

**Araştırma Makalesi**  
(Research Article)

Selman ULUIŞIK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi,  
Burdur Gıda Tarım ve Hayvancılık Meslek  
Yüksek Okulu, Bahçe Tarımı Programı

<sup>1</sup>Orcid No: 0000-0003-0790-6705

sorumlu yazar: [sulusik@mehmetakif.edu.tr](mailto:sulusik@mehmetakif.edu.tr)

**Anahtar Sözcükler:**

Pektat liyaz, meyve dokusu, sertlik,  
çaprazlama

**Keywords:**

Pectate Lyase, fruit texture, firmness,  
crossing

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2019, 56  
(4):427-435 DOI: [10.20289/zfdergi.532602](https://doi.org/10.20289/zfdergi.532602)

**Meyve Yumuşamasından Sorumlu Olan Bazı Genlerin  
Çaprazlanan Domates Hatlarında İncelenmesi**

Investigation of Some Genes Responsible for Fruit Softening in Crossed  
Tomato Lines

**Alınış** (Received): 26.02.2019

**Kabul Tarihi** (Accepted): 22.05.2019

**ÖZ**

**Amaç:** Bu çalışmada hücre duvarını modifiye eden bazı genlerin susturulması ile elde edilmiş domates bitkilerinin çaprazlanması ile yumuşama mekanizmasının açıklığa kavuşturulması amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Yapılan çalışmada antisens PL, antisens PG, antisens Exp ve antisens PG X Exp hatları kullanılmıştır. Antisent PL hatlarının diğer hatlarla çaprazlanmasının meyve dokusu sertliği üzerindeki etkisi incelenmiştir.

**Bulgular:** PL geninin domatesin yumuşamasında diğer hücre duvarını modifiye eden genlere göre çok daha fazla sorumluluk aldığı belirlenmiştir. Antisens PL genini diğer antisens hatlara eklenmesi bu hatlardan elde edilen meyvelerin sertliklerini artırmıştır.

**Sonuç:** PL geninin hücre duvarındaki etki mekanizması pektik polisakaritler üzerindedir. Domatesin olgunlaşması ve yumuşaması esnasında hücrelerin birbirinden ayrılmasında görev almaktadır.

**ABSTRACT**

**Objective:** In this study, it was aimed to clarify the mechanism of softening of tomato obtained by silencing some of the genes that modulate the cell wall.

**Material and Methods:** In the study, antisense PL, antisense PG, antisense Exp and antisense PG X Exp lines were used. The effect of crossing between the antisense PL lines with other lines on fruit softening was investigated.

**Results:** It was determined that the PL gene takes much more responsibility in tomato softening than other cell wall modifying genes. The addition of the antisense PL gene to other antisense lines increased the firmness of the fruits obtained from these lines.

**Conclusion:** The mechanism of action of PL is on the pectic polysaccharide fraction and appears to be important for cell separation during ripening in tomato.

## GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum*) Dünya'da en fazla üretilen ve tüketilen tarım ürünlerinin başında gelmektedir. Dünya genelinde taze olarak ve işlenmiş şekilde domates üretimi son 10 yılda düzenli bir şekilde artmış ve 2017 yılında 180 milyon ton üretim hacminin üzerine çıkmıştır (Faosat, 2017). Türkiye ise bu üretimde dünya'da Amerika, Çin ve Hindistan'ın ardından dördüncü sırada yer almaktadır. Botanik olarak, domates, *Solanaceae* familyasına ait bir meyve olarak tanımlanmakta ve bu familya 96 cins ve 3000'in üzerinde türden oluşmaktadır (Knapp ve ark. 2004).

Domates, rekombinant DNA teknolojisinin etkin bir şekilde kullanılarak meyvelerin olgunlaşma ve yumuşama mekanizmasını moleküler düzeyde ortaya çıkarmak için kullanılan bir model bitkidir (Wing ve ark. 1994). Birçok bitkinin primer hücre duvarında olduğu gibi domatesin primer hücre duvarı da selüloz, hemiselüloz ve pektin olmak üzere üç sınıf polisakkarit içerir. Domates ve diğer birçok etli meyvede olgunlaşma ile meydana gelen değişikliklerin birçoğu pektik polisakkaritlerde meydana gelir ve bu nedenle pektik polisakkaritler hücre duvarında en çok dikkat çeken sınıf olmuştur. Pektin, yapısal olarak hücre duvarının en kompleks polimeridir ve hücrelerin birbirlerine yapışmasında önemli rol oynamaktadır. Pektik polisakkaritler, yüksek oranda galaktronik asit (GalA)(%90) rezidüleri olarak tanımlanırlar ve genel olarak çift çeneklilerin birincil hücre duvarlarında bulunurlar (Cosgrove, 2005). Homogalakturnon (HG), ksilogalakturnon (XGA), apiogalakturnon (AGA), ramnogalakturnon I (RG-I) ve ramnogalakturnon II (RG-II) pektinin yapısal sınıflarını oluştururlar. Tüm bu bileşenler meyvenin olgunlaşması sürecinde birçok pektin metabolize edici enzim ile bozunmaya uğrarlar (Wang ve ark. 2018).

Domateste dış kalite özelliklerini (şekil, irilik, renk, sertlik) ve iç kalite özelliklerini (besleyici değerler, tat, aroma maddeleri, pH), yetiştirme dönemi, ortam faktörleri ve çeşit özellikleri etkilemektedir (Şen ve ark. 2004). Meyvelerin yumuşaması, hasat sonrası kalite ve ömrünün belirlenmesinde ana rolü oynamaktadır. Meyvenin sertliği apoplastik hücre çeperi tarafından belirlenen mekanik sertliğe, hücrelerin turgor basıncın ve meyvenin dış katmanında bulunan kütikular yapı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Perini ve ark. 2017). Bu bağlamda domatesin olgunlaşma ve yumuşama döneminde en fazla aktif hale gelen ve HG'yi hidrolize eden enzim polygalakturonaz (PG)'dir. Ancak bu PG geninin (*pg2a*) susturulması meyvelerin yumuşama hızında minimal düzeyde etkiler göstermiştir (Smith ve ark. 1988; Smith ve ark. 1990). Daha sonraki

çalışmalarda yine pektin metabolizmasını hedefleyici genlerden olan pektin metilesteraz (PME) (Tieman ve Handa, 1994; Phan ve ark. 2007) ve galactanase ( $\beta$ -Gase) (Smith ve ark. 2002) susturulmuş, ancak yine yumuşama üzerinde oldukça küçük etkileri gözlemlenmiştir. Meyve dokusunun yumuşamasını yavaşlatmak için yapılan çalışmalarda elde edilen başarısızlıklar, *expansin* (*exp*) gibi hücre duvarında görev alan yapısal proteinleri kodlayan genlerin ekspresyon miktarlarını artırmaya veya azaltmaya yönelik çalışmaları tetiklemiştir (Brummel ve ark. 1999). Ancak bu modifikasyonlarda meyve sertliğinde oldukça küçük değişikliklerle sonuçlanmıştır. Bu sonuçlar meyvenin yumuşama sürecinden sorumlu genlerin ve buna bağlı mekanizmanın düşünüldüğünden çok daha karmaşık bir yapı olduğu göstermiştir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise, yumuşamaya neden olan pektin depolimerizasyonunda merkezi bir rol oynayan pektat liyaz (PL) geni susturulmuş ve meyve dokusu üzerindeki dramatik etkisi gözlemlenmiştir (Uluisik ve ark. 2016; Yang ve ark. 2017). PL aktivitesinin RNAi kullanılarak susturulduğu transgenik domates hatlarının perikarplarından yapılan mikroskop çalışmalarında moleküler ağırlık, çözünürlük ve pektik polisakaritlerin dağılımında değişiklikler görülmüştür. Uluisik ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada kullandıkları kontrol domateslerinde esterleşmiş pektinler "cell wall junctions" denilen üç hücrenin duvarlarının kesişim noktasında yoğunlaşmışlar, yumuşama döneminde ise depolimerize olmuşlardır. Ancak antisens PL hatlarında ise esterleşmiş pektinler bahsedilen kesişim bölgelerinde yoğun bir şekilde kalmaya devam etmiştir.

Bu çalışmada ise pektin depolimerizasyonundan sorumlu olduğu düşünülen ve daha önce gen susturulması metotları ile üretilen antisens hatları ile üretilen PG (Smith ve ark. 1988), *Exp* (Brummel ve ark. 1999) ve PG X *Exp* (Powell ve ark. 2003) hatları antisens PL hatları ile çaprazlanmıştır. Bu sayede hücre duvarını modifiye eden bu genlerin çalışma mekanizması biraz daha açıklığa kavuşturulmuş, gelecekte raf ömrü daha uzun domates hatlarını üretilmesinde bir veri kaynağı olmuştur.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Materyal

Bu çalışma, 2013-2015 yılları arasında Nottingham Üniversitesi, Sutton Bonington Kampüsü'nde (İngiltere) gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, Uluisik ve ark. (2016) tarafından geliştirilen antisense PL hatları, Smith ve ark. (1988) tarafından geliştirilen antisens PG hatları ve

Powell ve ark. (2003) tarafından geliştirilen double PG x Exp antisens hatları kullanılmıştır.

Birbirleri ile çaprazlanan domates bitkileri normal standart sera şartlarında (16 saat gün uzunluğu, 20 °C gündüz sıcaklığı ve 18 °C gece sıcaklığı) ve 7.5 litrelik saksılarda Pro C2 kaba saksı kompostu (Levington, İngiltere) kullanılarak yetiştirilmiştir. Sulamaya organik Vitax 214 eklenerek gübre desteği sağlanmıştır.

### Elde Edilen F1 Bitkilerinin Genotiplenmesi

Çaprazlama yapılan bitkilerde (PL X PG, PL X Exp ve PL X (PG X Exp)) PL::RNAi antisens bitkilerinden antisens PL geninin geçişini kontrol etmek amacı ile PCR çalışması yapılmıştır. Bunun için kontrol (AC) ve çaprazlanan diğer domates bitkilerinin genç yapraklarından örnekler toplanmış ve hızlıca sıvı azot içerisinde dondurulmuştur. Dondurulan yapraklardan DNA ekstraksiyonu Qiagen DNeasy Plant Mini Kiti (Hollanda) ile üreticinin protokolüne göre yapılmıştır. Elde edilen DNA'nın miktarı ve kalitesi 260 nanometrede nükleik asit konsantrasyonunu ve 260/280 oranını kullanarak saflığı ölçen NanoDrop (Labtech, İngiltere) tarafından kontrol edilmiştir. PCR reaksiyonları Techne TC-412 Thermal Cycler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir reaksiyon tüpü, 11.5 µL saf su, 2 µL 10 x PCR tamponu (Fermantlar), 0.5 µL dNTP 10mM 0.5 µL forward ve reverse primerler (MWG) ve %1 lik 2.5 µL of cresolden oluşan toplam 20 µL'lik reaksiyon karışımından oluşmuştur. PCR şartları, 95°C' de 3 dakika başlangıç denatürasyonundan sonra, 35 devir olacak şekilde 95°C' de 10 saniye denatürasyon, 59°C 'de 1 saniyelik cDNA zincirlerinin yapışması ve son olarak soğuma basamağı 40°C'de 10 dakika olarak belirlenmiştir. Elde edilen PCR ürünleri %1 agaroz jelde yürütülmüş, sonuçlar "INgenius™ Syngene Bio Imaging"

sistemi ve GeneSnap™ yazılımı kullanılarak UV ışığı altında fotoğraflanmıştır.

Çalışmada kullanılan PL genine ait forward ve reverse primerler

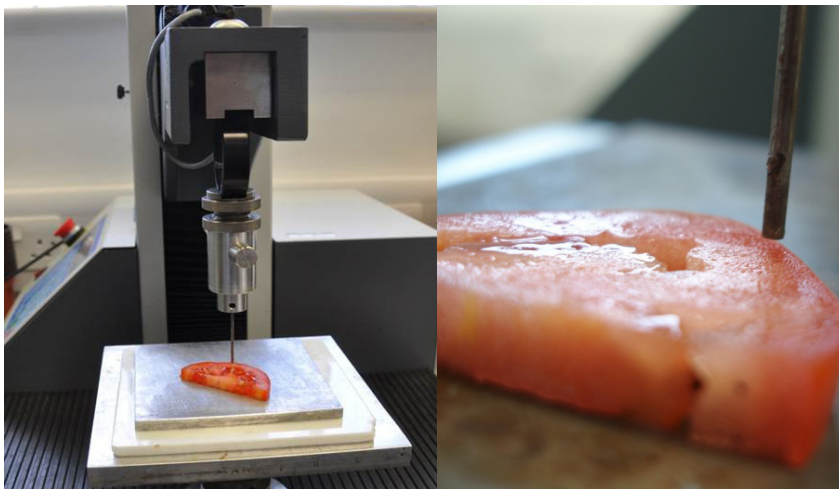
**Forward:** GCAGGTCCTGGATTTTGGTT-TTAGGAA

**Reverse:** CCCACTATCCTTCGCAAGACCCTTCCTC

### Elde Edilen F1 Bitkilerinin Fenotiplenmesi

Tüm meyveler yeşil olgun dönemden kızarmaya başladığı ilk ana geçiş döneminde (breaker stage) etiketlenmiş ve bir hafta sonra (breaker+7) hasat edilmiştir. Böylelikle tüm meyvelerde kırmızı olgunluk bakımından bir tekdüzelik sağlanmıştır. Laboratuvara taşınan tüm meyvelerin ağırlığı ölçülmüştür. Daha sonra aynı meyvelerden 6 milimetre kalınlığında enine kesit alınmıştır. İç perikarp (vasküler sınır ile endodermis arasındaki hücreler) ve dış perikarp (sınırın önündeki derinin altında) bölgelerinden 2'şer kez olmak üzere her bir meyveden dört tekrar olacak şekilde doku sertliği ölçümü alınmıştır. Sertlik ölçümleri Lloyd Instrument LF plus (İngiltere) machine (Chapman ve ark., 2012) ile yapılmıştır (Şekil 1) Meyvelerin diğer yarısı ise içerisindeki çözünür kuru madde oranı (briks) ölçümü için kullanılmıştır.

Şekil 1. Görüldüğü üzere doku sertliği ölçümü 6 mm kalınlığında enine kesit alınan domates örneklerine uygulanan maksimum yük (perikarp bölgesine 10 mm dak<sup>-1</sup>'de nüfuz etmek için gereken kuvvet) 4 mm derinliğine inene kadar uygulanarak alınmıştır. Her bir çaprazlama bitkisinden en az 10'ar adet tekrar olacak şekilde alınan örneklerin sertliği Lloyd Instrument LF plus makinesi 1,6 mm düz başlı silindirik uç yardımı ile ölçülmüştür.



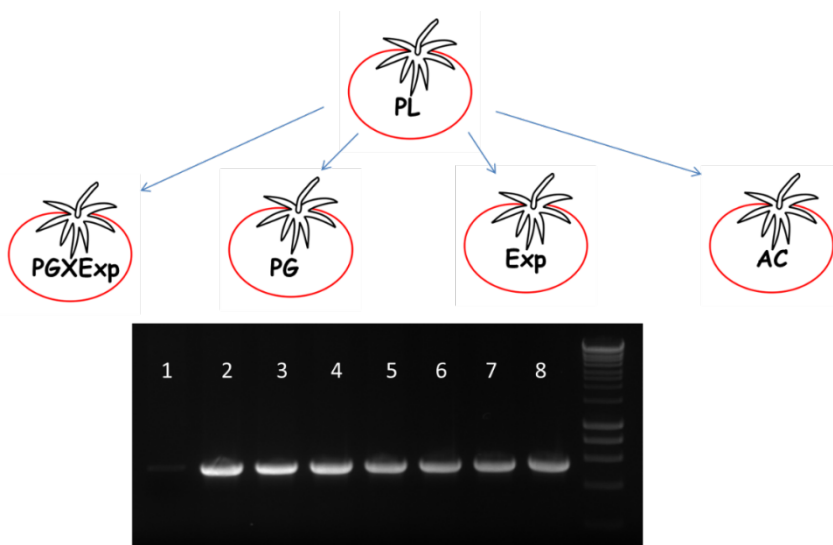
**Şekil 1.** Meyvelerin doku sertliklerinin iç ve dış perikarptan ölçülmesi  
**Figure 1.** Measurement of tissue firmness of the fruits from outer and inner pericarp

## ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

PL genini susturma işleminin diğer inhibe edilmiş hücre duvarını parçalayıcı enzimler ile birleştirilmesinin sinerjik ve/veya ilave etkilerini araştırmak için, antisens PL::RNAi hatları ile antisens PG, Exp ve her iki antisens genini simultane şekilde ifade eden hatlar çaprazlanmıştır. PL antisens geninin diğer hatlara entegrasyonunu kontrol etmek için PL::RNAi hatlarını geliştirmede kullanılan primerler kullanılarak çaprazlamadan elde edilen F1 hatlarından alınan DNA örnekleri kullanılarak PCR uygulaması yapılmıştır. Antisens PL geninin diğer domates hatlarının genomuna başarılı bir şekilde entegre olduğu görülmüştür (Şekil 2).

Bu çalışmada RNA ile gen susturma tekniğinden ortaya çıkan genin etkinliğinin baskın olmasına güvenilmiştir. Çaprazlama sürecinden sonra F1 tohumlarından yetiştirilen bitkilerden elde edilen meyvelerin özellikle iç perikarbi olmak üzere hem iç hem de dış perikarplarında hissedilebilir derecede meyve dokusu sertliğinin

arttığı gözlemlenmiştir. Laboratuvar ortamına taşınan meyve örneklerinin öncelikle ağırlıkları gram cinsinden ölçülmüştür (Şekil 4a). Elde edilen değerlerden en düşük 48 gram'lık meyve örnekleri 'AC' ve 'Exp X PL' hatlarında, en yüksek ağırlık değeri ise 105 gram olarak 'AC X PL' hatlarında görülmüştür. İstatiksel veri değerlerinde ise meyvelerin ortalama ağırlıkları arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Bu durum göstermiştir ki antisens PL geninin diğer antisens ve kontrol meyvelerinde olumlu ya da olumsuz bir etki gösterdiği gözlemlenmemiştir. Aynı meyvelerin diğer kalite özelliklerinde olan renk (Şekil 4b) ve şeker oranları da (Şekil 4c) ölçülmüştür. İstatiksel olarak sadece antisens PG domates hatlarından elde edilen meyvelerin renk indeksi diğer hatlara göre daha düşük çıkmıştır ( $P < 0.05$ ). PL tekstür analiz makinası ile ölçülen iç ve dış perikarp sonuçları da kontrollere göre istatistiksel olarak önemli ( $P < 0.05$ ) sonuçlar vermiştir (Şekil 3). Çalışmanın temel bölümünü oluşturan bu analizler göstermiştir ki PL geni meyve dokusu yumuşamasında diğer hücre duvarını modifiye eden genlere göre çok daha fazla sorumluluk almaktadır.

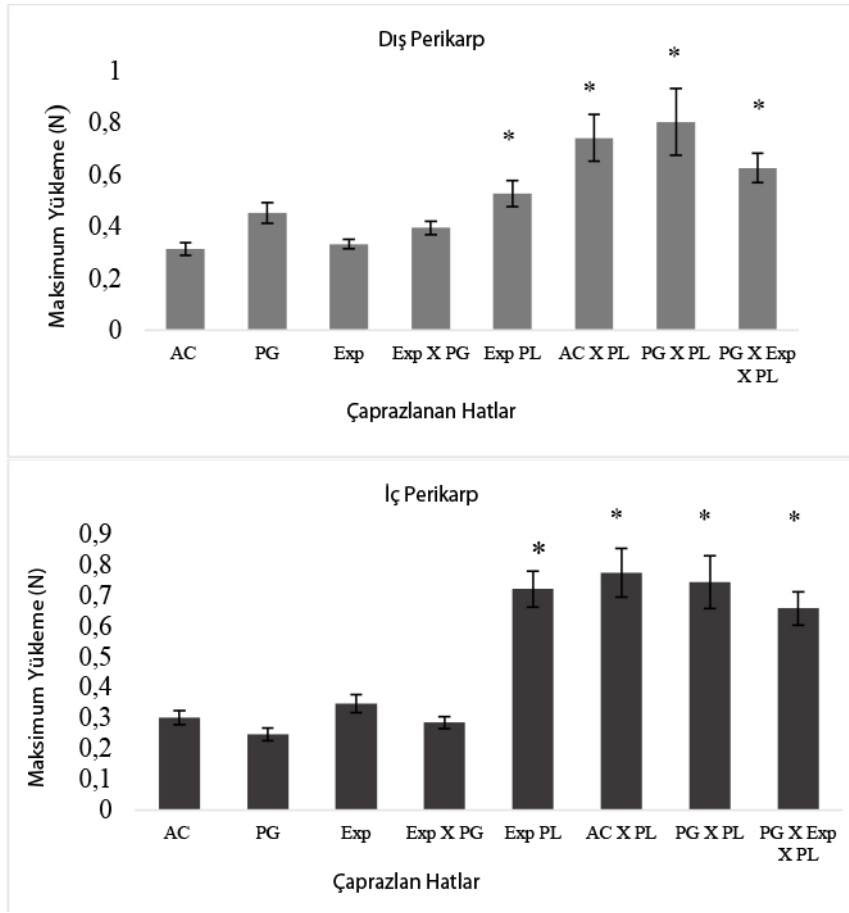


**Şekil 2:** PG, Exp and PG X Exp hatlarına entegre olan antisens PL geninin doğrulanması.

**1. Örnek:** Ailsa Craig (AC) transgenik olmayan domates hattı. **2. ve 3. Örnek** PL X (PG X Exp) çaprazlaması, **4. ve 5. Örnek:** PL X PG çaprazlaması. **6. ve 7. Örnek:** PL X Exp çaprazlaması. **8. Örnek:** PL X AC çaprazlaması.

**Figure 2.** Conformation of integrated antisense PL gene into PG, Exp and PG X Exp Lines

**1. lane:** Ailsa Craig (AC) non transgenic tomato line, **2. and 3. Lane:** PL X (PG X Exp) crossed line; **4. and 5. lane:** PL X PG crossed line; **6. and 7. lane:** PL X Exp crossed line; **8. lane:** PL X AC crossed line.



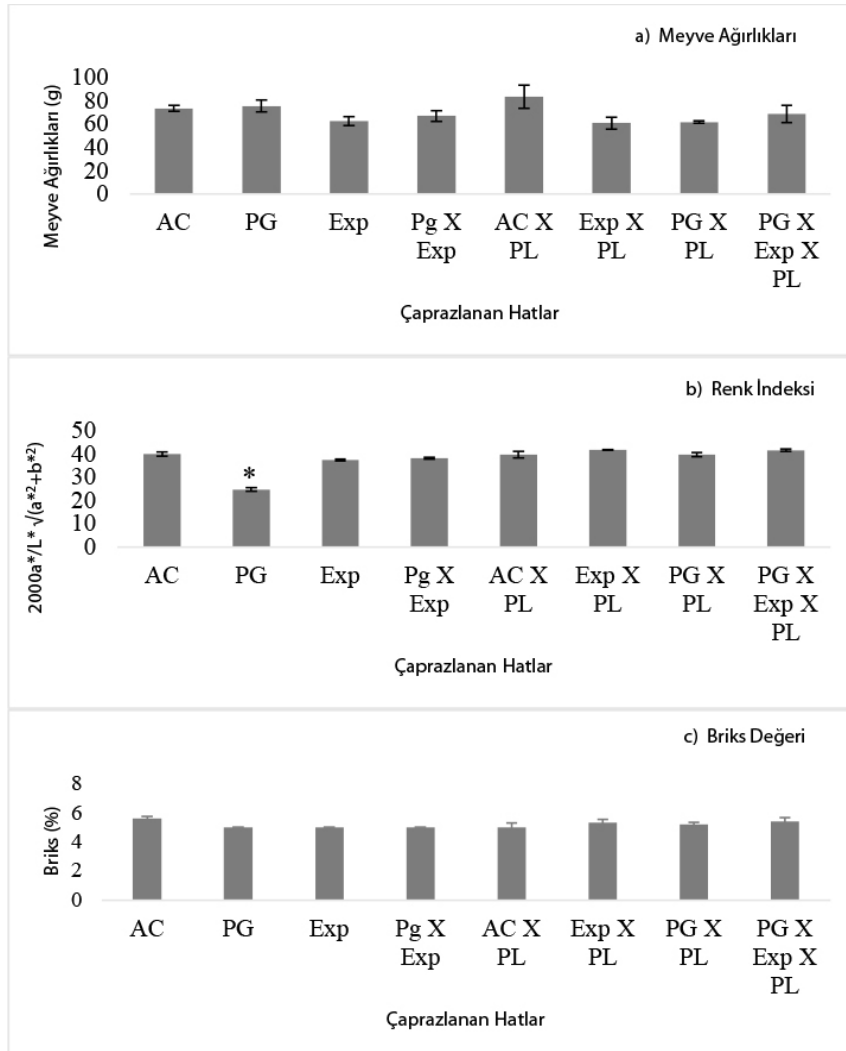
**Şekil 3.** Breaker+7 olgunluk dönemine ait iç ve dış perikarptan ölçülen meyve sertliklerine ait değerler.

**AC:** Transgenik olmayan kontrol hattı; **PG:** Antisens PG Hattı; **Exp:** Antisens Expansin Hattı; **Exp X PG:** Double Antisens PG ve Expansin Hattı; **Exp X PL:** Antisens expansin hattı ile antisens PL hattından elde edilen F1 hattı; **AC X PL:** Antisens PL ile AC Kontrol Hattından elde edilen F1 hattı; **PG X PL:** Antisens PG ile antisens PL hatlarından elde edilen F1 hattı, **PG X Exp X PL:** Antisens double mutant PG X Exp hattının Antisens PL Hattı ile çaprazlanmasından elde edilen F1 Hattı. Grafiklerde, elde edilen F1 hatlarının kırmızı olgun dönemlerindeki iç ve dış perikarplarının doku sertlikleri gösterilmiştir. Asteriks, kontrol meyvesi ve diğer hatlar arasındaki istatistik açısından önemli sonuçları göstermektedir. PL transgeninin varlığı ve diğer hatlarla çaprazlanması meyvelerin iç ve dış perikarp sertliğini önemli olarak artırmıştır\* (P < 0.05). n=Biyolojik Tekerrür Sayısı, 10

**Figure 3.** Firmness measurement of outer and inner pericarp from crossed lines at breaker+7 stage.

Meyve dokusunun yumuşaması meyvenin yumuşama döneminde meydana gelen en önemli değişikliklerden birisidir. Bu değişiklik meyvenin patojene olan hassasiyetini, duyu kaliteyi ve raf ömrünü etkilemektedir. Bundan dolayı, hasat sonrası bozulma, sebze ve meyve endüstrileri için en büyük zorluklardan biridir (Meli ve ark. 2010). Bu nedenle, hasat sonrası kayıplara ve hastalıklara karşı daha iyi

direnç gösteren meyve ürünlerinin üretimi çok önemli potansiyel değere sahiptir. Meyvenin olgunlaşması ve yumuşaması domates üzerinde oldukça ilgi çekmiş olsa da, bu değişimi etkileyen mekanizma tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu çalışma domatesin olgunlaşması döneminde hücre duvarını modifiye eden enzimleri kodlayan bazı genlerin rollerini açıklamaya yöneliktir.



**Şekil 4.** Sertlikleri ölçülen meyvelerin diğer kalite özelliklerinin belirlenmesi.

**a)** meyvelerin ortalama ağırlıkları, **b)** Renk indeksi ve **c)** Meyvelerin suyundan elde edilen toplam çözümlü madde oranı.

**Figure 4.** Identification of other quality parameters of fruits that were measured in firmness.

PG enzimi meyvelerin olgunlaşma döneminde detaylı olarak araştırılan ilk pektin parçalayıcı enzimdir. Bu enzimin aktivitesi, domatesin olgunlaşma döneminin başlangıcında hızlı bir şekilde artarken, olgunlaşmayan mutant domates çeşitlerinde ise aktiviteyi düşük ya da saptanamayacak kadar azdır (Hobson, 1964). Bitki genetiğinde çok önemli çalışmalardan birisinde, PG geni klonlanmış ve ekspresyon seviyesi RNAi yaklaşımı ile inhibe edilmiştir (Smith ve ark. 1988). Her ne kadar PG aktivitesi kontrol meyvelerindeki normal seviyelerin % 1'ine kadar düşürülmüş olsa da, meyvenin yumuşamasına önemli bir etkisi olmamıştır. Ancak, pektin depolimerizasyonu

önemli ölçüde inhibe edilmiştir. (Smith ve ark. 1990). Pektin metil esteraz (PME) olgunlaşan domateslerde pektini dimetil hale getiren ve olgunlaşma döneminde oldukça aktif olan önemli enzim gurubudur. Ancak PME'nin bir izoformu olan PE2 geninin susturulması PG gibi meyve dokusunun yumuşaması üzerinde etkin bir sonuç vermemiştir (Hall ve ark. 1993). Ancak, Phan ve arkadaşları (2007) tarafından yapılan bir çalışmada *Pme1* geninin susturulması meyve dokusunun yumuşamasına yol açmıştır.

Domateste pektik polisakaritlerin çözünmesinin bu polimerler üzerindeki yan zincirlerle ilişkili galaktosil parçacıklarının kaybı ile bağlantılı olduğu



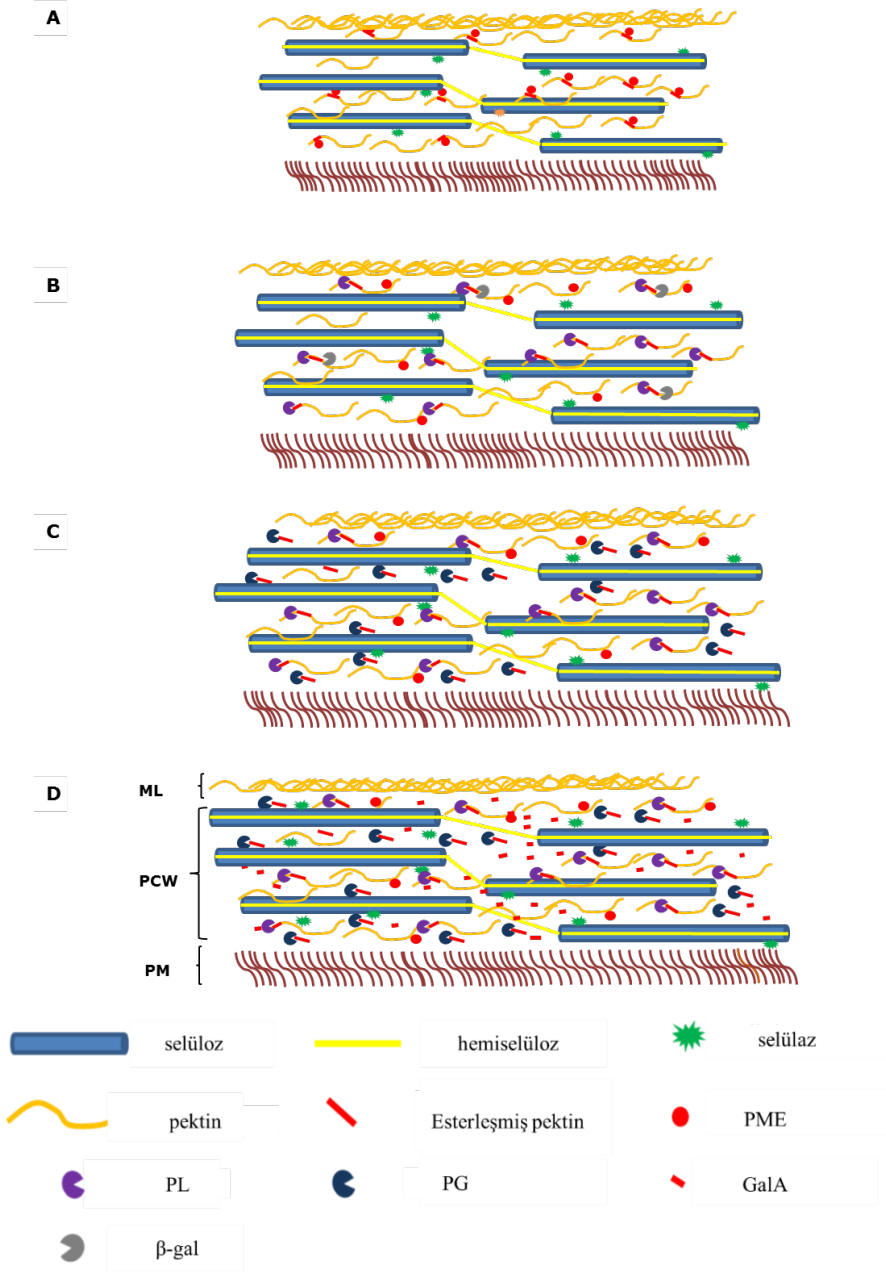
uzun zamandır düşünülmektedir (Seymour ve ark. 1990). Exo- $\beta$ -galaktosidaz (*TBG*) enzimi bu modifikasyonlardan sorumlu bir enzimdir (Pressey, 1983). Bu enzimi kodlayan genlerden birinin susturulması (*TBG4*) kontrol domateslerine göre %40 daha sert meyvelerin elde edilmesini sağlamıştır (Smith ve ark. 2002). *TBG4* dışında bir diğer hücre duvarı modifikasyonunda görev alan protein *expansin* (*exp*). *Exp1* geninin susturulması domatesin dokusunun sertliğinde küçük miktarda olumlu yönde bir etki göstermiştir (Brummell ve ark. 1999). (Endo-1,4-beta-glukanazın) (selülaz, EC 3.2.1.4) *Cel2* (Brummell ve ark. 1999), *LeEXGT1* ve (Asada ve ark. 1999), *LeXETB1* enzimleri hemiselüloz modifikasyonunda rol oynayan enzimlerdir ve bunları kodlayan genlerin (Desilva ve ark. 1994) susturulması meyve dokusunda herhangi bir gelişme göstermemiştir. Ancak son zamanlarda Uluisik ve arkadaşları (2016) tarafından yayınlanan çalışmada antisens PL domatesleri kontrol meyvelerine göre yaklaşık iki kat daha sert doku elde edilmesini sağlamış ve raf ömrünü uzatmıştır. Bu çalışma göstermiştir ki, *PL* geni domatesin olgunlaşması ve yumuşamasında çok önemli bir role sahiptir.

Yapılan çalışmada elde edilen bulgulara göre, pektik polisakkaritlerin etkili bir şekilde parçalanmasının, pektin zincirindeki farklı bağ kümelerinden sorumlu olan enzimlerin bir iş birliği şeklinde çalışmasını gerektirmektedir. Pektin omurgasında bulunan molekülleri kaldıran PME ve AE (asetilesteraz) etkisini artırmak için PG, PL ve RGazlara ihtiyaç duyulabilmektedir. Örneğin, her ne kadar PME enzimini kodlayan genin susturulması domatesin doku sertliği üzerinde çok az bir etki gösterse de bu enzimin, pektin moleküllerini PG ve PL enziminin etkisi için ortamda

serbest hale getirdiği düşünülmektedir. Rose ve Bennett (1999), selüloz / hemiselüloz ve pektin parçalayıcı enzimler arasında potansiyel bir işbirliğinin var olduğunu açıklamıştır. Örneğin, rin (ripening inhibitor) mutant domatesi olgunlaşmayan, yeşilden kırmızıya dönüşmeyen bir mutant çeşittir. Yumuşamaya neden olan PG geninin bu domatestede ifadesinin artırılması (over-expression) pektin yerine hemiselülozün depolimerizasyonuna neden olmuştur. Bu durumun aksine, selüloz/ hemiselülöz depolimerizasyonundan sorumlu olan *Exp*'in ekspresyon seviyesinin artırılması pektin degradasyonunu artırmıştır. Önceki çalışmalardan elde edilen PG, *Exp*,  $\beta$ -gal ve PL sonuçları ve bu çalışmamızda elde edilen bulgular göstermiştir ki, meyve yumuşamasının hücre duvarı modifikasyonunda sorumlu birçok genin sinerjistik etkilerinin sonucunda meydana geldiğini göstermiştir (Şekil 5).

## SONUÇ

Meyvelerin yumuşama mekanizmasını kontrol etmek ve diğer kalite unsurlarını olumsuz yönde etkilemeden meyvelerin raf ömrünü uzatmak uzun yıllardır bitki genetikçilerinin ve ıslahçıların temel hedeflerinden birisidir. Bu çalışma öncelikle hücre duvarını modifiye eden enzimlerin ve bu enzimleri kodlayan genlerin meyvenin olgunlaşması döneminde nasıl koordineli bir şekilde çalıştığını göstermiştir. Araştırma sonuçlarına göre, PG enzimi pektini daha küçük molekül yapılarına ayırtırmak için PL enzim etkisine ihtiyaç duymaktadır. Bu mekanizmanın iyi anlaşılması gelecekte yapılması muhtemel daha uzun raf ömürlü domates hatlarının ıslahı çalışmalarında büyük önem arz edecektir.



**Şekil 5.** Meyvenin olgunlaşma döneminde hücre duvarının modifikasyon mekanizması.

Pektin matrisi içerisinde (açık kahverengi) selüloze (mavi çubuklar) bağlı hemiselülöz (sarı çizgiler) mikro fibrilleri gösterilmiştir. **A)** PME, pektik homogalakturnan (HGA) omurgasını de-esterleştirir. **B)** Uzun zincir, hücre duvarından PL (mor) ve  $\beta$ -Gal etkisi ile çözülür.  $\beta$ -Gal enzim aktivitesi PL'in etkisi için ortamda pektini hazırlayabilir. **C ve D)** Son aşamada ise, çözünür pektin molekülleri PG aktivitesi ile daha da indirgenir. **ML** = orta lamel, **PCW** = primer hücre duvarı, **PM** = plazma zarı ile daha da indirgenir.

**Figure 5.** The modification mechanism of cell wall degradation during fruit ripening.



## KAYNAKLAR

- Asada, K., Ohba, T., Takahashi, S. ve Kato, I. (1999) Alteration of Fruit Characteristics in Transgenic Tomatoes with Modified Gene Expression of Endo-xyloglucan Transferase. *Hort Science* 34, 533
- Brummell, D.A., Harpster, M. H., Civello, P. M., Palys, J. M., Bennett, A. B. ve Dunsmuir, P. (1999). Modification of Expansin Protein Abundance in Tomato Fruit Alters Softening and Cell Wall Polymer Metabolism during Ripening. *The Plant Cell*, 11, 2203-2216.
- Chapman, N. H., Bonnet, J., Grivet, L., Lynn, J., Graham, N., Smith, R., Sun, G., Walley, P.G., Poole, M., Causee, M., King, G., Baxter, C., ve Seymour, G. B. (2012) High-Resolution Mapping of a Fruit Firmness-Related Quantitative Trait Locus in Tomato Reveals Epistatic Interactions Associated with a Complex Combinatorial Locus. *Plant Physiology* 4, 1644-1657
- Cosgrove, D.J. (2005). Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6, 850-861
- Desilva, J., Arrowsmith, D., Hellyer, A., Whiteman, S., ve Robinson, S. (1994) Xyloglucan endotransglycosylase and plant growth. *Journal of Experimental Botany* 45, 1693-1701
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, Faostat, (2017) erişim tarihi (12.04.2019) <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Hall, L. N., Tucker, G. A., Christopher, J. S., Watson, C. E., Seymour, G. B., Bundick, Y., Boniwell, J. M., Fletcher, J. D., Ray, J. A., Schuch, W., Bird, C. R., ve Grierson, D. (1993) Antisense inhibition of pectin esterase gene expression in transgenic tomatoes. *The Plant Journal* 3, 121-129
- Hobson, G. E. (1964) Polygalacturonase in normal and abnormal Tomato Fruit. *Biochemical Journal*, 92, 324-332
- Knapp, S., Bohs, L., Nee, M., ve Spooner, M. D. (2004). Solanaceae - a model for linking genomics with biodiversity. *Comparative and Functional Genomics* 5, 285-291.
- Meli, V.S., Ghosh, S., Prabha, T.N., Chakraborty, N., Chakraborty, S. ve Datta, A. (2010) Enhancement of fruit shelf life by N-glycan processing enzymes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 6, 2413-2418.
- Perini, M. A., Sin, I. N., Martinez, G. A., ve Civello, P. M. (2017). Measurement of expansin activity and plant cell wall creep by using a commercial texture analyser. *Electronic Journal of Biotechnology*, 26, 112-19.
- Phan, T. D., Bo, W., West, G., Lycett, G. W. ve Tucker, G. A. (2007). Silencing of the Major Salt-Dependent Isoform of Pectinesterase in Tomato Alters Fruit Softening. *Plant Physiology* 144, 1960-1967
- Powell, A. L. T., Kalamaki M. S., Kurien, P A Gurrier, S. ve Bennett, A. B. (2003) Simultaneous Transgenic Suppression of *LePG* and *LeExp1* Influences Fruit Texture and Juice Viscosity in a Fresh Market Tomato Variety. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7450-7455.
- Pressey, R. (1983)  $\beta$ -galactosidases in ripening tomatoes. *Plant Physiology*, 71,
- Rose, J. J. C. ve Bennett, A. B. (1999) Cooperative disassembly of the cellulose-xyloglucan network of plant cell walls: parallels between cell expansion and fruit ripening. *Trends in Plant Science*, 4, 1796-183.
- Seymour, G. B., Colquhoun, I. J., Dupont, M. S., Parsley, K. R. ve Selvendran, R. R. (1990) Composition and structural features of cell wall polysaccharides from tomato fruits. *Phytochemistry*, 29, 725-731
- Smith, C. J. S., Watson, C. E., Ray, J., Bird, C. R., Morris, P. C., Schuch, W., ve Grierson, D. (1988). Antisense RNA inhibition of polygalacturonase gene expression in transgenic tomatoes. *Nature*, 334, 724-726
- Smith, C. J. S., Watson, C. E., Morris, P. C., Bird, C. R., Seymour, G. B., Gray, A. J., Arnold, C., Tucker, G. A., Schuch, W., Harding, S., ve Grierson, D. (1990). Inheritance and effect on ripening of antisense polygalacturonase genes in transgenic tomatoes. *Plant Molecular Biology*, 14, 369-379.
- Smith, L. D., Abbott, J. A. ve Gross, K. C. (2002). Down-Regulation of Tomato  $\beta$ -Galactosidase 4 Results in Decreased Fruit Softening. *Plant Physiology*, 117, 417-423.
- Şen, F., Uğur, A., Bozokalfa, M. K., Eşiyok, D. ve Boztok, K. (2004) Bazı Sera Domates Çeşitlerinin Verim Kalite ve Depolama Özelliklerinin Belirlenmesi, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (2):9-17
- Tieman, D. M. ve Handa, A. K. (1994). Reduction in Pectin Methylesterase Activity Modifies Tissue Integrity and Cation Levels in Ripening Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Fruits. *Molecular Biology and Gene Regulation*, 106, 429-436.
- Uluşık, S., Chapman, N.H., Smith, R., Poole, M., Gary, A., Gillis, R.B., Besong, T.M.D., Sheldon, J., Stiegelmeier, S., Perez, L., Samsulrizal, N., Wang, D., Fisk, I. D., Yang, N., Baxter, C., Rickett, D., Fray, R., Ulate, B. B., Powell, A.L.T., Harding, S.E., Craigan, J., Rose, J.K.C., Fich, E. A., Sun, L., Domozych, D.S., Fraser, P.D., Tucker, G.A., Grierson, D. ve Seymour, G.B., (2016). Genetic improvement of tomato by targeted control of fruit softening. *Nature Biotechnology*, 34, 950-952.
- Wang, D., Yeats, T. H., Uluşık, S., Rose, J. K. C., ve Seymour, G. B. (2018). Fruit Softening: Revisiting the Role of Pectin. *Trends in Plant Science*, 23(4), 302-310.
- Wing, R.A., Zhang, H. B., ve Tanksley, S.D. (1994). Map-based cloning in crop plants. Tomato as a model system: I. Genetic and physical mapping of jointless. *Molecular Genetics and Genomics*, MGG, 242 (6) (1994), sayfa 681-688
- Yang, L., Huang, W., Xiong, F., Xian, Z., Su, D., Ren, M., ve Zhengguo, L. (2017). Silencing of SIPL, which encodes a pectate lyase in tomato, confers enhanced fruit firmness, prolonged shelf-life and reduced susceptibility to grey mould. *Plant Biotechnology Journal*, 1-12.