

MOLEKÜLER MARKÖRLERİN ISLAHTA KULLANIMI

Islah programlarında genler ile ilişkili olan markörlerin kullanılması ile fenotipi esas alan seleksiyonlardan genotipi esas alan seleksiyonlara doğru geçilmektedir ve bunun yararları uzun zamandır bilinmektedir. Bununla birlikte, yeterli sayıda markörün olmaması nedeniyle bu potansiyelin kullanılması yakın zamana kadar sınırlı kalmıştır. Ancak 1970'li yılların sonlarına doğru DNA tabanlı genetik markörlerin keşfinden sonra durum değişmiştir. Islahçılar ilk defa bir bitki türünün bütün genomuna dağılan çok sayıda markörü bulmaya ve bunları kullanarak üzerinde çalıştıkları karakterler arasındaki ilişkileri bulmaya başlayabilmiştir. Böylece Markörlü Seleksiyon (MAS) uygulanabilir olmuştur.

Bitki ıslahı programlarında üzerinde çalışılan karakterlerin büyük kısmını kantitatif karakterler oluşturmaktadır. Bu karakterler birçok gen tarafından ve çevre faktörlerinin etkisiyle kontrol edilmektedir. Gözlenen fenotip üzerine bu genlerin etkisi küçüktür. Örneğin bitkilerde verim ve tohum iriliği kantitatif karakterlerin tipik örneğidir. Klasik ıslah programlarında seleksiyon, gözlemlenebilen aday fenotiplerin seçilmesi şeklinde yapılmakta ancak gerçekte hangi genlerin seçildiği bilinmemektedir. İşte moleküler markörlerin geliştirilmesi bu sınırlandırmayı ortadan kaldıran önemli bir keşif olmuştur. Hatta bazı araştırmacılar, "DNA moleküler markörlerinin keşfinden önce kompleks-multigenik karakterleri kontrol eden lokusların hızlıca belirlenmesinin bir hayal" olduğunu belirtmiştir. Buna rağmen günümüzde Markörlü seleksiyondan birkaç istisnası dışında tam anlamıyla yararlanıldığını söylemek mümkün değildir. Özellikle gelişmekte olan ülkeler markör teknolojisine yapılan yatırımın az olması nedeniyle bu teknolojinin faydalarından neredeyse hiç yararlanamamaktadır.

MOLEKÜLER MARKÖRLER

Bütün canlı organizmalar hücrelerden oluşmuştur. Bu hücreler DNA adı verilen genetik materyal tarafından programlanmaktadır. Bu molekül azot (N) içeren bazların (A: adenin, G: guanin, S: sitozin ve T: timin) birleşmesinden oluşan uzun bir zincirdir. DNA dizisinin yalnızca az bir kısmı geni oluşturmaktadır ki genler proteinleri kodlamaktadır. Geriye kalan büyük kısmı ise kodlama yapmayan diziden (sekans) oluşmaktadır ve fonksiyonunun ne olduğu bugün bile tam olarak açıkça anlaşılabilmiştir. Genetik materyal, kromozom setleri halinde organize olmuştur ve setin tamamı genom olarak adlandırılmaktadır. Diploid bir bireyde (kromozomlar çift halinde bulunur) her genin, her biri bir ebeveyninden gelen iki alleli bulunur.

Moleküler markörler genellikle herhangi bir biyolojik etkileri olmadığı için normal bir gen gibi düşünülmemelidir. Bunun yerine genom içinde sabit kilometre taşı olarak düşünülmelidir. Bu markörler tanımlanabilir DNA dizileridir, genomun spesifik lokasyonlarında bulunurlar ve standart kalıtım kurallarına bağlı olarak bir generasyondan diğerine aktarılırlar. Moleküler markörler, görülebilir karakterlere dayanan morfolojik markörlerin ve genlerin kodladığı proteinlere dayanan biyokimyasal markörlerin aksine DNA testlerine dayanmaktadır.

Farklı moleküler markörler bulunmaktadır: RFLP, RAPD, AFLP ve SNP gibi. Bunlar teknik gereksinimler (otomasyona uygun olma, radyoaktif madde kullanımı, zaman, para ve işgücü ihtiyacı), genom boyunca belirlenebilecek genetik markör sayısı ve bir popülasyonda her bir markör için bulunan genetik varyasyonun miktarı gibi yönleriyle birbirlerinden ayrılırlar. Kullanılan markör sisteminin ıslahçıya

sağladığı bilgi kullanılan markör tipine göre farklılık göstermektedir. Her birinin avantaj ve dezavantajları bulunup gelecekte farklı markörlerin geliştirilmesi de mümkün olacaktır.

MARKÖR YARDIMIYLA SELEKSİYON

Yukarıda bahsedilen moleküler markör sistemleri birçok önemli bitki türünde yoğun çözünürlüklü DNA markör haritalarının (lokasyonları bilinen ve genom boyunca kısa aralıklarla dağılmış birçok markörlü haritalar) oluşturulmasına imkan vermektedir ve markörlü seleksiyon ıslahı uygulamaları için gerekli olan bir çerçeve oluşturmaktadır.

Markör haritalarını yardımıyla, bazı istatistiksel teknikler (association) ile markör-karakter arasındaki ilişki belirlenerek ilgili karakteri etkileyen aday genler tespit edilebilir. Bu karakterler genetik olarak basit olabilir- örneğin bitkilerde hastalığa dayanıklılık için birçok karakter bir veya birkaç genle kontrol edilmektedir. Alternatif olarak, bunlar çok sayıdaki geni (QTL: kantitatif karakter lokusları) ve çevresel faktörleri içeren genetik olarak kompleks kantitatif karakterler olabilir. Birçok ekonomik önemi olan karakter bu grup içinde yer almaktadır.

Markörlerin ilgili genin fiziksel olarak yakınında veya içine olduğunun tespit edilmesinden sonra bir sonraki aşama markör yardımıyla seleksiyonun yapılabilmesidir, yani ilgili genlerin tercih edilen ancak belirlenemeyen allellerini tespit etmek için markörlerin varyasyonlarını (allellerini) seçmektir.

Markörlü seleksiyonun başarısı ilgili gen ve markör arasındaki ilişkiye bağlıdır. 3 çeşit ilişki bulunmaktadır. A)- Markörün ilgili gen dizisinin içinde yer alması. Bu durum Gen yardımıyla seleksiyon (GAS, Gene Assisted Selection) olarak ifade edilebilir. Markörlü Seleksiyon için en ideal durumdur. Çünkü genin alleleri hangi kalıtım özelliğine sahipse markör de aynı kalıtım özelliğine sahip olacaktır. Ancak pratikte böyle markörler nadiren ortaya çıkar ve bulunmaları en zor markörlerdir. B)- Markör popülasyon içinde ilgili gen ile linkage disequilibrium (LD) durumundadır. LD, bazı allel kombinasyonlarının birlikte aynı kalıtım eğilimini göstermesidir. Melezleme sonucunda oluşan bir popülasyonda özellikle markörler ve ilgili genler fiziksel olarak birbirine yakın ise yaygın olarak görülmektedir. Bu markörleri kullanarak yapılan seleksiyon LD-MAS olarak isimlendirilebilir. C)- Markör popülasyon içinde ilgili gen ile linkage disequilibrium (LD) durumunda değildir yani Linkage equilibrium durumundadır. Bu, markörlü seleksiyonun uygulanmasında en zor durumdur.

MAS ve klasik ıslah karşılaştırıldığında, MAS'ın etkinliği genetik olarak geliştirilmesi istenilen karaktere göre değişmektedir. ıslah çalışmaları sırasında üzerinde çalışılan karakter eğer kolaylıkla kaydedilemiyorsa veya çok zorsa MAS büyük avantaj sağlamaktadır. Eğer incelenen karakter bitkinin ileriki yaşam dönemlerinde ortaya çıkıyorsa (çok yıllık bitkilerde çiçek / meyve gibi) MAS tercih edilmektedir. Öte yandan MAS gibi ileri biyoteknolojik tekniklerin kullanılabilmesi için güçlü ıslah programlarına ihtiyaç vardır. Eğer altyapı ve kapasite yetersiz ise MAS'ın sağlayacağı avantajlar da sınırlı kalacaktır.

ÖRNEK:

Çizelge 1. Elmada monogenik karakterler ile ilişkili (linked) moleküler markörler (Tartarini and Sansavini, 2003) .

Karakter	Gen	Markör adı	Uzaklık (cM)	Döl/bitki sayısı
a) Dayanıklılık				
Karaleke	<i>Vm</i>	OPB12 ₆₈₇	6-8	180
Külleme	<i>PI1</i>	OPAT20 ₄₅₀	4	64
		OPD2 ₁₀₀₀	5	64
	<i>PI2</i>	OPAT20 ₉₀₀	4	61
		OPN18 ₁₀₀₀	-	96
		OPAJ4 ₇₅₀	-	96
Kırmızı gal yaprakbiti (<i>Dysaphis devectora</i>)	<i>Sd1</i>	MC029b	2.2	135
		MC064a	1.5	135
		2B12a	1.5	134
		OPC08 ₁₇₀₀	14.7	129
		OPT09 ₁₂₀₀	18.9	127
		2B12 SCAR	1.5	134
		E6/M6R2	1.5	130
		E6/M6R1	1.5	130
		E6/M8R1	-	130
<i>Eriosoma lanigerum</i>	<i>Er1</i>	OPC20 SCAR	8	135
		GS327 SCAR	11.5	135
		GS327 SCAR	26.1	398
		OPO05 SCAR	25	398
	<i>Er3</i>	OPO05 SCAR	0.8	362
		OPO05 SCAR	2.5	120
b) Diğerleri				
Sütün şeklinde (Columnar) büyüme	<i>Co</i>	OA11-1025	6-15	-
		B347z-890	1.8	172
		OA11z-570	4.7	172
		B318y-440	3.2	172
		S34y-810	8	172
		OA11-1005	8	172
Meyve rengi	<i>Rf</i>	BC226	1.7	178
Meyve asitliği	<i>Ma</i>	OPT16-1000	0	151