlanılmaktadır (GÖNÜLŞEN, 1987).

### **2.1. Embriyo Kültürü**

Embriyo kültürü olgunlaşmış veya olgunlaşmamış embriyonun in vitro kültüre alınarak bitki elde edilmesi tekniğidir (PIERIK, 1989). Temel araştırmalar ve dormansiyi ortadan kaldırmak için uygulanabilen embriyo kültürleri türler arası ve cinsler arası melezlerin elde edilmesi açısından ayrı bir öneme sahiptir. Uzak melezlemelerde döllenmeden sonra belirli bir dönemde embriyonun gelişmesinin aksaması ve düşmesi melez tohum oluşmasına engel olmaktadır. Embriyonun gelişmesindeki aksaklık herhangi bir dönemde ortaya çıkabilir. Embriyo bu aksaklığın ortaya çıkmasından önceki bir dönemde in vitro kültüre alınmalıdır (EMİROĞLU VE GÜREL, 1993).

Özellikle dayanıklılıkla ilgili ıslah çalışmalarında yabancı türlerden gen aktarımı konusunda türler arası melezlemelerde sorunlarla karşılaşmaktadır. Bazı türlerde melezlemeden 6 ile 25 gün sonra embriyo aborsiyonu görülmektedir. Fakat embriyo kültürü yöntemi ile bu sorunun üstesinden başarı ile gelinebilmektedir. Hibrit embriyo aborsiyondan önce in vitro kültüre alınıp kurtarılabilir. Bu teknik özellikle domatesin türler arası melezlemelerinden elde edilen hibrit tohumundan elde edilen ilk geriye melezlemesinde gereklidir. (KALLOO, 1986, HATİPOĞLU, 1993).

Bu sorunların dışında embriyo kurtarma tekniği yetiştirme ve ıslah sürecinin kısaltılması amacıyla kullanılmaktadır. Tohum kabuğu veya endospermdeki bazı engelleyiciler nedeniyle tohumlar dormansi göstermektedir. Embriyo kültürü tekniği ile bu türlerde çok kısa sürede çimlenme sağlanmakta ve türlerin yetiştirme süreleri kısalmaktadır.

### **2.2. Somaklonal Varyasyonlar**

In vitro kültür sırasında ortaya çıkan ve rejenere olan bitkilerde gözlenen değişiklikler somaklonal varyasyon olarak adlandırılmaktadır. In vitro kültürde rejenere olan bitkilerin genetik yapılarında değişiklik nedeniyle ortaya çıkan varyasyonlar kalıtsaldır ve bu değişiklik dölden dölle geçerek devam

etmektedir. Bugüne kadar in vitro kültürde ortaya çıkan genetik değişimlerin nedenleri çok tartışılmıştır. Ancak bu değişikliklere neden olan faktörler tam olarak açıklanamamıştır. Bununla birlikte bazı faktörlerin in vitro kültürde genetik değişimlerinin ortaya çıkmasında belirleyici faktörler olduğu ortaya konmuştur. Bu faktörler :

a) In vitro rejenerasyon yöntemi :

Embriyogenik olmayan kallustan organogenesis yoluyla rejenere olan bitkilerde genellikle büyük genetik varyasyonlara rastlanmaktadır.

b) Kullanılan explant

Genellikle poliploid türler in vitro kültürde diploid türlere göre daha fazla genetik varyasyon göstermektedir.

c) Besin ortamının değişimi

In vitro kültürde kullanılan besin ortamının bileşimi özellikle oksin ve sitokinin içeriği in vitro kültürde genetik stabiliteyi etkilemektedir.

d) Alt kültür sayısı

Genel olarak alt kültür sayısı arttıkça ve kültür sayısı uzadıkça in vitro kültürde genetik varyasyonun ortaya çıkma şansı artmaktadır (HATİPOĞLU, 1982).

Somaklonal varyasyonun gelişmesi ve araştırmacıların bu konu üzerinde yoğun çalışmaları ile son yıllarda *Apium graveolnes*'in ıslahı için büyük oranda dikkate alınmıştır. Sebze ıslahında kullanılan genetik varyasyonların oluşturulmasında potansiyel bir kaynaktır. *Lactuca sativa*, *Allium spp.*, *Lycopersicon esculentum* türlerinde çok sayıda somaklonal varyasyonlar gözlenmiştir (KALLOO, 1986).

Domateste geleneksel ıslah yöntemleri büyük bir başarı ile kullanılmış ve çok hızlı bir ilerleme kaydedilmiştir. Buna rağmen biyoteknoloji çalışmaları hızla ilerlemektedir. Sebebi mevcut bilgilere yeni teknoloji uygulandığında sonuçlar daha kesin ve anlamlı olmaktadır.

In vitro koşullarında diğer bir çok bitkide olduğu gibi domates bitkisinin hücrelerinde spontan mutasyonlar ortaya çıkmaktadır. Klonal tarzda üretim için olumsuz olan bu durumda ıslah amacıyla yararlanılabilmektedir. Domateste özellikle monogenik karakterleri kontrol eden genlerde ortaya çıkan olumlu mutasyonlardan yararlanılabilmektedir. Kısaca somatik mutasyonların klonlanması sonucunda dominant, semidominant resesif mutasyonlar olduğu görülmektedir. Mutagenler kullanılarak yaratılan mutasyonlarda farklı tek gen mutasyonlarının somaklonal varyasyon sonucunda elde edilmektedir. Sonuç olarak somaklonal varyasyonlar tarımsal açıdan önemli yeni ıslah hatlarının elde edilmesinde olanak sağlamaktadır (TANRISEVER, 1993).

In vitro kültür yoluyla çoğaltılan bitkilerde gözlenen varyasyona bitkilerin genetik yapılarına ortaya çıkan değişiklikler neden olabileceği gibi kalıtsal olmayan faktörlerde bu tip varyasyonlara neden olmaktadır (HATİPOĞLU, 1993).

Vejetatif çoğaltma yöntemlerinden (adventif sürgün oluşturma, kallus kültürü, hücre süspansiyon kültürü) gibi bazı in vitro yöntemlerde oluşan genetik varyasyon ve mutasyon büyük dezavantaj olarak görülmektedir

(KALLOO,1986). Diğer taraftan mutasyonların çoğunun meydana geldiği genin resesif olduğu gözlenmektedir. Bu nedenle diploid veya poliploid doku kültürlerinde resesif kültürlerin değerlendirilmesi mümkün olmamaktadır. Alleli olan gen veya genler tarafından etkisi gizlenmektedir (EMİROĞLU VE GÜREL, 1993).

Somaklonal varyasyonlar gibi epigenetik yani çevre etkisi ile ortaya çıkan varyasyonlarda olmaktadır ki bu da genlerdeki değişikliğin bir sonucudur. Ancak kalıtsal değildir. Epigenetik varyasyona örnek olarak;

- 1- In vitro çoğaltımda virüssüz bitki elde etmek için ya meristem kültürü yada adventif sürgün oluşturma sırasında ortaya çıkmaktadır. Bu virüssüz bitkiler virüslü bitkilerden dış görünüş olarak tamamen farklı olabilir.
- 2- Doku kültüründe kullanılan oksin ve sitokinin kullanımı sonucu farklı fenotipler gözlenmektedir. Bunlar yüksek derecede dallanma, kalınlaşma, renk değişimi gibi. Ancak değişim görünüşte olup mutasyon değildir.
- 3- Bitkiler fizyolojik hastalık sonucu olarak anormal görünüşe sahip olabilirler buna vitrifikasyon denir.
- 4- Bitkilerde stomanın morfolojisi veya sayısı yada kütüküla tabakasının bileşimi gibi değişikliklere uğrayabilir. Bu da çok yüksek nisbi nem gibi özel in vitro iklim koşullarına bağlıdır.
- 5- In vitro generasyondan sonra oluşan morfolojik farklılıklar dikkate alınmalıdır. Çünkü bunlar başlangıç materyaline göre mutasyon görünümüne sahiptirler. Fakat bu durum donör bitkinin orijinal yapısıyla ilgilidir. Alınan explant vejetatif veya generatif sürgün olarak rejenere olabilir veya bazen de bir sürgün yetişkin yada gençlik karakteristik özelliği ile gelişebilir

Araştırmacılar in vitro kültür sırasında oluşan mutasyon değişimi ve sıklığını etkileyen faktörleri saptamışlardır. Buna göre;

1. Kullanılan vejetatif çoğaltma yöntemi
2. Kimeralı bitki kullanılmışsa
3. Kullanılan büyüme düzenleyicisi
4. Kullanılan doku tipi
5. Başlangıç materyali
6. Alt kültür sayısı

Mutasyon değişimi ve sıklığını etkilemektedir.

Son yıllarda araştırmacılar doku kültürü ile üretilen bitkilerden oluşan mutantları izole etmek için çalışmaktadırlar. Bu mutasyonlar somaklonal varyasyonlar sonucu oluşmaktadır. Hücre kültürü ile seleksiyon yolu ile hastalıklara dayanıklı bitki eldesi üzerine yapılan çalışmalar vardır (PIERIK, 1989).

### 2.3. Somatik Hibridizasyon

Somatik hibridizasyon farklı tür cins ve familyadaki iki somatik hücrenin birleşmesidir. Bu yöntem protoplast füzyonu yada paraseksüel hibridizasyon olarak da bilinir. Somatik hibridizasyon interspesifik ve inter genetik melezlemelerden büyük bir avantaj sağlamaktadır. Sebzelerde tür ve cinslerde uyumsuzluk gibi engellerle karşılaşmaktadır. Bu yöntemle melezlemede döllenme öncesi veya döllenme sonrası görülen yaygın engellerin üstesinden gelinmektedir. Kültür bitkilerine yabancı türlerle bazı dayanıklılık genlerinin transferini olanaklı kılmaktadır (KALLOO,1986).

Gelişmiş bitkilerde varyasyonun artırılması açısından yapılan somatik hücrelerin birleşmesi (füzyon) doğal şartlarda meydana gelmemektedir.

Seksüel açıdan birleşme şansına sahip olmayan uzak akraba türlerinin melezlenmesi bu şekilde protoplastlar kullanarak gerçekleştirilmektedir (GÖNÜLŞEN, 1993).

Köklerden, yapraklardan ve hücre kültürlerinden elde edilen protoplastlar somatik hibridizasyonda kullanılmaktadır (KALLOO,1986).

Somatik hibridizasyona veya protoplast füzyonuna klasik bir örnek olarak *Solanecae* familyası örnek verilebilir. *Solanum* ve *Lycopersicon* cinsi doğada melezlenmemektedir.

Fakat bu cinslerde protoplast füzyonunun ıslah için büyük öneme sahiptir. Bunun dışında patlıcanın yabancı türleri kök nematodlarını yüksek derecede toleranstır. Kültür formları ile yabancı türlerde doğal melezleme ile başarı sağlanamamaktadır. Ancak somatik hibridizasyon yöntemi ile bu dayanıklılık genlerinin kültür formlarına aktarıldığına dair çalışmalar vardır (KALLOO,1986).

### 2.4. Ovul ve Anter Kültürü

#### 2.4.1. Ovul Kültürü

Döllenmemiş yumurta hücrelerinin in vitro kültürü yoluyla haploid bitkilerin elde edilmesi tekniğidir. Bu tekniğin *Compositae* familyası gibi bazı familyalarda anter ve mikrospor kültüründen daha başarılı olacağı belirtilmektedir (HATİPOĞLU, 1993).

#### 2.4.2. Anter Kültürü

Anter kültürü bir bitkide izole edilen anterlerin uygun bir besin ortamına yerleştirilerek olgun olmayan polen danelerinden bitki geliştirilmesi tekniğidir. Elde edilen haploid yapıdaki bitkinin kromozom sayısı kolhisin yardımıyla iki katına çıkarılarak bir yılda %100 homozigot diploid yapıda bitki elde etmemizi sağlamaktadır (KELLER, 1988).

Haploid bitkiler türünün kromozom setinin yalnızca birini taşımasıyla bitki ıslahı ve genetiği açısından çok önemli yarar sağlamaktadır. Sebze ıslahı açısından saf hatların meydana gelmesi yabancı döllenmiş türlerde kendileme depresyonu görülen türlerde daha büyük önem taşımaktadır (SARI ve ark., 1992).

Dihaploid bitkilerin oluşturduğu populasyonlarda genetik varyans büyük ölçüde eklemeli gen etkisinden kaynaklanmakta ve dominantlık etkisi bulunmaktadır. Dolayısıyla ıslahçı seleksiyon sırasında yanıtıcı dominantlık varyansından kurtulmakta ve eklemeli gen etkisinden gelen varyansı daha iyi değerlendirmekte, bu da seleksiyon etkinliğini ve seleksiyonla elde edilen genetik ilerlemeyi yükseltmektedir. Bu teknik biber, patlıcan, kuşkonmaz ve lahanaya gibi türlerde uygulanmaktadır (ABAK ve ark, 1996).

Anter kültürü tekniği özellikle *Cruciferae* familyası sebzeleri gibi kendine uyumsuz yabancı döllenmiş ve bu nedenle saf homozigot hatların elde edilmesi güç olan bitki türlerinden ayrı bir önem taşımaktadır. *Brassica oleracea*'nin bir çok formunda anter kültürü uygulamalarından olumlu yanıtlar alınmış ve bu yolla haploid embriyo ve bitki elde etmek mümkün olmuştur.

Brüksel lahanası, karnabahar, brokkoli ve baş lahanalarda anter kültürü yoluyla haploid bitki elde edilmişse de embriyo oluşum değeri düşüktür.

Anter kültürü yoluyla saf hatlar değişik amaçlarla kullanılabilir.

### **1. Seleksiyon ıslahında**

Yetiştiriciliği yapılan karışık çeşitler veya populasyonlar kısa sürede saflaştırılabilir. Bu materyallerden çekilen haploidlerin katlanması ile elde edilen hatlar arazi koşullarında değişik lokasyonlarda denenerek bir kaç yılda ilginç, saf, adaptasyon yeteneği geniş çeşitler geliştirilebilir (ABAK, 1986).

### **2. F1 hibrit gücü ıslahında**

Ebeveyn olabilecek materyalin hazırlanma süresi 5-6 generasyondan bir yılda çekilebilmektedir. Kendileme işlemi ortadan kaldırılabilir, katlanmış haploid hatlar doğrudan doğruya genel ve özel kombinasyon yeteneği testlerine alınmaktadır.

### **3. Mutasyon ıslahında**

Diploid materyale uygulanan mutasyonların resesif yönden yarattığı mutasyonlar böyle materyalden çekilen haploidler yardımıyla ilk generasyondan belirlenebilmektedir.

### **4. Hastalıklara dayanıklı çeşit ıslahında**

Dayanıklı ve duyarlı çeşitlerin melezlemesinden elde edilen bitkilerden anter kültürü ile elde edilen haploidler yine katlanmakta, bu hatlardan çok sayıda ırka mukavemeti aynı anda kontrol edilebilmektedir.

### **5. Melezleme çalışmaları**

Başlangıç melezlemelerinden sonra açılım generasyonlarında homozigotlaştırma için gerekli 6-7 generasyonluk süre bir generasyona indirilebilmektedir.

F1 veya F2 generasyonundan çekilen haploidlerin katlanmasıyla oluşturulan hatlardan erken generasyon testleri yapılır ve hemen verim denemelerine geçilebilir. Bu yolla kombinasyon ıslah süresi 12-13 yıldan 5-6 yıla indirilebilmektedir (ABAK, 1986).

## 2. BİYOTEKNOLOJİNİN KULLANIM ALANLARI

Günümüzde bitki biyoteknolojisi özellikle bitkilere gen aktarımının başlaması ile çok çeşitli organizamalardan elde edilen genlerin bitkilere aktarılmasını mümkün kılmıştır. Sonuçta hastalıklara, böceklere ve herbisitlere direnç sağlayan genlerle bitkisel ürünlerin yapısını değiştirecek genler sayesinde avantajlar ortaya çıkmıştır.

### 2.1. Transformasyon

Bitkilerde hücre veya dokulara DNA aktarılması yoluyla transformasyon için farklı yöntemler uygulanmaktadır (EMİROĞLU VE GÜREL, 1993).

1. Agrobacterium bakterisinden yararlanılarak gen aktarılması
2. Virüslerden yararlanılarak gen aktarımı
3. Direkt gen transferi
4. Protoplastlara doğrudan gen aktarımı

Protoplastların kullanıldığı transformasyon metodları birkaç örnekte başarılı olmuştur.

Bir hücre veya doku içine DNA'nın enjeksiyonu doku transformasyonunu elde etmek üzere diğer bir alternatiftir (EMİROĞLU VE GÜREL, 1993).

Genlerin herhangi bir vektöre gerek duyulmadan aktarılması son yıllarda büyük bir önem kazanmıştır. Bu tekniklerin uygulanması gen aktarımının daha kısa sürede yapılmasını sağlamakta ve aktarılan genin herhangi bir şekilde mutasyona uğramasına engel olunmaktadır (HATİPOĞLU, 1993).

Bitki transformasyonu için yaygın olarak en çok kullanılan iki yöntem agrobacterium aracılığı ile DNA'nın transferi ve DNA'yla kaplanmış partiküllerle hücrelerin bombardımanıdır (EMİROĞLU VE GÜREL, 1993).

Kök-ur hastalığına yol açan bir toprak bakterisi olan *Agrobacterium tumefaciens* bitkilere gen transferi için bir vasıta olarak kullanılmaktadır. Patojenin konukçu dizisi gymospermilerin ve dikotiledon angiospermilerin yaklaşık % 60'ını kapsamaktadır. *Agrobacterium tumefaciens* hareketli bir bakteridir. Duyarlı bitki hücrelerinin bakteri tarafından tanınması ve bu hücrelere bakterinin bağlanması, bakterinin kromozomu üzerindeki genler tarafından kontrol edilmektedir. Agrobacteriumla transformasyonu bildirilen sebze türleri domates (TANRISEVER, 1993), ıspanak ve bezelyedir. (EMİROĞLU VE GÜREL, 1993).

Agrobacterium cinsinin diğer bir türü olan *Agrobacterium rhizogenes* bitkilerde kök kılınmasına yol açmaktadır. Bu bakteride gen transferi için kullanılabilir. (HATİPOĞLU, 1993).

Diğer bakteri ve virüslerde bitki genlerini transfer etmek için vektör olarak kullanılabilir. (PIERIK, 1989). Karnabahar mosaik virüsü genomunun belirli bir bölümü değiştirilerek bu markör genin aktarılması başarılmıştır (HATİPOĞLU, 1993).



## 2.2. RFLP<sub>S</sub> (Restriction Fragment Length Polymorphisms)

İki veya daha fazla organizmanın DNA'larının aynı endonuclease ile kesilmesi durumunda, ortaya çıkan fragment uzunlukları farklılıkları 'restriction fragment length polymorphisms' olarak bilinmekte ve kısaca RFLP<sub>S</sub> ile ifade edilmektedir. Bu farklılıklar sadece organizmalar arasında ayırım yapmak için değil, zaman içerisinde biriken mutasyonların (DNA dizilişinde baz değişimlerinin) ne derecede olduğunu belirlemek, iki veya daha fazla organizmanın akrabalığını ve genetik uzaklığını saptamak içinde kullanılabilir.

Diğer taraftan, RFLP markerlerinin kullanılması, birçok bitki türünde linkage haritalarının hızla oluşturulmasına, kalitatif ve kantitatif özellikleri kontrol eden genlerin bu haritalara yerleştirilmesine yol açmıştır (EMİROĞLU VE GÜREL, 1993).

Genetik mühendisliği tarafından hücrelerde yapılan modifikasyonlar, daha önceleri mümkün olmayan şekilde genlerle uğraşım yollarını açmıştır. Bu da bitkilerin geliştirilmesi konusunda geniş imkanlar doğurmaktadır. Bu anlamda bitki protoplastları ferritin, polistran, lateks protein, DNA, virüsler, bakteriler gibi partikül ve makromolekülleri ve hatta tüm çekirdek ve izole edilmiş kloroplastları bünyelerine alabilme konusunda oldukça önemli rol oynamaktadırlar. Bu özellik, istenilen bilgilerin aktarılabilme yollarını açmıştır (GÖNÜLŞEN, 1987).

## KAYNAKLAR

ABAK, K., 1986. Biber Islahında Anter Kültüründen Yararlanma. Tübitak Bitki Islahı Sempozyumu Bildiri Özetleri, 15-17 Ekim, İzmir.

ABAK, K., SARI, N., PAKSOY, M., YILMAZ, H., AKTAŞ, H., TUNALI, C., 1996. Kavunda Işınlanmış Polen Tozlamaları İle Haploid Embriyo Uyarımında Genotip Etkisi, Dihaploid Hatların Oluşturulması, Haploid ve Diploid Bitkilerin Değişik Yöntemlerle Ayırımı. Tr J. Of Agriculture and Forestry 20: 425-430.

CEVRİ, H., KARATAŞ, H., FIRAT, A. F., YOKAŞ, İ., TÜZEL, Y., 2000. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı (2001-2005) Örtüaltı Sebze Yetiştiriciliği Özel İhtisas Komisyonu Raporu

DIXON, R. A., 1985. Plant Cell Culture. IRL Press Limited, P. O., Box 1, Eynham Oxford OX8 1JJ, England.

EMİROĞLU, Ü., GÜREL, A., 1993. Modern Biotechnology in Plant Breeding. The Biotechnology Revolution. Short Course. Organised By Ege Univ. Biotechnology Centre and Faculty of Agriculture, Department of Crop Science, February 8-12, Bornova-İzmir.

- EKİZ, H., BOYACI, H. F., 2001. Pepper and Eggplant Varieties in Greenhouses on the Coast of Mediterranean in Antalya. XI<sup>th</sup> Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant, 9-12 April, Antalya.
- GÖNÜLŞEN, N., 1987. Bitki Doku Kültürleri ve Uygulama Alanları. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No: 78, Menemen-İzmir.
- GÖNÜLŞEN, N., 1993. Mass Propagation Using In Vitro Techniques. The Biotechnology Revolution. Short Course. Organised By Ege Univ. Biotechnology Centre and Faculty of Agriculture, Department of Crop Science, February 8-12, Bornova-İzmir.
- HATİPOĞLU, R., 1993. Biyoteknolojiye Giriş. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Ders Kitabı, No:129.
- KALLOO, Dr., 1986. Vegetable Breeding Volume III, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida 136-140.
- KELLER, J., 1988. Using Anther Culture to Generate Haploids For Use in Breeding Vegetables. Gartenbau, 35:6, 171-173.
- PIERIK, R. L. M., 1989. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands.
- SARI, N., ABAK, K., PITRAT, M., RODE, J. C., DUMAS DE VAULX, R., 1992. Karpuzda (*Citrullus lanatus* L.) Işınlanmış Polenle Haploid Bitki Eldesi. Işınlanmış Polenlerde Çimlenme Yeteneğinin Değişimi. KÜKEM Dergisi, 15(2):15-21.
- SEVGİCAN, A., 1989. Örtü Altı Sebzeçiliği. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı Yayınları No.19.
- TANRISEVER, A., 1993. Biotechnological Studies With The Tomato Plant. The Biotechnology Revolution. Short Course. Organised By Ege Univ. Biotechnology Centre and Faculty of Agriculture, Department of Crop Science, February 8-12, Bornova-İzmir.