

## Bitki Genetik Mühendisliği ve Ekonomik Öneme Sahip Bazı Bitkilerde Genetik Mühendisliği Uygulamaları

Ahmet Metin KUMLAY

Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, ERZURUM (akumlay@hotmail.com)

Atilla DURSUN

Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Böl., 25240-ERZURUM, [atilladursun@hotmail.com](mailto:atilladursun@hotmail.com)

Geliş Tarihi : 10.11.2002

**ÖZET:** Yaklaşık 100 yıl önce başlayan ıslah çalışmaları sayesinde, bitkilerde verim, kalite ile birlikte birçok hastalık ve zararlılara dayanıklılık gibi konularda önemli gelişmeler sağlanmıştır. Otuz yıl öncesine kadar, bitki çeşitleri klasik ıslah metotları uygulanarak geliştirilmekteydi. Ancak, bu gelişme hızı bitkilerde mevcut genetik varyasyonun daralması nedeniyle oldukça yavaşlamıştır. Daha ileri başarılar için, bitki ıslahçıları uygun yeni teknikleri almak ve bunu eldeki mevcut tekniklere adapte etmek zorundadırlar. Son yıllarda gelişen "Bitki Moleküler Biyolojisi", analitik prosedürler ve yeni teknolojiler sayesinde, yeni bitki çeşitlerinin ıslahı yönünde ümitvar gelişmeler olmuştur. Agrobacterium ve direkt gen transfer sistemleri, değişik bitki türlerine gen transferinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu uygulamalar sonucu, hastalık ve zararlılara dayanıklı bitkilerin elde edilmesi, erkek kısır bitkilerin elde edilmesi, bitkilerde yaprak sararmasının geciktirilmesi, karbon metabolizmasının modifikasyonu, antisense RNA teknolojisi, yağ asidi içeriğinin modifikasyonu, değişik renk ve özellikte çiçeklerin üretimi, patateslerde depolama süresinin uzatılması ve besin değerinin artırılması, stres faktörlerine (kuraklık, don vs.) dayanıklılığın artırılması mümkün olmuştur. Transgenik bitkilerin geniş alanlarda ticari olarak tarımı yapılmadan önce, bu bitkilerin ve ürünlerinin çevre ve diğer organizmalarla olan etkileşimlerinin test edilmesi ve tüketici tercihlerinin de mutlaka göz önüne alınması gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Bitki genetik mühendisliği ve uygulamaları

### Plant Genetic Engineering and Its Applications on Economically Important Plants

**ABSTRACT:** Plant breeding programs which began nearly a century ago, have made steady improvements in productivity, quality and adequate resistance to numerous diseases and insect pests. Until three decade ago, plant varieties have been developed using conventional methods. However, the rate of this program have slowed down drastically due to the narrowed genetic variation of the crops. In order to be successful, breeders must adapt and incorporate suitable techniques as they become available. The improvement in plant molecular biology, analytical procedures, instrumentation and computation that have occurred during the last decade promise to speed up greatly the development of new cultivars. Agrobacterium and direct gene transfer systems are now used widely to introduce foreign genes into large number of plant species. The availability of these gene transfer systems and successful strategies in plant genetic engineering resulted in the production of pest and disease resistant plants, male sterile plants, delaying of leaf senescence, modification of carbon metabolism, antisense RNA technology, modification of fatty acid composition, production of different colored and patterned flowers, development of storage characteristics and quality of potato tubers, production of stress resistant plants. Before transgenic plants are commercially grown, interactions of transgenic crops and their products with environment and with other organisms should be tested and consumer preference should also be taken account.

**Key words:** Plant Genetic Engineering and Its Application

### GİRİŞ

Günümüzde, insanoğlunun karşılaştığı en önemli sorunlardan birisi artan nüfusun beslenmesidir. Dünya nüfusunun hızla artması, buna karşın tarım alanlarının sınırlı olması, birim alandan daha fazla ürün alınmasını ve bunun gerçekleştirilmesi için yeni tekniklerin araştırılmasını zorunlu kılmıştır. Klasik ıslah metotlarının imkan verdiği ölçülerde bitki ıslahında çok önemli ilerlemeler olmuş ve bir çok üründe gerek verim ve gerekse kalite açısından önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Geleneksel ıslah metotlarıyla yeni bir çeşit geliştirmenin çok uzun bir zamana ve maddi kaynağa ihtiyaç en önemli dezavantajlarından. Hastalık ve zararlılara dayanıklılık başta olmak üzere, bitkilerin diğer tarımsal özelliklerini iyileştirmede bir çok engellemelerle karşılaşmaktadır. Aralarında melezleme yapılabilen tür sayısının azlığı, yapılan melezlemelerde istenen karakterlerle birlikte istenmeyen özelliklerin de birlikte geçişinin önlenememesi, arzu

edilmeyen karakterlerin geri melezleme yoluyla elemine edilmesinin çok uzun zaman alması, totipotensiyi gerçekleştiriminin çok uzun ve zor olması geleneksel bitki ıslahının önemli dezavantajları arasındadır (Özcan ve Özgen, 1996). Modern ıslah metotları olarak da adlandırılabilir biyoteknolojik metotlar veya bitki genetik mühendisliği uygulamaları sayesinde, geleneksel metotların olumsuzlukları ortadan kaldırılabilmekte, ıslah süresi kısaltılarak para ve zamandan tasarruf edilmekte, melezlemede karşılaşılan sorunlar, genetik bağlılık (linkage) sorunları ve gen havuzundan yararlanmadaki sınırlamaların kolayca üstesinden gelinebilmektedir.

Biyoteknolojik metotların ilk uygulaması olan doku kültürü yöntemleriyle virüsten ari (temiz) materyal elde edilmesi (meristem kültürü), vejetatif hızlı çoğaltım, genetik materyalin muhafazası, embriyo kültürü, anter kültürü, kallus kültürü, değişik hücre kültürleri ve

protoplast kültürleri gibi yöntemlerin bitki ıslahında kullanılması mümkün olmuştur (Arslan, 1985; Gönülşen 1991). Bitki genetik mühendisliği uygulamaları sayesinde ise, spesifik bir genetik bilgiyi kodlayan yabancı bir DNA segmentinin verici organizmalardan alıcı bitki türlerine bir bakteriyel plazmid, virüs veya diğer bir vektör aracılığıyla transferi mümkün olmuştur (Gasser ve Fraley, 1989). Bu sayede, sadece akraba türler arasında gen alışverişi sınırlaması ortadan kalkmış, doğal olarak mümkün olmayan gen alışverişleri veya gen etkileşimleri mümkün hale gelmiş, klonlanan doğal yada sentetik nükleik asit dizileri bitki hücrelerine aktarılabilir duruma gelmiştir.

### GEN AKTARMA SİSTEMLERİ

Rekombinant DNA teknikleri sayesinde herhangi bir kromozom üzerindeki belirli bir genin, genin belirli bir kısmının izole edilmesi mümkün hale gelmiştir (Algur, 1992). Herhangi bir gen transfer sisteminin esasını; tam bir bitki oluşturabilme yeteneğine sahip olan hücrelerin kromozomlarına istenen genleri taşıyan bir DNA parçasının kalıcı olarak yerleştirilmesi oluşturur (Özcan ve Özgen, 1996). DNA, RNA, genom ve kromozom üzerinde yapılan bütün bu işlemler; yani kismeler, koparmalar, moleküler klonlama işlemleri, tamirat ve birleştirmeler gibi manipulasyonların hepsi genellikle enzimler aracılığıyla gerçekleştirilir (Watson vd., 1992).

#### Agrobacterium Aracılığıyla Gen Transferi

Doğrudan gen transfer metotlarına göre *Agrobacterium tumefaciens* ile gen transfer yönteminin daha kolay ve ekonomik olması ve başarı şansının daha yüksek olması, bu yöntemi daha popüler kılmıştır. Günümüzde, bitkilere gen transferinde en yaygın olarak kullanılan araç *Agrobacterium tumefaciens* bakterisidir. Bu bakteri aracılığıyla tütün, patates, kolza ve domates gibi bir çok kültür bitkisine başarıyla ve devamlı gen transferinin yapıldığı bilinmektedir. Bu özelliklerinden dolayı *Agrobacterium tumefaciens* bakterisine "bitkilerin doğal genetik mühendisi" denilmektedir (Özcan ve Özgen, 1996).

*Agrobacterium tumefaciens* toprakta yaşayan gram (-) bir bakteri olup, bitkileri genelde kök boğazında oluşan yaralardan enfekte etmekte ve kök boğazında düzensiz bölünmeler sonucu tümör oluşumuna neden olmaktadır. Bir kez tümör oluşumu başladıktan sonra, tümör izole edilerek steril kültür koşullarında bakteri olmadan ve yardımcı hormonlara ihtiyaç duymadan büyütülebilmektedir (Zupan ve Zambryski, 1995). Yapılan araştırmalarda, enfeksiyon sonucu oluşan dokunun normal bitkilerde bulunmayan bazı amino asitleri ve opinler olarak bilinen şeker türevlerini sentezlediği görülmüştür. Bu bileşikler bakteri tarafından karbon ve nitrojen kaynağı olarak kullanılmaktadır (Özcan ve ark., 2001).

#### Doğrudan Gen Transfer Teknikleri

*Agrobacterium* aracılığıyla gen transferinin bitki bilimine yaptığı büyük katkılara karşın, bu metodun en zayıf tarafı, dünya gıda ihtiyacının önemli bir kısmını karşılayan buğdaygillere gen transfer yeteneğinin bulunmamasıdır. Ayrıca, yemeklik tane baklagiller başta olmak üzere diğer birçok bitki türünde, transgenik sürgünün elde edilmesi için gerekli olan doku kültürü uygulamalarında da güçlükler ortaya çıkmaktadır. Karşılaşılabilen bu sorunlar ise, doğrudan gen transfer tekniklerinin geliştirilerek uygulamaya alınmalarına neden olmuştur (Özcan ve Özgen, 1996). Bitkilerde gen transfer çalışmalarına 1982-1983 yıllarında başlanılmış ve aynı yıllarda transgenik bitkilere transfer edilen genlerin tezahürünün başarılması, genlerin yapı ve fonksiyonlarının analizi, düzenleme mekanizmalarının aydınlatılması gibi temel biyolojik konuların araştırılmasında yeni ve güçlü bir metot olarak yerini almıştır (Arı, 2001). Gen transfer metotlarıyla bitki gelişiminin değişik aşamalarındaki süreçlerin kontrolü, hareketli genetik elementlerin (transpozonların) bitkide kontrolü, bitki genlerinin kodlayıcı ve regülatör dizilerinin tanılanması, bitkideki metabolik ve biyokimyasal yolların belirlenmesi, çeşitli çevre stres şartlarına (kuraklık, don, yüksek asidite, yüksek tuzluluk, yüksek sıcaklık vs), bakteriyel, viral ve fungal hastalıklarla, herbisit ve pestisitlere dayanıklılık gibi bir çok özelliğin bitkilere kazandırılması mümkün olmuştur (Glick ve Pasternak, 1994). Direkt gen transfer yöntemleriyle yapılan bazı uygulamalar Tablo 1'de verilmiştir.

Bu tekniklerden, protoplastlara plazmidlerin yerleştirilmesi, mikroinjeksiyon ve hızlandırılmış partiküllerden yararlanılarak gen transferi en yaygın olarak kullanılan sistemlerdir (Lam, 1995).

Tablo 1. Direkt Gen Transfer Metotları (Arı, 2001)

Protoplastlara Gen Transferi
• Kimyasal yöntemlerle,
• Lipozomlarla,
• Elektroporasyon ile.
Hücre ve Dokulara Gen Transferi
• Biolistik (partikül bombardımanı),
• Mikroinjeksiyon,
• Elektroforez ve Mikrolazer,
• Polen Transformasyonu,
• Polen tüpü yoluyla DNA transferi,
• Zigotik embriyoya DNA emdirilmesi,
• Silikon karbit fiberler (lifler) aracılığıyla DNA transferi,
• Sonikasyon,
• Desikasyon.

## EKONOMİK ÖNEME SAHİP BAZI BİTKİLERDE GENETİK MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARI

### Virüse Dayanıklı Bitkiler Elde Edilmesi

Virüslere karşı dayanıklılık sağlamak amacıyla yapılan gen transfer çalışmalarında; bitkilerde mevcut

dayanıklılık genleri ile, esas olarak virüs genlerinde yapılan manipulasyonlarla dayanıklılıktan sorumlu farklı yapıların ortaya çıkarılması ve bunların istenilen bitkilere aktarılması amaçlanmaktadır. “**Çapraz Koruma**” olarak adlandırılan standart bir genetik yöntem aracılığıyla, ilgili virüsün daha az zarar yapan bir ırkıyla (koruyucu virüs) bitki inoküle edilerek, ileriki dönemlerde daha çok zarar yapan virüs ırklarına karşı bitkide bir korunma sağlanmaktadır (Sturtevant ve Beachy, 1993). Bulaşmaya karşı bitkinin direnç yeteneği kılıf proteininin derecesiyle yakından ilişkili olup, viral kılıf proteinlerinin aktarıldığı bitkilerde dayanıklılık artmaktadır. Virüse dayanıklılık genlerinin transferiyle patates, yonca, ve domates gibi bazı bitkilerde dayanıklılık sağlanmıştır. Transgenik bitkilerin tarla çalışmalarında, bitkinin agronomik özelliklerinde farklılık görünmemesine karşın, verim ve fertilitede düşüşler görülmüştür (Baulcombe, 1996). Ayrıca, virüs RNA’sı ile transgenik bitkiye aktarılmış olan viral RNA arasındaki rekombinasyon, bitkide daha fazla zarar yapacak yeni bir patojenin oluşumuna neden olabilir. Oluşan rekombinant virüslerin hem transgenik olmayan bitkilerde, hem de transgenik bitkilerde daha fazla zarara yol açtığı belirlenmiştir (Wintermantel ve Schoelz, 1996).

#### **Böceklerle Dayanıklı Bitkiler Elde Edilmesi**

Halen tarımı yapılmakta olan böceklerle dayanıklı transgenik bitkiler, bir toprak bakterisi olan *Bacillus thuringiensis* (Bt) bakterisinden endotoksin geni aktarılmış bitkilerdir. Bu bakteri toprak kaynaklı gram (+) bir bakteridir. Bt tarafından salgılanan kristal formdaki bir kısım proteinler (insektisidal Cr-3A-g-endotoksini), **Lepidoptera** familyasından bazı türlerin larvalarına ve **Coleoptera** familyasından bazı türlerin ergin ve larvalarına toksik tesir yapmakta, ancak insan, diğer omurgalılar ve faydalı böceklerle toksik tesiri olmamaktadır. Bt toksinlerinin tütün boynuzlu solucanı, patates böceği ve pamuktaki bazı zararlı böceklerle karşı emniyetli bir şekilde kullanıldığı bildirilmiştir. (Hilder vd., 1987; Vaeck vd., 1987; Palm vd., 1996). Bitkilerde böceğe dayanıklılık mekanizmasını artırmak için diğer bir yaklaşım ise “Serin Proteaz İnhibitörü” kullanılmasıdır. Bu proteinler domates, patates ve yem bezelyesi gibi bir kısım bitkilerde mevcut olup, böceklerin sindirim sistemlerindeki serin proteazları inhibe ederek etkili olurlar (Vaeck vd., 1987).

Transgenik bitkilerde meydana gelen bu dayanıklılık mekanizmasının daha ne kadar süre devam edeceği bilinmemektedir. Bt toksini transfer edilmiş bitkilerin etkilediği böceklerle beslenen yararlı böceklerin ölüm oranının arttığı veya gelişmelerinin geciktiği belirlenmiştir. Ayrıca, Bt toksininin etkili olduğu böcek türleri zamanla bu toksine karşı dayanıklılık kazanabilmektedir. Bt toksini bazen etkili olamamakta, bu nedenle yüksek konsantrasyonlarda kullanım sonucu çevresel problemler doğmaktadır. Diğer bir problem ise,

gen transferi yapılmış bitkilerden doğal tozlaşmayla toksin genleri yakın akraba yabancı bitkilere veya yabancı otlara geçmekte ve ekosistemin dengesi bozulmaktadır (Kennedy ve Whalon, 1995).

#### **Herbicide Toleranslı Bitkilerin Elde Edilmesi**

Bitki genetik mühendisliğinin ilk uygulamalarındandır. Herbicide tolerans özelliği kazandırılmış transgenik bitkiler, aktif maddesi bromoxinil, sülfonilurea, imidazolinon ve glifosfat gibi maddeler olan total herbisitlere karşı tolerans göstermektedirler. Bir bitkideki herbicide toleransın oluşturulmasında uygulanan strateji, belirli bir herbisidin etki yönünün belirlenmesine bağlıdır.

Araştırmacılar bitkilere herbisite tolerans özelliği kazandırmada şu stratejilerle hareket ederler (Shah, 1986):

1. Herbisitten etkilenen enzimin bitkilerde daha fazla ekspresyonunu sağlamak. Bitkilerdeki amino asit sentezinde rol alan ve bir kloroplast enzimi olan 5-enol-pyruvil-l-shikimat-3-fosfat sentez (EPSPS) enziminin aktivitesinin artırılmasıyla, ilk defa bitkilerde Glyphosate herbisitine karşı dayanıklılık mekanizması oluşturulmuştur.
2. Herbisitten etkilenmeyecek mutant bir enzim elde etmek. Amino asit substitusyonları içeren bakteriyel EPSPS enzimlerinin mutant formları kullanılmıştır.
3. Herbisidin etkisini detoksifiye edebilecek özellikte başka bir enzim aktarmak.
4. Herbisidin bitki tarafından alınması ve translokasyonunda rol alan proteinleri değiştirmek. *Streptomyces* bakterisinde bulunan bir genin bitkilere transferiyle, protein sentezinde önemli olan fosfonitrosin (PPT) amino asidinin tezahürü sağlanmakta ve dayanıklılık artırılmaktadır.

Yukarıda sayılan olumlu özelliklerinin yanında, herbicide dayanıklılık özelliği kazandırmanın bazı olumsuz yönleri de vardır;

- a) Herbicide dayanıklılık özelliği arttıkça, herbisit kullanımı artacak, daha fazla problemler ortaya çıkabilecektir.
- b) Doğal tozlanmalar sonucu transgenik kültür bitkilerinde mevcut olan herbicide dayanıklılık özelliği yabancı akraba türlere aktarılabilir, bu geni alan yabancı bitkilerle mücadele çok zor olacaktır (Linder ve Schmitt, 1995).
- c) Tek bir herbisidin uzun yıllar kullanımı sonucu, yabancı otlarda selektif baskı artacak ve doğal olarak herbicide dayanıklılık da artacaktır (Holt vd., 1993)
- d) Çok sayıda kültür bitkisinin aynı herbicide dayanıklılık özelliği kazandırılmış ise, önceki yıllardan tarlada kalan transgenik kendi-gelen

kültür bitkisi de herbiside dayanıklı olacak ve bunların kontrolü için ilave uygulamalar gerekebilecektir.

### Erkek Kısır Bitkilerin Elde Edilmesi

Hibrit tohum kullanımı, heterosis veya melez azmanlığı olarak bilinen ürün artışı nedeniyle, bitkisel üretimde oldukça önemli bir yer kaplamaktadır. Ancak, hibrit tohum endüstrisinde önemli birçok kültür bitkisi, melez tohum üretimi için gerekli erkek kısır hatlara sahip olmayıp, bu bitkilerden erkek organların mekanik yollarla uzaklaştırılması da mümkün olmamaktadır. Erkek kısırlığın kullanımındaki bu önemden dolayı, araştırmacıları genetik mühendisliği yoluyla “**erkek kısırlık sistemi**” geliştirmeye yöneltmiş ve bu yolda çalışmalar yapılmıştır (Goldberg vd. 1993).

Bu metotta, çok yüksek orandaki tütün cDNA’ları farklı bitki dokularından elde edilen mRNA’lar ile hibridize edilmiş, bunların anterlerin tapetum hücrelerine özgü olanları belirlenmiş ve daha sonra bu genin promotör bölgesi **Barnase** olarak adlandırılan bir bakteriyel RNA genine bağlanarak tütün ve kolza bitkilerine aktarılmıştır. RNase özellikteki Barnase geninin etkisiyle, özellikle tapetal hücrelerinde bulunan tRNA, mRNA ve rRNA’lar tahrip olmuş, dolayısıyla fonksiyonel çiçek tozlarının üretimi tamamen engellenmiştir. Melez bitkileri ıslah etmek, tohum ve meyve elde edebilmek için, bu transgenik bitkilere tekrar fertilitite kazandırmak gerekmektedir. Fertilitenin restorasyonu için, **Barstar** olarak adlandırılan ve Barnase geninin etkisini engelleyen bir restorer gen, tapetala özgü promotörün kodlama bölgesine aktarılmıştır. Barnase ve Barstar genlerinin aynı bitkide tezahür etmesiyle, RNase enzimi inaktive olmakta, polen gelişmesi mümkün olmakta ve neticede fertil melezler elde edilebilmektedir (Goldberg vd. 1993).

### Bitkilerdeki Yaşlanmanın Geciktirilmesi

Bitkilerdeki yaşlanma bir dizi fizyolojik ve biyokimyasal olaylar sonucu meydana gelen hücre parçalanması, klorofil degradasyonu, protein ve nükleik asit kayıpları ve neticede ölüm olayıdır. Bu durumu etkileyen dış faktörler ışık, besin maddelerinin durumu, sıcaklık ve su stresidir. Bitki organlarında bulunan iç sitokinin seviyesi, yaprak sararması ve bitki ölümünü hızlandırırken, dışarıdan sitokinin uygulaması bu durumu geciktirebilir. Yapılan çalışmalarda, IzoPentenilTransferaz (IPT) enziminin sitokinin biyosentezini azalttığı belirlenmiş ve bu enzim bitkilere transfer edilmiştir. Ayrıca, sitokinin üretimini hızlandıran genin ekspresyonunu negatif olarak oto regüle etmek suretiyle de sitokinin üretimine engel olmak mümkün olabilmektedir. Elde edilen transgenik bitkiler yabancı türlerine göre daha uzun süre yeşil kalırlar, daha fazla çiçek, meyve, tohum ve biomas meydana getirirler (Gan ve Amasino, 1995)

### Bitkilerdeki Karbon Metabolizmasının Modifikasyonu

Bitkilerdeki karbonhidratın büyük bir kısmı nişasta formundadır. Nişasta kloroplastlarla aynı genoma sahip ve onlarla benzer kökenden gelen bir plastid olan amiloplastlarda oluşur ve depolanır. Patates yumrularındaki nişasta miktarı ile şeker oranı arasında ters bir ilişki bulunmuştur. Yumruların parmak patatese ve cipse işlenmesi durumunda istenen yüksek nişasta oranı, daha az su içermesinden dolayı elde edilecek ürünün daha hızlı pişmesini sağlar, son ürünlerdeki yağ içeriğini de düşürdüğünden çok yararlıdır. Ayrıca, daha yüksek nişasta oranı makinalı hasat sırasında meydana gelebilecek zedelenmeleri de önleyecektir.

Nişasta biyosentezinde en önemli adım ADP-glukoz-piro-forilaz enzimi ile glukoz bi fosfatın ADP’ye dönüşümü aşamasıdır. Bu aşamada patatese özgü bir gen promotörü kullanmak suretiyle antisens ADP-glukoz-piro-forilaz geni transfer etmek suretiyle daha yüksek oranda nişasta içeren patates yumruları elde etmek mümkündür. Nişastayı meydana getiren amiloz ve amilopektin fraksiyonlarının değiştirilmesi suretiyle de nişastanın kompozisyonunu değiştirmek mümkündür. Amiloz ve amilopektin genlerini antisens oryantasyonda yerleştirmek ve/veya bunların fazla miktarda ekspresyonunu sağlamak suretiyle oranları değiştirmek mümkün olabilmektedir. Bunların oranını değiştirmek sanayide çok önemlidir. Amiloz düz zincir halinde şeker içerdiğinden ve çok düşük dallanma gösterdiğinde, ısıtıldığında hemen jel haline gelir. Buna karşın, amilopektin çok yüksek oranda dallanma içerir ve bünyesinde az sayıda hidrojen bağı bulundurur, bu nedenle ısıtıldığında kolayca sıvı haline gelir (Muller-Rober vd., 1992; Stark vd., 1992).

Bitkilerde bulunan diğer bir grup karbonhidrat dairesel dekstrinlerdir. Bu dekstrinler, gıdalardaki aromaları stabilize ettiklerinden veya istenmeyen molekülleri solüsyonlardan uzaklaştırdıklarından dolayı, gıda sanayiinde çok yaygın olarak kullanılabilmektedirler. Bakterilerden dairesel dekstrin üretiminde rol alan enzimler üretmek için gerekli genleri klonlamak ve bunların bitkilerde tezahürünü sağlamak suretiyle dekstrin üreten transgenik bitkiler elde etmek mümkündür. Patates yumrularındaki indirgen şeker içeriğinin artması, uzun süreli depolama sırasında nişastada meydana gelen parçalanmayla ilgilidir. Ancak, sanayi tip patateslerde yüksek nişasta içeriği arzu edilir. Çünkü nişasta içeriğinin yüksek olması (dolayısıyla kuru madde içeriğinin yüksek olması) parmak patates ve cipse işleme sırasında yağ absorpsiyonunu azaltmakta ve dolayısıyla son ürünlerdeki yağ içeriğini düşürmektedir (Freyre ve Douches, 1994).

Genetik mühendisliği yöntemleriyle bitkilere transfer edilen AGPase geni, Glukoz-1-fosfatın ADP-glukoza dönüşümünü katalize eden nişasta biosentez pathwayinden sorumlu olan anahtar bir enzimdir. AGPase enzimini kodlayan genin (GlgC16) soğukta

depolama süresince indirgen şeker birikimini kontrol etmede etkili bir yol olacağı görülmektedir (Muller-Rober vd., 1992). Ayrıca, AGPase'in bir substratı olan Heksoz Fosfat seviyesinin de soğukta depolamada arttığı gözlenmiştir (Pollock ve apRees, 1975). Bu nedenle, AGPase aktivitesini artırmak için yüksek oranda heksoz fosfat, şeker sentezi için ise daha az oranda heksoz fosfat kullanılması gerektiği belirtilmiştir. Bu teknolojinin kullanılması, kimyasal sürgün önleyiciler veya diğer metotlara bir alternatif oluşturabilir.

### **Antisens RNA Teknolojisi ve Gen İnaktivasyonu**

Bilindiği gibi, hücrelerin protein yapımında kullandıkları bilgiyi çift sarmal DNA'dan sadece bir tanesi taşımakta, bilgiyi taşıyan bu sarmala sens; ötekine antisens iplikcik adı verilmektedir (Özcan ve Özgen, 1996). Son yıllarda geliştirilen **Antisens Teknolojisi**, belirli protein veya enzimlerin üretiminden sorumlu genlerin etkilerini kolayca ortadan kaldırebilmektedir. Yapılan değişik antisens çalışmalarında hedef genlerin mRNA ve dolayısıyla protein üretimleri % 97'lere varan oranlarda engellenebilmiştir. **Antisens RNA teknolojisi**; hedef mRNA dizinine tamamlayıcı olan bir RNA kolunun bitki genomuna girişi ile DNA'dan RNA yoluyla proteine kadar olan bilgi akışının bloke edilmesi temeline dayanmaktadır (Mol vd., 1990). Diğer bir deyimle, bir mRNA'ya ait cDNA kopyasının tamamlayıcı (komplementer) mRNA dizisi oluşturmak üzere ilgili genoma aktarılmasıdır (Ergül vd., 2001).

Antisens RNA yaklaşımından temel olarak 2 şekilde yararlanılmaktadır (Turgut vd., 2001):

- Bitkilerde ifadesi istenmeyen genlerin engellenmesi ve böylece yararlı fenotiplerin ortaya çıkarılması,
- Daha önce fonksiyonu bilinmeyen bir genin bitkideki rolünün veya geni tanımlanmış olan bir proteinin bitkideki fonksiyonunun araştırılması.

Domates ve muz gibi etli meyveli bitkilerde olgunlaşma ve depolama sırasında solunum devam etmekte ve etilen üretiminde bir artış görülmektedir. Depolama sırasında bunlarda meydana gelecek aşırı bir olgunlaşma temasla diğerlerini de etkilemektedir. Domates hücre duvarında bulunan poli-galakturnaz (PG) enziminin meyve yumuşamasında önemli bir rolü bulunmaktadır. Bu enzim olgunlaşma sırasında hücre duvarındaki pektini parçalayarak meyvenin yumuşamasına neden olmaktadır. Antisens uygulamasıyla PG genlerinin tezahürü azalmakta, olgunlaşma ve çürümenin önüne geçilebilmektedir. Olgunlaşma süresince PG aktivitesindeki azalma, olgunlaşma ile ilgili diğer olayları (etilen üretimi, invertaz aktivitesi, pektin esteraz aktivitesi) etkilemişlerdir (Oeller vd., 1991). Bu teknoloji diğer bir domates hücre duvarı enzimi olan pektin esteraz (PE) geninin ifadesini engellemek amacıyla da kullanılmıştır

(Hall vd., 1993). Antisens RNA teknolojisi ile elde edilmiş domates meyvelerine gaz halinde etilen veya propilen püskürtülmesiyle, olgunlaşma otokatalitik olarak başlar ve temasla aynı anda bütün bir grup domates istenen olgunluğa getirilir. Domateste yapılan diğer bir çalışmada, etilen üretimini hızlandıran ve olgunlaşmaya sebep olan S-adenozil metionin ACC sentaz enziminin faaliyetlerinin engellenmesiyle ilgilidir. Transgenik domates bitkilerinde, olgunlaşmakta olan meyvede ve yaralanmış dokularda etilen biosentezi önemli ölçüde azalmıştır (Hamilton vd., 1990). Stearoyl-acyl taşıyıcı desaturaz enzimini kodlayan genin antisens ifadesi ile kolza yağının yağ asidi kompozisyonu değiştirilmiş, patates nişastasında amiloz oranı düşük yumrular elde edilmiş, domateste sakkaroz içeriği artırılmış, domates, patates ve tütünde virüslere dayanıklı bitkiler elde edilmiştir.

Antisens Teknolojisi; yağlı tohumlu bitkilerde yağ kalitesinin iyileştirilmesi, hibrit çalışmaları için erkek kısır bitkilerin elde edilmesi, patates yumrularında nişasta kalitesinin artırılması, hassas meyvelerin depolama ve nakliye uygunluğu açısından sertliklerinin artırılması, protein kalite ve miktarının artırılması ve daha bir çok kalite unsurlarının iyileştirilmesi, stres faktörlerine dayanıklılığın artırılması gibi bir çok alanda kullanılabilecek bir potansiyele sahiptir. Bu teknolojinin en önemli avantajı ise; bir bitki türü için uygun olan antisens RNA'nın homoloji olması şartıyla başka bitki türleri için de uygulanabilir olmasıdır (Turgut vd., 2001).

### **Yağ Asidi Kompozisyonunun Modifikasyonu**

Bitkilerdeki yağ asidi sentezi çok kompleks bir mekanizma olup, bu olayda çok farklı enzimler rol almaktadır. Bu enzimlerin bir çoğunun klonlanması ve bitki dokularındaki yağ asidi kompozisyonunun değiştirilmesi mümkün olmaktadır. Bu modifikasyonlar bitkinin genel fizyolojisini etkilememekte, ancak kalitede önemli değişiklikler yapmaktadır (Ohlroge, 1994). Stearoyl-acyl taşıyıcı desaturaz enzimini kodlayan genin antisens ifadesi ile kolza yağının yağ asidi kompozisyonu değiştirilmiştir (Turgut vd., 2001).

### **Değişik Renk ve Özellikteki Çiçekli Bitkilerin Elde Edilmesi**

Son yıllarda çok geniş bir iş hacmine sahip olan çiçek sanayii, problemlerinin çözümü için Rekombinant DNA Teknolojisi'ne başvurmuştur. Elde edilen transgenik bitkiler yeni renk, şekil ve büyüme özelliklerine sahiptirler. Yapılan bir çalışmada, mısır danesine eflatun (mor) renk veren pigmenti taşıyan antosiyanın üretimindeki pathwayde görevli bir enzimi kodlayan gen, mısırdan petunyaya transfer edilmiştir. Daha koyu mor renkli çiçekler elde edilmesi beklenirken, 15 transgenik bitkiden ikisinin uniform-kiremit kırmızısı renge, dördünün ise açık kiremit kırmızısı renge sahip olduğu görülmüştür. Başka bir çalışmada ise, koyu renk

çiçekli petunyadan başka bir petunyaya koyu renk geni transfer edilmiş, transgenik bitki çiçeklerinin tamamen renksiz veya açık renk-şeritli olduğu görülmüştür. Bu durum bazen bir genin ilavesiyle, başka bir genin inaktive olabileceği şeklinde izah edilmiş ve bu mekanizma karşılıklı baskılama (**co-suppression**) veya gen etkisinin azalması (**gene-silencing**) olarak ifade edilmiştir. Diğer bir çalışma güllerde yapılmıştır. Mavi renkli pigment biosentezinde etkili delphinidium proteinini kodlayan bir gen petunyadan klonlanarak güllere aktarılmıştır. Değişik renk aralıklarında değişik renk ve özellikteki yeni çiçekler elde edebilmek için çalışmalar devam etmektedir (Napoli vd., 1990).

### **Ticari Seviyede Protein Üretimi İçin Transgenik Bitki Elde Edilmesi**

İlaç sanayiinde kullanılacak proteinin memeli hücre kültüründe üretimi son derece pahalı bir işlem olup milyonlarca memeli hücresine ihtiyaç vardır. Bu nedenle, bitki genetik mühendisliğinin kullanım alanı genişledikçe, araştırmacılar heterolog protein üretimi için bitkilere yönelmişlerdir. Yapılan laboratuvar çalışmalarında, bir insan nöropeptidi olan ansefalin, fare monoklonal antibodinin ve insan serum albumininin bitkilerde tezahürü sağlanabilmiştir. Bitkileri hastalık, değişik pestisitler ve zararlı toksinlere karşı dayanıklı hale getirmek için değişik antibodiler üretmek mümkündür. Ayrıca, klinik tedavide kullanılmak üzere de monoklonal antibodiler üretilmektedir. Transgenik tütün bitkisinde hafif ve ağır zincirli antibodilerinin tezahürünün sağlanması ve bazı bitki saplarından “doku plazminojen aktivatörü” proteininin saflaştırma çalışması yapılmış, ancak bunların çok pahalı işlemleri gerektirmesinden dolayı deneme safhasından ileriye gidilememiştir (Hiatt vd., 1989).

### **Patateslerde Depolamaya Dayanıklılığın ve Besin Değerinin Artırılması**

Patateste işleme teknolojisi yönünden nişastanın önemi bilinmektedir. Genetik çalışmalarda patates yumrusunun depolanması sırasında meydana gelebilecek biyokimyasal değişiklikler önlenmeye çalışılmış, bu sayede parmak patates veya cipse işleme sırasında meydana gelebilecek kararmaların önüne geçilebilmiştir. Yapılan çalışmalarda, patateste nişasta parçalanmasında etkili olan R1 proteinini kodlayan gen izole edilerek transfer edilmiş, bu sayede soğuk tatlanmasının önüne geçilebilmiştir. Transgenik bitkilerin yumru veriminde azalma olmadığı gibi, hastalık ve zararlılara karşı hassasiyetleri artmıştır (Muller-Rober vd., 1992). ABD’de yapılan çalışmalarda ise patatesi bozulma ve çürümeye karşı daha dayanıklı kılan GlgC16 geni bakterilerden patates bitkisine transfer edilmiş ve elde edilen sert yapıdaki transgenik yumrular Monsanto firması tarafından ABD piyasasına arz edilmiştir (Preiss, 1998). Patates yumrusunda bulunan en önemli protein 40 kDa büyüklüğündeki bir glikoprotein olan patatin

proteinidir. Patatin proteini, patates yumrularındaki toplam çözünebilir proteinin % 40’ını oluşturmakta ve bir düzineden fazla bir gen grubu tarafından kontrol edilmektedir. Yapılan çalışmalarda GUS enziminin aktivitesi artırılarak patatin proteininin miktarı yükseltilmeye çalışılmıştır (Kossmann, 1998).

### **Hastalıklara Dayanıklılığın Artırılması**

Bitkiler patojen saldırılarından kendilerini korumak için bir çok savunma mekanizmasına sahiptir. Bu savunma mekanizmaları bazı patojenler için caydırıcı bir rol oynamasına karşın, diğer bazı patojenler için etkisiz kalabilir. Bunun sonucunda da hastalık ortaya çıkar. Herhangi bir hastalığa dayanıklı transgenik bitki üretiminde çeşitli kaynaklardan (bitki tohumu, böcek, bakteri veya funguslardan) izole edilerek saflaştırılan proteinler değişik patojen sporlarıyla inkübe edilirler. Daha sonra proteinler PCR kullanılarak klonlanır ve uygun vektörlerle bitkilere aktarılır. Neticede transgenik bitkiler antifungal veya antibakteriyel etkiye sahip proteinleri kendi hücrelerinde üretmeye başlarlar. Transgenik bitkiler hayatının herhangi bir döneminde, bu proteine karşı hassas olan bir patojen tarafından saldırıya uğradığında, bitkinin bu saldırıdan etkilenme olasılığı minimuma indirilir. Yapılan çalışmalarda; patates yumrularında çürüklük hastalığı etmeni olan *Erwinia caratovora* bakterisine, tütün bitkisinde *Alternaria longipes*’e, mısırdaki *Exserohium turcicum*’a, tütünde *Pseudomonas syringae* bakterisine, Arabidopsis’te *Fusarium oxysporium*’a dayanıklılık artırılmıştır (Kazan ve Gürel, 2001).

Kitinaz, glukonaz, peroksidaz vd patojenez ile ilgili proteinler, bitkinin patojen tarafından saldırıya uğramasının hemen ardından yüksek düzeyde ifade edilirler. Bu genlerin ürünleri olan proteinler in vitro şartlarda test edildiklerinde, patojen gelişimini engelleyici bir etkiye sahip oldukları görülür. Bitki hücre duvarının dayanıklılığında önemli bir enzim olan kitinaz enzimini kodlayan genler fasulye, çeltik ve tütün bitkilerine aktarılmış, bunların *Rhizoctonia solani*’ye karşı dayanıklılıklarının arttığı gözlenmiştir. Kitinaz ve glukonaz genleri birlikte aynı bitkide ifade edildiğinde, elde edilen dayanıklılığın sinergistik etkiden dolayı daha da arttığı gözlenmiştir. Bunların dışında patojenez ile ilgili (PR) protein genleri, poligalakturonazı inhibe eden protein (PGIP) genleri ve monoklonal antikor genlerinin transgenik bitkilerde tezahürü sağlanmıştır. Ayrıca, gen transfer metotlarıyla patojen sinyallerinin artırılması ve bitkilerde aktif oksijen türevlerinin üretimi yoluyla da hastalıklara dayanıklılığın artırılması mümkün olmuştur (Kazan ve Gürel, 2001).

### **Bitkilerde Strese Dayanıklılığın Artırılması**

Yapılan çalışmalarda Mn-SOD (Super Oksit Dismutaz) geninin tütüne aktarılmasıyla aktif oksine dayanıklı transgenik bitkiler elde edilmiştir. Ekmek mayasından alınan bir gen tütüne aktarılmış, neticede

kuraklığa ve kurumaya dayanıklı, kökleri derine inebilen, daha kalın kutikulaya sahip ve hücrelerindeki tuz içeriğini ayarlayabilme yeteneğinde transgenik bitkiler elde edilmiştir. Kuraklığa toleranslı bitkiler, küresel ısınma da dikkate alındığında, suyun sınırlı olduğu alanlarda önemli bir yere sahip olabileceklerdir (Gürel ve Avcıoğlu, 2001).

Genetik Mühendisliği uygulamalarıyla bitkilere kuraklığa ve tuza dayanıklılık özellikleri kazandırılırken, yüksek verimini de muhafaza etmesi istenir. Son yıllarda tuza toleranslı domates, kavun ve arpa çeşitleri geliştirilme aşamasındadır. Transgenik bitkilerde mannitol veya sorbitol miktarlarının artmasına yol açan genlerin transferi bitkileri tuzluluk stresine dayanıklı kılmaktadır. Hücre bölünmesi, büyüme ve farklılaşma, yaşlanma gibi değişik hücre fonksiyonlarına sahip poliaminler, bitkilerin çevresel strese karşı tepkilerinde etkilidirler. Yapılan bir araştırmada, membranlardaki doymamış yağ asitlerinin yüksek olması, tuz stresine karşı fotosentetik yapının toleransı bakımından önemlidir. Transgenik bitkilerde tezahür eden Cod A genini taşıyan tohumlar su emme, çimlenme ve genç fide dönemlerinde meydana gelebilecek yüksek sıcaklıklara karşı bitkileri korumaktadırlar. Yüksek sıcaklığa toleransın artma derecesinin, transgenik bitkilerde biriken glisin betainin ve üretilen choline oksidazın seviyeleriyle de ilişkili olduğu belirlenmiştir. Kutuplarda yaşayan bir balık türünden (*Pseudopleuronectes americanus*) alman ve antifriz proteini kodlayan bir gen, domates ve tütün bitkilerine aktarılmış ve dona dayanıklı bitkiler elde edilmiştir (Gürel ve Avcıoğlu, 2001).

## SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Genetik Mühendisliği tekniklerinin yaygınlaşmasıyla, bir bitkinin orijinal özelliklerini bozmadan kısa zamanda yeni karakterler kazandırmak oldukça kolaylaşmıştır. Bitki biyoteknolojisinin ilk uygulama alanları herbisitlere, böceklerle, virüslere ve hastalıklara dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi yönünde olmuştur. Son yıllardaki araştırmalar ise, stres şartlarına dayanıklılık, kalitenin iyileştirilmesi, bitkisel ürünlerin raf ömrünün uzatılması ve insan tedavisinde kullanılan ürünlerin bitkiler tarafından üretimi üzerine yoğunlaşmıştır. Değişik bitki türlerinin genom haritalarının çıkarılması, baklagil köklerinde bulunan havanın serbest azotunu fikse eden genlerin transferi, tahıllarda son kullanım kalitesini manipüle eden genlerin transferi, daha ileri moleküler genetik çalışmalarıyla istenmeyen genlerin uzaklaştırılması, bitkilerdeki mobil elementlerin (transpoze olabilir elementler) gen transferinde kullanılma imkanlarının araştırılması üzerinde çok yoğun araştırmalar sürdürülmektedir (Özcan ve ark., 1999).

Bütün bu gelişmelere rağmen, genetik mühendisliği çalışmalarında bir çok problem bulunmaktadır. Özellikle, önemli agronomik ve fizyolojik karakterleri yöneten genlerin belirlenmesi ve izolasyonu problem

oluşturmaktadır. Bu uygulamanın, daha bir çok laboratuvar, sera ve tarla çalışmalarına ihtiyaç vardır. Moleküler genetik çalışmaları yapan araştırmacılar için en önemli problemlerden birisi, poliploidi özelliğine sahip bitkilerin çok büyük genoma sahip olmaları ve bu nedenle regeneratif kabiliyetlerinin düşük olmasıdır. Bu özellikteki transgenik bitkiler genetik olarak homojen ve stabil değildir. Ayrıca tek çenekli ve hermafrodit bitkiler (mısır, çeltik, buğday gibi), çift çeneklilere göre gen transferinde daha fazla zorluk çıkarmaktadırlar. Bu nedenle, bu bitkilerde gen transferinde uygun rejenerasyon sistemlerinin geliştirilmesi için yoğun çalışmalara ihtiyaç vardır (Walden ve Schell, 1990; Fraley ve Schell, 1991).

Transgenik ürünlerin tüketici tarafından tercih ve kabul edilebilirliği çok önemli olup, yapılan gen transferinin bitkinin diğer özelliklerini etkilememesi, vitamin ve diğer besin maddelerini azaltmaması yönünde de çalışmalar yapılmaktadır. Gen transferinde kullanılan markör genlerin antibiyotiğe dayanıklı olması nedeniyle, bunu gıdalarıyla alan tüketicilerde antibiyotiğe dayanıklılık oluşmaktadır. Son yıllarda markör genlerin bitkilerde protein üretimini sınırlandıran veya bu genlerin bitkilerden tamamen uzaklaştırılmasını sağlayan metotlar geliştirilmiştir (Özcan ve Özgen, 1996).

Transfer edilen bazı genlerin ürünleri allerjen (allerji yapan gen) özellikte olabileceği gibi, bazıları da bitkinin orijinalinde bulunan diğer genlerle interaksyona girerek gen etkileşimlerinden dolayı istenmeyen durumlar ortaya çıkabilir. Transgenik ürünler yalnız başına toksik olmayan gıdalarda sinergistik etkiden dolayı toksik olabileceği gibi, bu ürünlerin genelde yetişkinlerde denemesinden dolayı hasta (özellikle mide ülseri), yaşlı ve bebeklerdeki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle, biyoteknolojik yöntemlerle yeni bazı karakterler kazandırılan ve daha yüksek verim ve kalitede ürün verebilecek yeni bitki tür ve çeşitlerinin yaygın olarak yetiştirilmesine başlanmadan önce, bunların söz konusu çevredeki muhtemel riskleri de gözönünde bulundurulmalıdır. Bu bitkilerin sera ve tarla şartlarındaki testleri sırasında sadece agronomik özellikleri açısından değil, aynı zamanda çevre ile olan tüm interaksyonları ile tüketici sağlığı ve kabulü açısından da test edilmeleri gerekmektedir (Vasil, 1998).

## KAYNAKLAR

- Algur, Ö. F., 1992. Temel Biyoteknoloji Ders Notları. Ata. Üni. FEF Biyoloji Bölümü Yayın No: 149, Erzurum.
- Arı, Ş., 2001. Doğrudan Gen Aktarım Teknikleri. Bitki Biyoteknolojisi: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları (Ed. S. Özcan, E. Gürel ve M. Babaoğlu).s:160-189.
- Arslan, N., 1985. Patates Tohumluğunda ve Çeşitlerin Muhafazasında Doku Kültürlerinden Yararlanma İmkanları. Türkiye Sertifikalı ve Kontrollü Tohumluk Üretim ve Dağıtım Sorunları Simpozyumu, 563-573.
- Baulcombe, D. C., 1996. Mechanisms of Pathogen-derived Resistance to Viruses in Transgenic Plants. Plant Cell 8(10):1833-1844.

- Ergül, A., Aras, S., Erayman, M., Özcan, S., 2001. Virüslere Dayanıklı Transgenik Bitkilerin Geliştirilmesi. *Bitki Biyoteknolojisi: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları* (Ed. S. Özcan, E. Gürel ve M. Babaoğlu).s:239-260.
- Fraley, R., Schell, eds. J. J., 1991. *Plant Biotechnology, Current Opinion in Biotech.* 2:145-210.
- Freyre R., Douches, D.S. 1994. Development of a model for marker-assisted selection of specific gravity in diploid potato across environments. *Crop Sci.* 34:1361-1368.
- Gan, S., Amasino, R. M., 1995. Inhibition of leaf Senescence by Autoregulated Production of Cytokinin. *Science*, 270: 1986-1988.
- Gasser, C. S., Fraley, R. T., 1989. Genetically Engineering Plants of Crop Improvement. *Science*, 244:1293-1299.
- Glick, B.R., Pasternak, J. J., 1994. *Molecular Biotechnology Principles and Applications of Recombinant DNA*. ASM Press, Washington, D.C.
- Goldberg, R.B., Beals, T.P., Sanders, P.M., 1993. Anther Development: Basic Principles and Practical Applications. *Plant Cell*, 5:1217-1229.
- Gönülşen, N., 1991. Germplazm Muhafazasında Kullanılan *In Vitro* Teknikleri. *Anadolu Dergisi*. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Yay. s: 49-68.
- Gürel, A., Avcıoğlu, R., 2001. Bitkilerde Strese Dayanıklılık Fizyolojisi. *Bitki Biyoteknolojisi: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları* (Ed. S. Özcan, E. Gürel ve M. Babaoğlu).s:288-326.
- Hall, L.N., Tucker, G.A., Smith, C.J.S., Watson, C.F., Seynour, G.B., Bundick, Y., Boniwell, J.M., Fletcher, J.D., Ray, J.A., Schuch, W., Bird, C.R., Grierson, D., 1993. Antisense inhibition of pectin esterase gene expression in transgenic tomatoes. *Plant J.* 3:121-129.
- Hamilton, A. J., Lycett, G.W., Grierson, D., 1990. Antisense gene that inhibit syntethesis of the hormone ethylene in transgenic plants, *Nature*, 346:284-287.
- Hiatt, A., Cafferkey, R., Bosdish, K., 1989. Production of Antibodies in Transgenic Plants. *Nature*, 342:76-78.
- Hilder, V.A., Gatehouse, A.M.R., Sheerman, S.E., Barker, R.F., Bouter, D., 1987. A Novel Mechanism of Insect Resistance Engineered in Tobacco. *Nature*, 330:160-163.
- Holt, J.S., Powles, S.B., Holtum, J.A.M., 1993. Mechanisms and agronomic aspects of herbicide resistance. *Annual Review of Plant Physiology, Plant Molecular Biology*, 44:203-229.
- Kazan, K., Gürel, A., 2001. Hastalıklara Dayanıklılığın Artırılması. *Bitki Biyoteknolojisi: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları* (Ed. S. Özcan, E. Gürel ve M. Babaoğlu).s:261-287.
- Kennedy, G.G., Whalon, M.E., 1995. Managing pest resistance to *Bacillus thuringiensis* endotoxins:constraints and incentives to implementation. *J.Economic Entomology*, 88:454-460.
- Kossmann, J., 1998. Longer Lasting Potatoes. *Science News*. The American Association for the Advancement of Science.
- Lam, E., 1995. *Plant Gene Expression*. In:R.A.Mayers (ed), *Molecular Biology and Biotechnology*, VCH Publishers Ltd, UK.
- Linder, R., Schmitt, J., 1995. Potential persistence of escaped transgenes: Performance of transgenic oil modified Brassica seeds and seedlings. *Ecol. Applications*, 5:1056-1068.
- Mol, J.N.M., van der Krol, A.R., van Tunen, A.J., van Blokland, R., de Lange, P., Stuitje, A.R., 1990. Regulation of plant gene expression by antisense RNA. *FEBS Letters*, 268:427-430.
- Muller-Rober, B., Sonewald, U., Willmitzer, L., 1992. Inhibition of the ADP-Glucose Pyrophosphorylase in Transgenic Potatoes Leads to Sugar-Storing Tubers and Influences Tuber Formation and Expression of Tuber Storage Protein Genes. *EMBO Journal*, 11: 1229-1238.
- Napoli, C., Lemieux, C., Jorgensen, R., 1990. Introduction of a Chimeric Chalchone Synthase Gene into *Petunia* Results in Reversible Co-suppression of Homologous Genes in Transgenic Plants. *Plant Cell*, 2:279-289.
- Oeller, P. L., Min-Wong, L., Taylor, L., Pike, D., Theologis, A., 1991. Reversible Inhibition of Tomato Fruit Senescence by Antisense RNA. *Science*. 254:437-439.
- Ohlrogge, G. B., 1994. Design of New Plant Products: Engineering of Fatty Acid Metabolism. *Plant Physiology*, 104:821-826.
- Özcan, S., Özgen, M., 1996. *Bitki Genetik Mühendisliği*. *Kükem Dergisi*. s:69-95.
- Özcan, S., Yıldız, M., Mirici, S., Sancak, C., 1999. Transgenik Bitki teknolojisi. *Türkiye 3. Tarla Bitkileri Kongresi*, Cilt 1, Genel ve Tahıllar, 11-16.
- Özcan, S., Uranbey, S., Sancak, C., Parmaksız, İ., Gürel, E., Babaoğlu, M., 2001. *Agrabacterium Aracılığıyla Gen Aktarımı*. *Bitki Biyoteknolojisi: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları* (Ed. S. Özcan, E. Gürel ve M. Babaoğlu).s:112-159.
- Palm, C.J., Shaller, D.I., Donegan, K.K., Seldler, R. 1996. Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var.kurstaki endotoksin. *Canadian J Microbiol*, 42:1258-1262.
- Pollock, C.J., ap Rees, T., 1975. Effect of Cold on Glucose Metabolism by Callus and Tubers of *Solanum tuberosum*. *Phytochemistry*, 14:1903-1906.
- Preiss, J., 1998. Longer Lasting Potatoes. *Science News*. The American Association for the Advancement of Science.
- Shah, D.M., 1986. Engineering Herbicide Tolerance in Transgenic Plants. *Science*, Vol.223:478-481.
- Stark, D.M., Timmerman, K. P., Barry, G. F., Preiss, J., Kishore, G.M., 1992. Regulation of the Amount of Starch in Plant Tissues by ADP Glucose Pyrophosphorylase. *Science*, 258: 287-292.
- Sturtevant, A.P., Beachy, R.N., 1993. Virus resistance in transgenic plants: Coat protein mediated resistance. In: A. Hiatt (ed.), *Transgenic Plants*, Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- Turgut, K., Uranbey, S., Özcan, S., 2001. Antisens RNA Teknolojisi. *Bitki Biyoteknolojisi: Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları* (Ed. S. Özcan, E. Gürel ve M. Babaoğlu).s:401-420.
- Vaeck, M., Reynaerts, A., Hofte, H., Jansen, S., DeBeukeleer, M., Dean, C., Zabeau, M., vanMontagu, M., Leemans, J., 1987. Transgenic Plants Protected from Insect Attack. *Nature*. 328:33-37.
- Vasil, I. K., 1998. Biotechnology and food security for 21<sup>st</sup> century: A real-world perspective. *Nature Biotechnology*, 16:399-400.
- Walden, R., Schell, J., 1990. *Techniques in Plant Molecular Biology*. *European Biochem.* 192: 563-576.
- Watson, J.D., Gilman, M., Witkowski, J., Zoller, M., 1992. *Recombinant DNA*. Scientific American Books, New York, USA.
- Wintermantel, W.W., Schoelz, J.L., 1996. Isolation of recombinant viruses between cauliflower Mosaic Virus and a viral gene in transgenic plants under conditions of moderate selection pressure. *Virology*, 223:156-164.
- Zupan, J. R., Zambryski, P., 1995. Transfer of T-DNA from *Agrobacterium* to the Plant Cell. *Plant Physiology*. 107:1041-1047.