# BİTKİ ISLAHINDA MARKÖRLER YARDIMIYLA SELEKSİYON (MAS)

**Doç. Dr. Ahmet YILDIRIM**

**Bitki Moleküler Genetiği ve Islahı**

**Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat Fak.**

**Tarla Bitkileri Bölümü, Tokat**

- ✓ **Giriş**

- ✓ **MAS'ta Kullanılan Genetik Markörler**
  - ➢ Morfolojik markörler
  - ➢ Biyokimyasal markörler
  - ➢ Moleküler markörler (DNA Markörleri)

- ✓ **DNA markörlerinin seleksiyonda kullanılması (MAS)**
  - ➢ Basit karakterlerin aktarımı
  - ➢ Kantitatif karakterlerin (QTL) aktarımı
  - ➢ Gen piramitlerinin oluşturulması

- ✓ **Sonuç ve tartışma**

| Temel Gıda Bitkileri | Ekim (ha) | Üretim (ton) | Verim (kg/ha) |
|---|---|---|---|
| Buğday | 215,765,044 | 627,130,584 | 2906.5 |
| Mısır | 147,022,333 | 721,379,361 | 4906,6 |
| Çeltik | 151,295,524 | 605,758,530 | 4003,8 |

FAOSTAT, 2004

- ✓ **2025 yılında dünya nüfusunun 8 milyar olacağı tahmin edilmektedir.**
- ✓ **Bu nüfusu besleyebilmek için, gıda üretimi her yıl % 1,2 artmak zorundadır.**
- ✓ **Tarıma açılacak yeni arazi kalmamıştır. Üretimi artırmanın en etkili yolu bitki ıslahıdır.**
- ✓ **Bitki ıslahında başarı; etkin, doğru ve hızlı seleksiyona bağlıdır.**

# Genetik Markörler

**Seleksiyonda kullanılacak markör tipleri üç sınıfta toplanabilir.**

- ✓ **Morfolojik markörler**
- ✓ **Biyokimyasal markörler**
- ✓ **Moleküler Markörler (DNA markörleri)**

# Morfolojik markörler

## Dezavantajları

- ✓ Az sayıdadırlar.
- ✓ Çevreden ve diğer lokuslardan etkilenirler.
- ✓ Çoğunlukla dominant özelliktedirler, yani sadece dominant fenotipi (AA ve Aa) resesif fenotipten (aa) ayırabilirler.

## Avantajları

- ✓ Analizleri kolaydır. Haritalama populasyonunda yapılacak bir gözlem ile kolayca belirlenirler.

Örnek: Gövde mumluluğu, kılçığın kaba veya düz olması, rachilla tüylülüğü, koleoptil rengi, çiçek rengi vs.

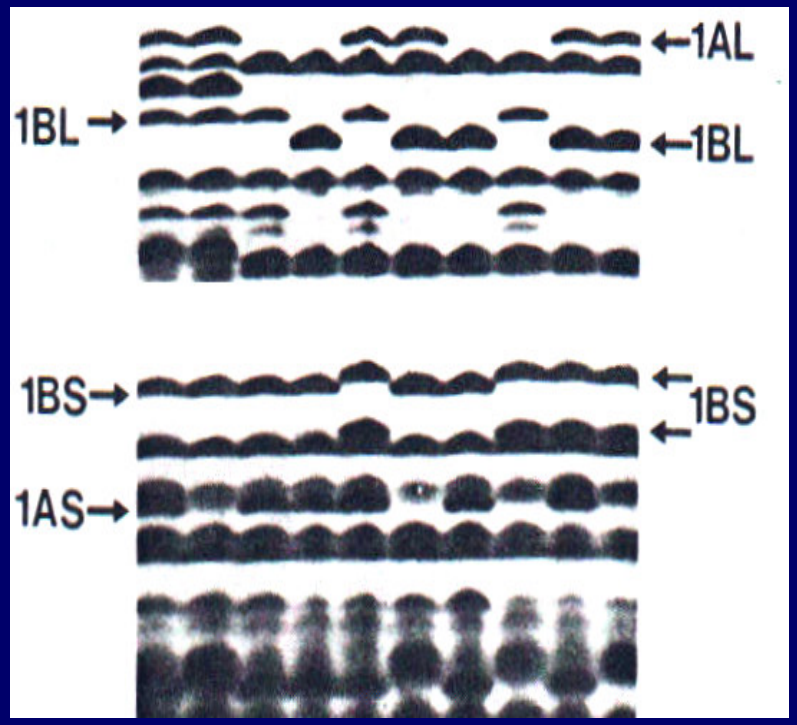
# Biyokimyasal markörler

**Depo proteinleri ve enzim proteinleri olarak iki ana gruba ayrılırlar.**

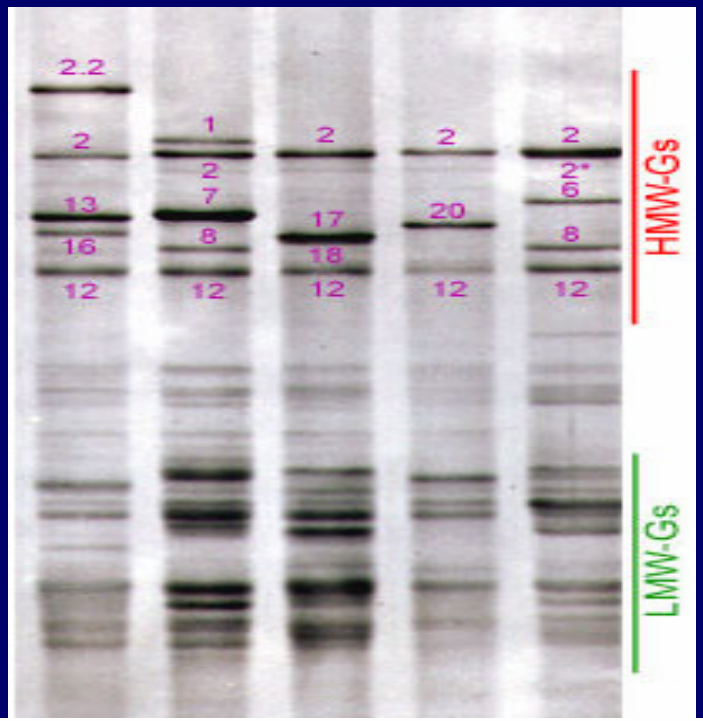
- **Buğday tohumunda bulunan iki depo protein grubu olan gliadin ve glutenin, depo protein markörleri amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır**
  - ✓ **Depo proteinlerinin en önemli avantajları analizlerinin çabuk, güvenilir ve tekrarlanabilir olmasıdır. En büyük dezavantajları ise sayıca çok az olmalarıdır.**

- **Enzim markörleri kendi içinde Alloenzimler ve İzoenzimler olarak iki ana grup altında incelenebilir.**
  - ✓ **Enzim markörlerinin temel avantajları analizlerinin çabuk, ucuz ve güvenilir olmasıdır. Çevreden ve diğer lokuslardan etkilenmezler. En büyük dezavantajları sayılarının çok az olmasıdır. Ayrıca özel dokularda ve belli bir gelişme döneminde gözlenebilir olması da bir dezavantajdır.**

A)



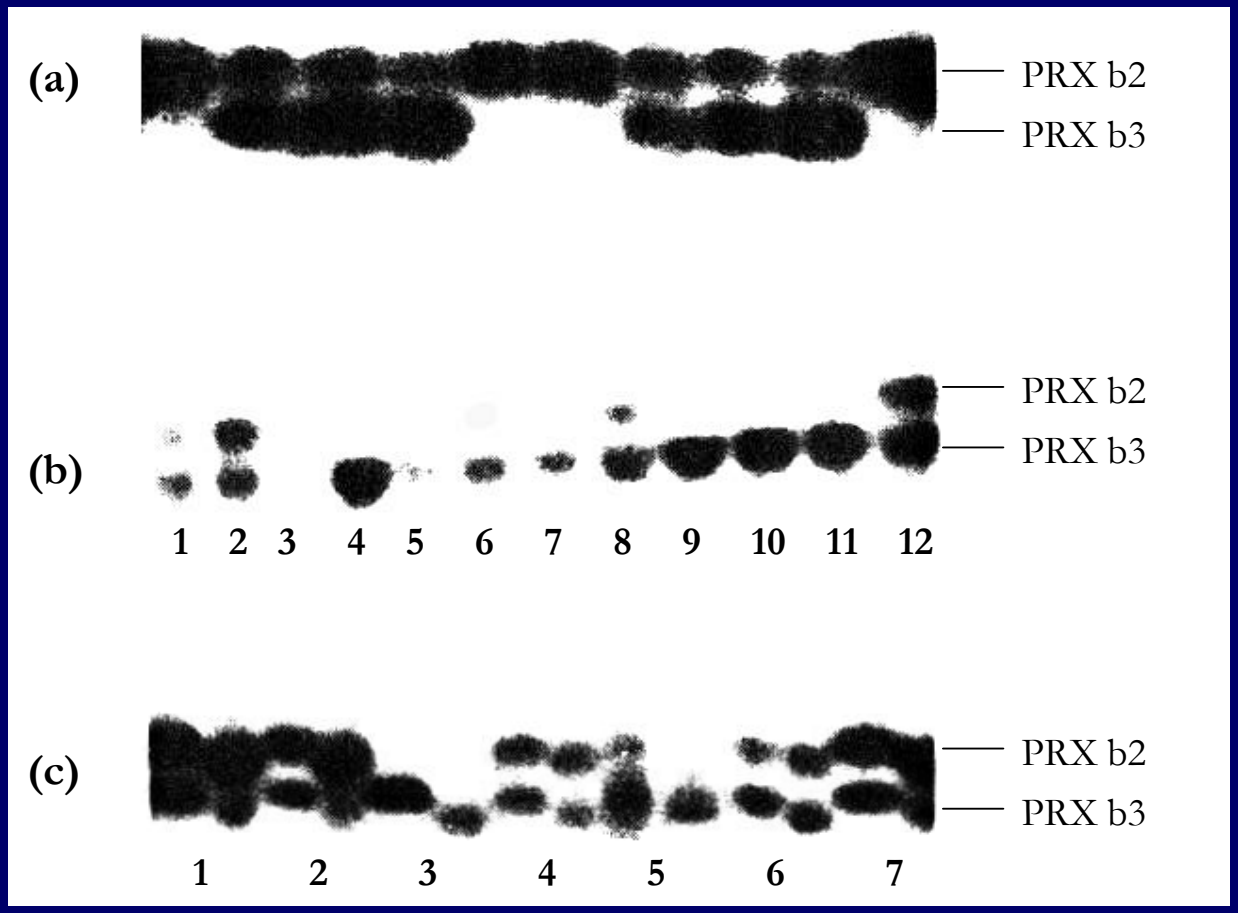

B)




| Score | Chromosome | | |
|---|---|---|---|
| | 1A | 1B | 1D |
| 4 | - | - | 5+10 |
| 3 | 1 | - | - |
| 3 | 2* | - | - |
| 3 | - | 17+18 | - |
| 3 | - | 7+8 | - |
| 3 | - | 13+16 | - |
| 2 | - | 7+9 | - |
| 2 | - | - | 2+12 |
| 1 | null | - | - |
| 1 | - | 7 | - |
| 1 | - | 6+8 | - |
| 1 | - | 20 | - |

**Şekil 1. A) (Hope x Cappelle-Desprez) x (Highburry) melezlemesinden elde edilen 10 adet dölde HMW glutenin (1AL, 1BL) ve *w*-gliadin (1AS, 1BS) bant yapıları.**

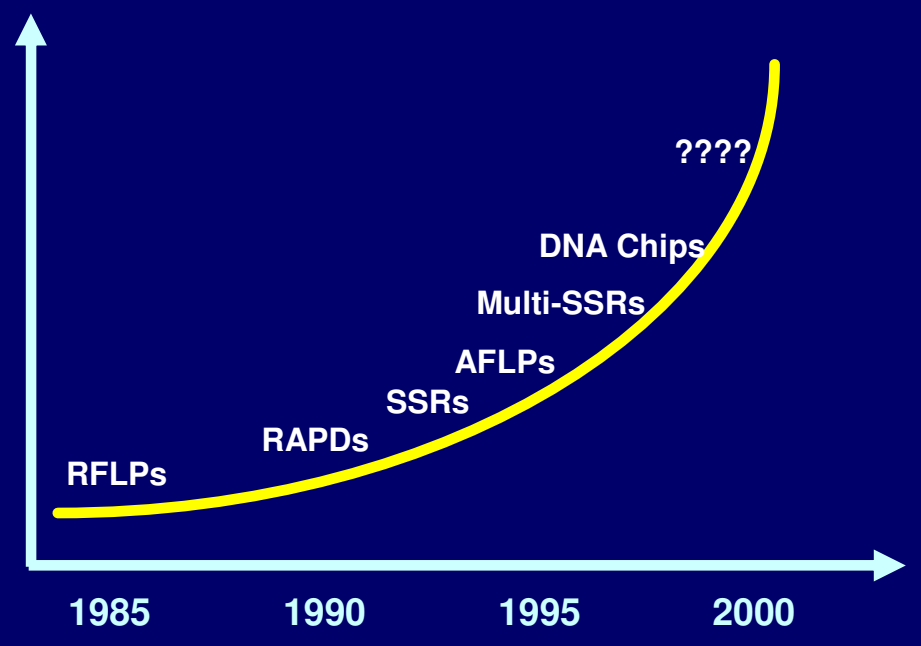
**B) Buğdayın A, B ve D genomlarında bulunan HMW glutenin bantları ve kalite skorları.**




**Şekil 2. Petunia bitkisinde prxB2 ve prxB3 allelerinin Rp1 geni (trans-acting regülasyon geni) açısından değişik gelişme dönemlerindeki açılımlarını gösteren izoenzim jeli. (a) Çiçeklenme döneminde olgun bitkilerden alınan örneklerde, (b) genç bitkilerin yeni yapraklarından alınan örneklerde ve (c) genç bitkilerin geç dönemde alınan yaprak örneklerinde belirlenen değişik izoenzim bantlarının görünümü.**

# DNA markörleri

**DNA melezleme markörleri ve polimeraz zincir reaksiyonu kullanımına dayalı DNA çoğaltım markörleri olmak üzere iki grup altında incelenirler.**




**Avantajları:**

- ✓ Çok fazla sayıdadırlar.
- ✓ Çevreden etkilenmezler.
- ✓ Bitki gelişiminin herhangi bir evresinde gözlenebilirler.
- ✓ Genellikle nötürdürler.
- ✓ Lokuslar arası interaksiyon oluşmaz.

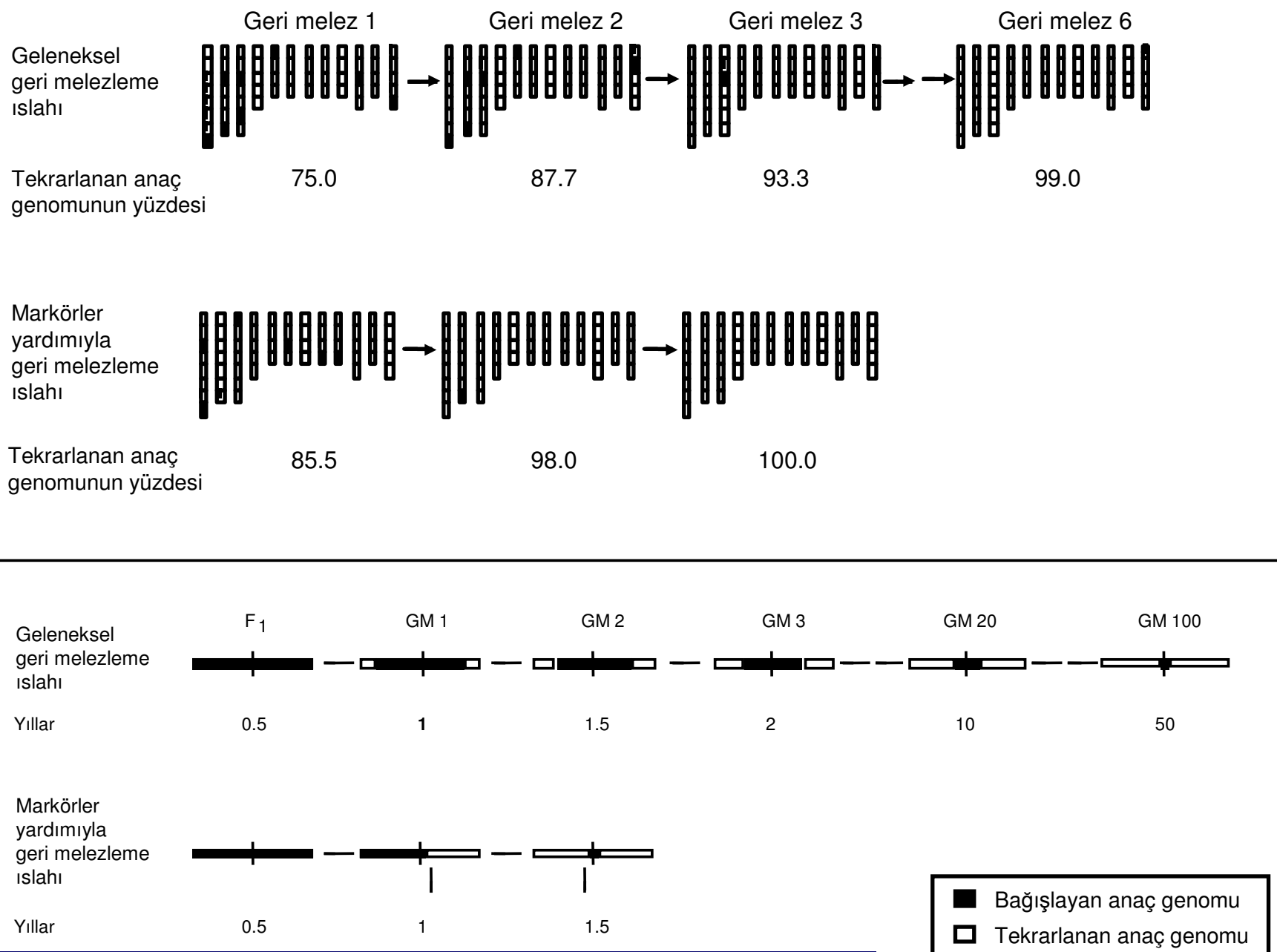
**Dezavantajları:**

- ✓ Pahalı bir laboratuar alt yapısı gerektirir.

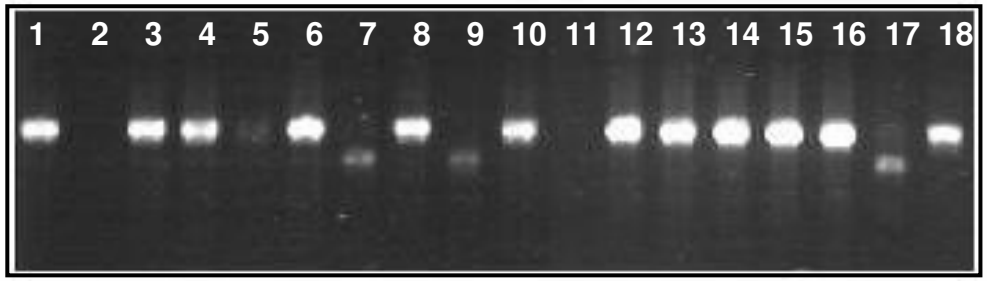
## DNA Markörlerinin Seleksiyonda Kullanılması (MAS)

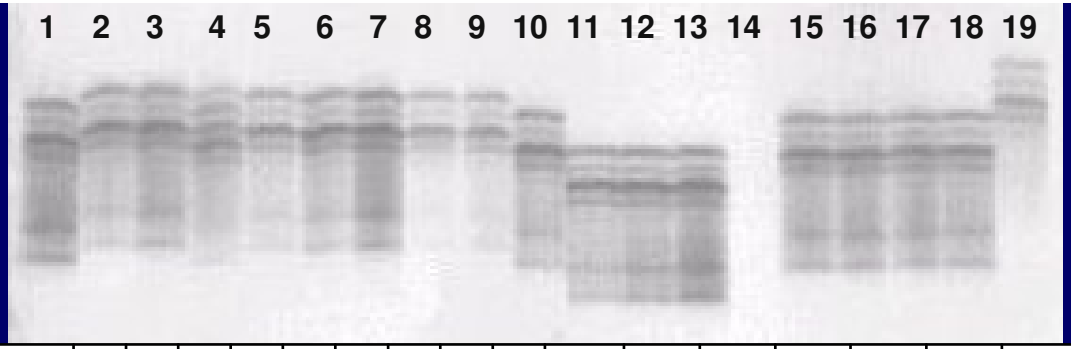
1. **Basit karakterlerin aktarımı**

- ✓ **Agronomik olarak önem arz eden tek (major) bir genin geri melezleme yöntemiyle hızlı ve etkin bir şekilde aktarımını sağlarlar.**
- ✓ **Geri melezleme ıslahında tekrarlanan anacın mümkün olan en yüksek oranda tekrar geri elde edilmesinde kullanılırlar.**
- ✓ **Fenotipik gözleme gerek kalmaksızın geni taşıyan geri melez hatların doğru seleksiyonunda etkilidirler.**
- ✓ **Farklı karakterlere etki eden birden fazla genin eş zamanlı aktarılmasını mümkün kılarlar.**




**Şekil 3.** MAS'ın geri melezleme ıslahındaki etkinliği



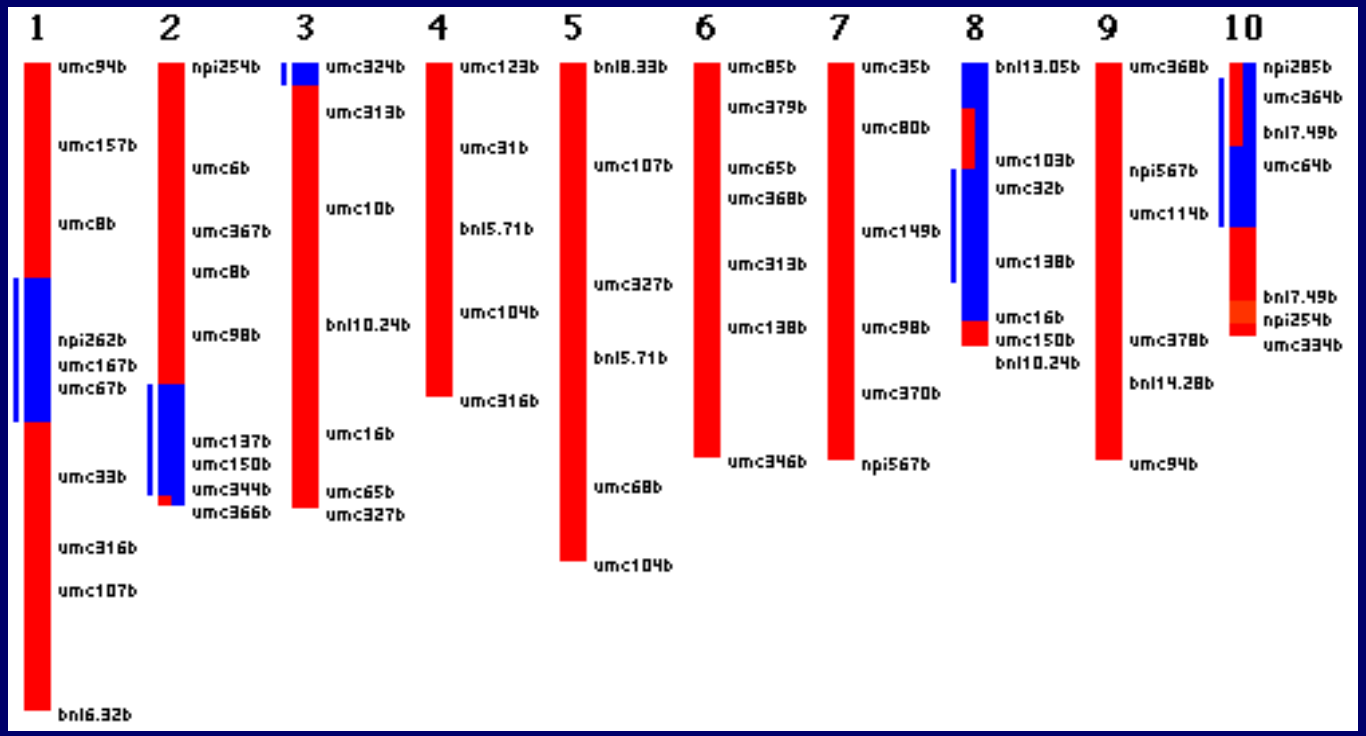

| Sütun numaraları* | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Sarı Pas Reaksiyonları | R | S | S | S | S | S | S | S | S | R | S | S | S | S | R | R | R | R |
| Külleme Reaksiyonları | R | S | R | R | S | R | S | R | S | S | S | R | R | R | R | R | S | R |
| $SCAR_{1265}$ (*Pm21*) | + | - | + | + | - | + | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | - | + |
| X*gwm11* (*Yr26*) | + | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + |

**Şekil 4. MAS tekniği ile buğdaya sarı pas ve külleme hastalıklarına dayanıklılık genlerinin eş zamanlı transferi.**

***1: 6VS/6AL translokasyon hattı, 2: Gün-91, 3-10: Gün-91'in GM4F2 bitkileri, 11: Gerek-79, 12-18: Gerek-79'un GM4F2 bitkileri.**

## 2. Kantitatif karakterlerin (QTL) aktarımı

- ✓ **Agronomik olarak önem arz eden ve birden fazla gen veya lokus tarafından kontrol edilen karakterlerin etkin bir şekilde aktarılmasını sağlarlar.**
- ✓ **Çevre şartlarından oldukça fazla etkilenen karakterlerin, fenotipik gözlem zorluklarını aşarak doğru bir şekilde seçilmelerini sağlarlar.**




**Şekil 4. Mısırda kurağa dayanıklılığı sağlayan QTL'in MAS tekniği ile GM2F3 hatlarında seleksiyonu**

## 3. Gen piramitlerinin oluşturulması

- ✓Aynı karaktere etki eden birden fazla genin aynı genotip içinde toplanmasına gen piramidi denilmektedir.
- ✓ Özellikle aynı hastalığa dayanıklılık sağlayan farklı özellikteki genlerin aynı genotipte toplanmasını ve kalıcı bir dayanıklılık sağlanmasını temin eder.
- ✓ MAS destekli geri melezleme yöntemi kullanılarak izogenik hatların (ILs) (kalitatif genler için) veya yakın izogenik hatların (NILs) (QTL'ler için) üretilmesi ilk basamaktır
- ✓ ILs veya NILs ikili gruplar halinde melezlenerek farklı genler aynı genotipte toplanır ve böylece multihatlar elde edilir.
- ✓ Multihatlar yeterli sayıda kendilenerek genler homozigot hale getirilirler.
- ✓ Her bir geri melez ve kendileme generasyonunda seleksiyonda genleri çerçeve içine alan markörlerin (flanking markers) kullanılması başarı için gereklidir.

# Multihatların üretimi veya gen piramidinin oluşturulması

**Gerek X *Yr26***

↓ EK

**F1 ( x Gerek)**

↓ EK

**GM1F1 x Gerek**

↓ EK ve MAS

**GM2F1 x Gerek**

↓ EK ve MAS

**GM3F1 x Gerek**

↓ EK ve MAS

**GM6F1 x Gerek**

↓ **EK ve MAS ve KEND.**

**GM6F2**

↓ **EK ve MAS ve KEND.**

**GM6F3 (İzohat 1)**

**Gerek X *Yr10***

↓ EK

**F1 ( x Gerek)**

↓ EK

**GM1F1 x Gerek**

↓ EK ve MAS

**GM2F1 x Gerek**

↓ EK ve MAS

**GM3F1 x Gerek**

↓ EK ve MAS

**GM6F1 x Gerek**

↓ **EK ve MAS ve KEND.**

**GM6F2**

↓ **EK ve MAS ve KEND.**

**GM6F3 (İzohat 2)**

**IL1 x IL2**

↓

**F1**

↓ KEND. ve MAS

**F2**

↓ KEND. ve MAS

**F3**

↓

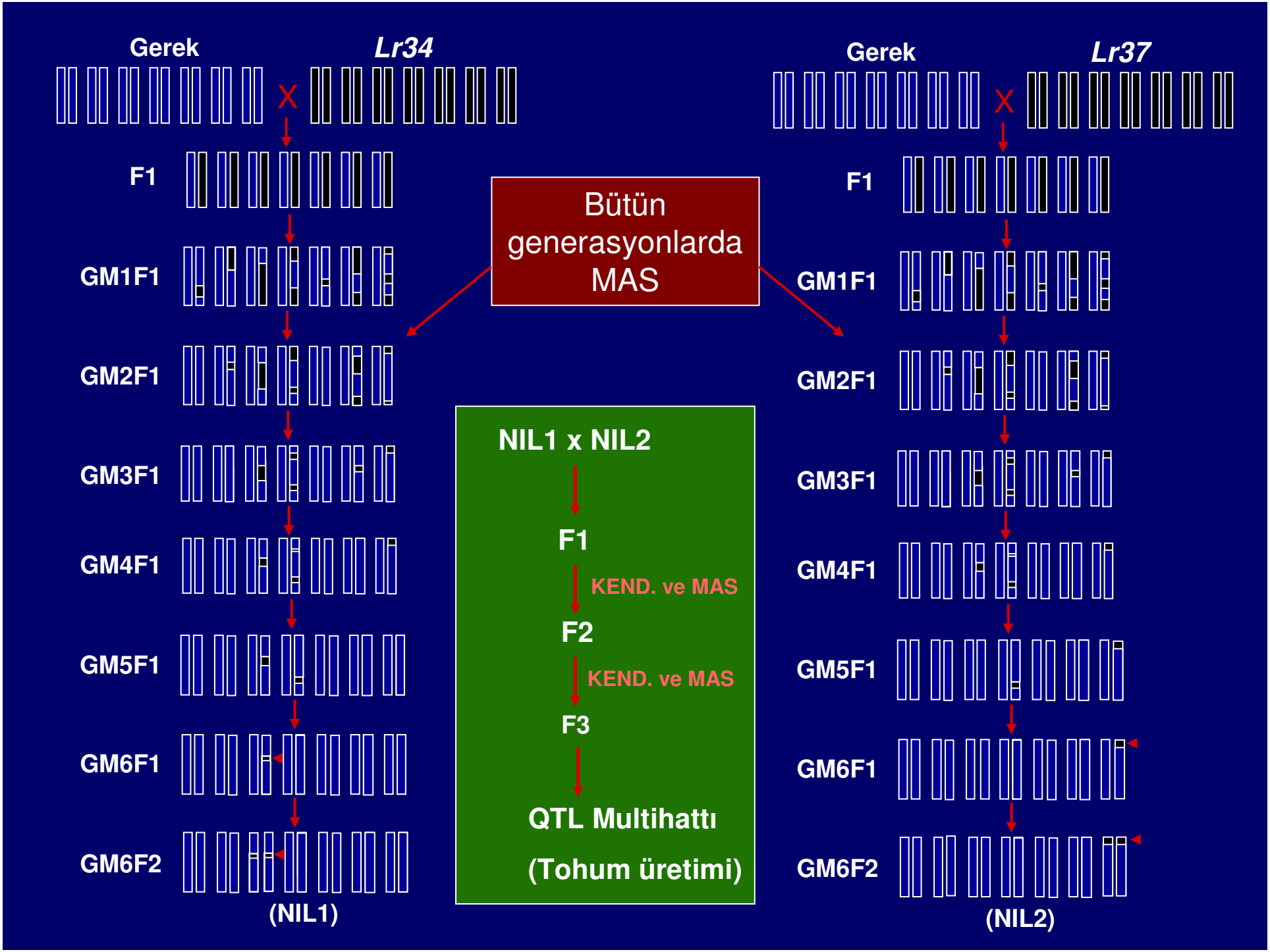
**Multihat**

**(Tohum üretimi)**

**EK: Embriyo Kültürü**

**MAS: Markör Yard. Selek.**

**KEND.: Kendileme**


Gerek
Lr34
X
F1
GM1F1
GM2F1
GM3F1
GM4F1
GM5F1
GM6F1
GM6F2
(NIL1)
Bütün generasyonlarda MAS
NIL1 x NIL2
F1
KEND. ve MAS
F2
KEND. ve MAS
F3
QTL Multihattı
(Tohum üretimi)
Gerek
Lr37
X
F1
GM1F1
GM2F1
GM3F1
GM4F1
GM5F1
GM6F1
GM6F2
(NIL2)

# Sonuç ve Tartışma

- ✓ MAS tekniğinin, temel yaklaşım tarzı aynı olmak üzere, egzotik veya yabani gen kaynaklarından gen transferleri, resesif allellerin yönlendirilmesi ve seleksiyonu, erken seleksiyon gibi kullanımı yanında; gen izolasyonu ve klonlanmasında da kullanılması mümkündür.

- ✓ MAS tekniği oldukça hızlı, etkin, doğru ve ekonomik bir seleksiyon tekniğidir. Geleneksel veya klasik ıslah metodlarının başarısını artırıcı yardımcı bir tekniktir. Asla klasik ıslah tekniklerinin yerine kullanılabilecek "mucize" bir metot değildir.

- ✓ Bazı durumlarda klasik ıslah teknikleri daha ekonomik ve kullanışlı olabilirler. Başarı için bir bitki ıslahçısı neyi; nerede ve ne zaman kullanacağını bilmek zorundadır.

- ✓ MAS özellikle geri melez ıslahında, gen piramitlerinin oluşturulmasında, resesif genlerin seleksiyonunda, çevre faktörlerinin sorun olduğu durumlarda, karakterin bitki gelişiminin geç dönemlerinde gözlemlenebildiği durumlarda veya coğrafik kısıtlamaların bulunduğu durumlarda zaman ve ekonomik avantajlar sağlayarak ıslah etkinliğini artırır ve yeni çeşitlerin geliştirilmesini hızlandırır.

- ✓ Devam eden çalışmalar MAS tekniğini daha ucuz ve daha etkili konuma getirecektir. Ancak bu tekniklerin her ıslah sorununu çözebileceğini düşünmek hatalı bir ön yargı olacaktır.

Dinlediğiniz İçin
TEŞEKKÜRLER