

BITKİSEL GEN KAYNAKLARININ KORUNMA VE KULLANIMINDA YENİ YAKLAŞIMLAR

Murat ÖZGEN¹, M. Sait ADAK²,
Gökhan SÖYLEMEZOĞLU³, Hakan ULUKAN⁴

ÖZET

Bitkisel gen kaynaklarının korunmasında ve ıslah programlarında daha etkin biçimde kullanılmasında son yıllarda moleküler genetik, doku kültürü ve rekombinant DNA teknolojisi gibi konuları kapsayan teknikler ile yeni olanaklar sağlanmıştır. Bulma ve toplama; hastalıktan arındırma ve tanı; çoğaltım; tanımlama, değerlendirme ve izleme; depolama; dağıtım gibi genetik materyalin korunması ile ilgili etkinliklerde *in vitro* teknikler başarıyla kullanılmaktadır. Klasik yöntemlerle farklı türlerden gen aktarmada en önemli engelleri oluşturan kısırılık, istenmeyen gen geçişleri ve geniş popülasyonda çalışma gibi sorunlar, genetik mühendisliği teknikleri ile gen aktarılmasıyla tamamen ortadan kaldırılmakta, ıslah süresinin kısaltılmasının yanında, yabancı bitkisel gen kaynaklarından genitör olarak sonsuz yararlanma olanakları sağlanmaktadır. Tüm bu olumlu gelişmelere karşın, özellikle toksin üreten bakteriyel kökenli dayanıklılık genlerinin aktarıldığı çeşitlerin kullanılmasında ekolojik dengeye dolayısı ile bitkisel gen kaynaklarına olabilecek olumsuz etkileri dikkate alınmalı, bu tip çalışmalarda bitkisel kökenli genlere öncelik verilmelidir.

1. GİRİŞ

Nüfusunun 2010 yılında 7 milyar olması beklenen dünyamızda toplam 250.000 bitki türünden (Swaminathan, 1993) yaklaşık 5000 bitki türü insanların beslenmesinde kullanılmakla birlikte, bunlardan 1500 türün tarımı yapılmaktadır. Bu türlerin ise 250'sini kapsayan yaklaşık 250.000 yerel çeşit tüm insanların kalori gereksinimlerinin büyük bir kısmını karşılamaktadır (Wilkes, 1993). Dünyadaki insanların üçte birinin beslenmeleri ise önemli ölçüde üç tahıla (çeltik, buğday ve mısır) ve patatese bağlıdır.

¹⁾ Prof. Dr., A.Ü. Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara

²⁾ Doç. Dr., A.Ü. Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara

³⁾ Doç. Dr., A.Ü. Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara

⁴⁾ Dr., A.Ü. Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ankara

Dünya nüfusunun artmasına paralel olarak, bu bitkilerin üretimlerinin de artırılması bir zorunluluktur. Klasik bitki ıslahı programları ile geliştirilen verimli ve kaliteli çeşitlerle insanların beslenme gereksinimleri karşılanmış olup çalışmalar günümüzde de hızla sürmektedir. Buna karşın dünya tarımı değişen biyotik ve abiyotik çevresel baskılar nedeniyle ciddi sorunlarla karşı karşıyadır. Gelecekte ortaya çıkabilecek olan yeni hastalık ve zararlılar ile toprak ve atmosferde oluşan değişikliklerin bitkilere olan etkileri önceden bilinemez. Dolayısı ile, bu yeni koşullara uyum sağlayacak çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılacak olan genlerin de neler olacağını tahmin etmek olanaksızdır. Kültür çeşitleri, gen yapıları bakımından homojen hale gelmiş olup, ilkel formlara ve yabani akrabalarına

oranla çok daha az genetik çeşitlilik içermektedir. Yabani türler ise, geniş bir genetik tabanı olan ve kültür bitkilerinin ileride çıkabilecek sorunlarının giderilmesinde ya da bitkilere yeni özelliklerin kazandırılmasında önemli birer kaynak oluşturan gen depolarıdır (Özgen ve ark., 1995). Bu nedenle, geleceğin gen kaynaklarını oluşturacak olan tüm bitkisel materyali koruma altına alma çalışmalarına, bugünün insanların en önemli görevi olarak bakılmaktadır.

Florasında 163 familyaya ilişkin 1225 cins ve 9000 tür bulunan ve bunlardan 3000 türü endemik nitelikte olan Türkiye'nin; 203 familyaya bağlı 2.500'ü endemik 12.000 türe sahip tüm Avrupa ülkeleri ile karşılaştırıldığında bitkisel gen kaynakları bakımından ne kadar zengin bir ülke konumunda olduğu kolaylıkla anlaşılır. Bu nedenle, genetik materyalin korunması ve kullanımına ilişkin çalışmaların Türkiye için ayrı bir önemi vardır.

Bitkisel gen kaynaklarının korunmasında ve ıslah programlarında daha etkin biçimde kullanılmasında son yıllarda yeni teknoloji adı verilen, moleküler genetik, doku kültürü ve rekombinant DNA teknolojisi gibi konuları kapsayan teknikler ile yeni olanaklar sağlanmıştır. Günümüzde bitkisel açıdan yeni teknolojileri, biyoloji, kimya ve mühendislik temel bilim dallarının içerisinde yer alan genetik, mikrobiyoloji, moleküler biyoloji, hücre ve doku kültürü, bileşikler, madde ve enzim teknolojisi konularını kapsayan; organizma, biyolojik yöntem ve biyolojik sistemler aracılığı ile bitkisel üretim yapmak demek olan biyoteknoloji ile; bitkisel kalıtım materyalinin belirleme, izolasyon ve aktarma çalışmalarını temel alan genetik mühendisliği teknikleri oluşturmaktadır.

Bitkisel gen kaynaklarından doğrudan ya da genitör olarak günümüze kadar çeşitli şekillerde yararlanılmıştır. Ancak daha bir çok tür, özelliklerinin tam olarak bilinmemesi ya da gen aktarımındaki bazı güçlükler nedeni ile kullanılmamaktadır. Yeni teknolojilerin bu sorunlara çözüm getirmesi, özellikle bitki ıslahı tekniklerine yeni olanaklar sağlayacağından, bitkisel gen kaynaklarının daha etkin bir biçimde değerlendirilmesi söz konusu olacaktır. Bu durum bitkisel gen kaynaklarının gelecekteki önemini de açıkça göstermektedir.

2. BİTKİSEL GEN KAYNAKLARININ KORUNMASINDA YENİ TEKNOLOJİLER

Tüm dünyanın sorunu haline gelen bitkisel gen kaynaklarının korunması, özellikle son 20 yıldan beri gündemde en çok kalan konulardan biri olmuştur. Bitkisel gen kaynaklarının, özellikle yabani türlerin korunması, gelecekte yapılacak olan bitki ıslahı çalışmaları için son derece önemlidir. Başarılı bir koruma öncelikle bu kaynakların miktarının ve risk durumlarının saptanarak koruma önceliklerinin belirlenmesine bağlıdır. Günümüzde bitkisel gen kaynakları yapay koruma (ex situ), doğal koruma (in situ) ve botanik bahçeleri şeklinde olmak üzere başlıca 3 klasik teknikle korunmaya çalışılmaktadır. Türkiye’de de yapay koruma tekniğinin en yaygın biçimi olan gen bankaları tekniği ile bir çok materyal koruma altına alınmakla birlikte, bitkisel gen kaynakları bakımından çok zengin olan ülkemizde bunun yeterli olduğu söylenemez. Halen 100’e yakın cinse bağlı 200 türden yaklaşık 30.000 materyal uluslararası ya da ulusal gen bankalarında korunmaya çalışılmaktadır. Türkiye’de bitkisel gen kaynaklarının doğal olarak korunması ise 1999 yılı verilerine göre, 30 milli park, 12 tabiat parkı, 32 tabiatı koruma alanı, 54 tabiat anıtı ve 12 özel çevre koruma alanı ile yapılmaktadır (Anonim, 1999).

Dünyada son yıllarda ise yeni teknolojilerden yararlanılarak bitkisel gen kaynaklarının korunmasına yeni boyutlar getirilmiştir. Bitkilerin çeşitli dokularının, dokularından elde edilen bitkiciklerin ya da bu bitkilere ilişkin çiçektozlarının kültür ortamında saklanması içeren in vitro teknikler özellikle vejetatif olarak üretilen bitkilere, kurutmaya ve soğuk ortamda saklanmaya uygun olmayan “inatçı” tohumlu türler ile, çok büyük ya da olgunlaşma süresi çok uzun olan sert kabuklu bitkilere uygulanmaya başlanmıştır.

Bitkisel gen kaynaklarının korunmasındaki temel prensipleri, uzun süre depolanabilme, canlılık kayıplarının en az olması, çok sayıda örneğin depolanması, bakım çalışmalarının ve maliyetin düşük olması oluşturmaktadır. Çok az sayıda tür için bu prensipleri yerine getirme olanağı olmakla birlikte, genelde klasik yöntemlerle korumada bu koşullar bakımından önemli sorunlarla karşılaşmaktadır. Özellikle tohumları kurutulmaya ve soğukta depolamaya uygun olmayan “inatçı” türler için uzun süreli depolama hemen hemen olanaksızdır. Vejetatif olarak üretilen türlerin depolanmasında ise, özellikle gen bankasında kapladıkları alanın büyüklüğü, maliyetin yüksekliği, tohum üretiminin güçlüğü ve genetik özelliklerin heterozigot olması gibi etkenler önemli sorunlar oluşturmaktadır. Bu nedenlerle, özellikle inatçı tohumlara sahip ya da vejetatif olarak üretilen türlerin in vitro tekniklerden yararlanılarak korunması kaçınılmaz hale gelmiştir. Bitkisel gen kaynaklarının in vitro tekniklerle korunması sadece depolama olarak değil, toplama işleminden kullanmaya kadar geçen tüm süreç içerisinde değerlendirilmelidir. Buna göre 6 aşama söz konusudur (Withers, 1994).

a) Bulma ve Toplama

Gen kaynaklarında genetik çeşitliliğin tam olarak belirlenmesinde ve toplanmanın sorun olduğu vejetatif üreyen ya da inatçı tip tohumlara sahip olan bitkilerin toplanmasında karşılaşılan sorunların çözümünde, *in vitro* tekniklerin uygulanması önemli katkı sağlamaktadır. Biyokimyasal ve moleküler tekniklerden yararlanılarak genetik çeşitlilik tam olarak belirlenebilmekte, genetik materyal sınıflandırılmakta ve aynı materyalin toplanması önlenmektedir. Örneğin, son yıllarda domateste "RFLP" tekniğinden yararlanılarak yapılan çeşitlilik belirleme çalışmaları ile klasik yöntemlere göre 20 kat daha fazla genin koleksiyona katılması sağlanmıştır (Miller ve Tanksley, 1990). Öte yandan herbaryum gibi canlı olmayan materyalden DNA örneklerinin alınıp eldeki materyalle karşılaştırılması da genetik materyalin tanınmasında önemli bir etken olmuştur.

Vejetatif olarak çoğaltılan ya da inatçı tohumlara sahip bitkilerden örnekler klasik tekniklerle genellikle karışık ve çok miktarda alınmaktadır. Toprağı ile birlikte alınması nedeniyle de örneklerde hastalık riski artmaktadır. Bu materyalin toplama sırasında tam olgunlaşmış olmaması ya da zarar görmüş olması da toplamayı olanaksız hale getirmektedir. *In vitro* toplama tekniklerinde ise bu sorunlar söz konusu olmayıp (Withers, 1993); bitkinin herhangi bir döneminde örnek alınabilmektedir. *In vitro* toplama, laboratuvar koşullarına gerek göstermeyen inokulasyon ya da kültüre alma teknikleriyle basit biçimde yapılabilir. Alınan örnekler yüzeylerindeki bulaşmalardan arındırılmak amacıyla daha önceden hazırlanmış steril su ile yıkanır ve içerisinde fungusit bulunan ortamlara yerleştirilir. Bu ortamlar önceden plastik ve vida kapaklı tüplerde laboratuvarda hazırlanmaktadır (Yidana ve ark., 1987).

Bilindiği gibi, bitkisel gen kaynaklarının korunmasında temel prensibi, en az genetik kayıpla en uzun depolamayı sağlamak oluşturduğundan, kültüre alınacak bitki parçalarının (eksplantların) da buna göre seçilmesi gerekir. Inatçı tohumlara sahip bitkiler genellikle embriyo örnekleri şeklinde toplanmaktadır. Kalsiyum hipoklorit ile steril edilen embriyolar, steril su ile yıkandıktan sonra tuzlu solusyonlarda muhafaza edilebilmektedir. Tüm bu işlemler steril kabin olmaksızın normal koşullarda yapılabilir.

b) Hastalıktan Arındırma ve Tanı

Gen bankasına getirilen genetik materyalin, genbankaları ya da kullanıcılar arasında sağlıklı bir şekilde naklinin sağlanabilmesi için hastalık durumunun belirlenmesi ve karantina koşulları altında korunması gerekmektedir. Bu koşullar Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından belirlenmiştir (Frison ve Putter, 1988). Vejetatif olarak çoğalan bitkilere ilişkin örneklerin toplanması ve taşınması bu bakımdan da önemli risklere sahiptir. Bu tip riskli materyali hastalıktan arındırmada kullanılan en etkili yöntemlerden biri, meristem kültürünün yapılmasıdır. Genetik materyalin *In vitro* kültürü formunda dağıtımının yapılması, hastalıkların yayılmasını önlemek açısından da en etkili yöntemdir. Gün-

müzde hastalık etmenleri “ELISA” testleri, nükleik asit teknolojisi, biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle kesin olarak belirlenebilmekte ve hangi tip *in vitro* tekniğin uygulanması gerektiğine önceden karar verilebilmektedir.

c) Çoğaltım

In vitro çoğaltım teknikleri, vejetatif üreyen bitkilerde, inatçı tip tohumlara sahip türlerde ve tohum miktarı az olan materyalde hızlı ve güvenli bir biçimde üretim yapmak için başarıyla kullanılabilir. Somatik olarak üretilen bu materyalde genetik değişimin olmaması, materyalin istenildiği kadar miktarda ve sıklıkta üretilmesine olanak sağlamaktadır. Bilindiği gibi, genetik materyalin yeterli miktarda toplanamadığı, dağıtımının fazla yapıldığı ya da uzun süreli olarak depolandığı durumlarda yeniden üretilmesine gereksinim duyulmaktadır. Bu üretimin tohumla yapılması halinde, bitkinin genetik değişimlere açık olması nedeniyle her üretimde orijinal genetik yapısından biraz daha uzaklaşma riski söz konusu olmaktadır. Bu nedenle, *in vitro* tekniklerle çoğaltım yapmak, vejetatif üreyen ya da inatçı özellikteki materyalde olduğu kadar, tohumla üretimi halinde genetik özelliklerini kaybetmesinin söz konusu olacağı her türlü bitkinin üretilmesinde de büyük önem taşımaktadır. *In vitro* tekniklerle çoğaltılmış materyalin bu haliyle depolanabilmesi de *in vitro* çoğaltımın tercih edilmesinin bir başka nedenidir.

d) Tanımlama, Değerlendirme ve İzleme

Bitkisel gen kaynaklarının korunma ve kullanım programlarındaki başarı, toplanan materyalin cins ve tür özelliklerinin sistematik biçimde belirlenmesine, bu konudaki kayıtların ayrıntılı bir biçimde tutulmasına ve materyaldeki genetik değişimin izlenmesine bağlıdır. İzlemenin iki temel amacı vardır. Birincisi, yıllara göre materyalde oluşabilecek değişikliklerin belirlenmesi; ikincisi ise, kullanım için gerekli olan özelliklerin saptanmasıdır. Agronomik karakterler genellikle polimorfik yapıda olduğundan çevreden önemli ölçüde etkilenirler. Bu nedenle genetik değişiklikleri izlemenin önemi büyüktür.

Klasik anlamda izleme kalitatif ve kantitatif olmak üzere iki grup altında yapılmaktadır. Son 10 yılda ise buna biyokimyasal ve moleküler karakterizasyon da ilave edilmiştir (Rao ve Riley, 1994). Bu yeni tekniklerin, çevresel koşullardan etkilenmemesi, analizin bitkinin herhangi bir parçasında ya da büyüme döneminde yapılabilmesi, analiz sayısının zamanla ve materyalle sınırlı olmaması, analizin bitkinin çok küçük örneklerinde yapılabilmesi, DNA analizleri ile stabilitenin en duyarlı biçimde belirlenebilmesi ve cansız örneklerde de karakterizasyonun yapılabilmesi gibi olumlu özelliklerinin yanında; geniş bir genetik tarama için uygun olmaması, sonuçların genomun çok küçük bir bölümünü karakterize etmesi ve agronomik önemi olan genlerin analizinde istenilen düzeye gelinmemiş olunması gibi olumsuz özellikleri de vardır.

Biyoteknolojik karakterizasyon çalışmaları sayesinde aynı materyalin gen bankasına girişi engellenir, genotiplerin tam olarak “parmakizi” oluşturulur, gen bankasında ya da doğal koşullarda genetik çeşitlilik belirlenir ve büyük koleksi-

yonlarda çeşitliliğin önemli bir kısmını en az örnekle temsil edebilen çekirdek koleksiyonlar oluşturulur (Dodds ve Watanabe, 1990).

Bitkisel gen kaynakları tohum halinde ya da *in vitro* koşullarda depolanmalarında klasik anlamda izlenmeleri için mutlaka tarla koşullarına alınmaları test edilmeleri gerekir. Bitkiler *in vitro* ortama aktarıldıklarında ise fenotipik özellikleri belirlenemez duruma gelir. Bu koşullardaki morfolojik yapı bitkinin orijinal özelliklerini yansıtmaz. Bu durumda bitkilerin rejenere edilerek tarla koşullarına alınması ve normal yapısına ulaştıktan sonra incelenmesi gerekir. Çok az da olsa ortaya çıkabilecek somaklonal varyasyonların incelenmesi için kültür halinde depolanan genetik materyalin belirli aralıklarla bu işleme tabi tutulması pratik olmadığı kadar yüksek maliyeti de gerektirmektedir. Kültüre alınmış materyale uygulanacak olan izleme yöntemleri kolay, hızlı ve ekonomik olmalıdır. Biyoloji ve biyokimya bilimlerinde olduğu kadar, bilgi teknolojisindeki gelişmeler de bu konuda yeni olanaklar sağlamaktadır. Günümüzde doğru, geniş dağılımlı ve güvenilir izleme bilgilerine izoenzim analizleri gibi biyokimyasal yöntemlerle, ya da "RAPD", "RFLP" ve "PCR" gibi moleküler tekniklerle ulaşılabilmektedir. Bu tekniklerle genetik materyalde DNA düzeyindeki en küçük değişiklikler bile belirlenebilir. Özellikle daha hızlı ve ucuz olan "RAPD" tekniği genetik materyalin izlenmesinde önemli gelişmeler sağlamıştır. Bitki parçalarına ya da onlardan hazırlanan solusyonlara uygulanarak bir günlük çalışma ile sonuçların alınabildiği bu teknikler, gen bankasına giren materyalin gen düzeyinde korunmasına ve izlenmesine olanak sağlamaktadır.

e) Depolama

In vitro teknikler 1980'li yılların başında fizyolojik çalışmalarda, vejetatif çoğaltımda, hastalıksız bitki üretiminde ve genetik manipulasyonlarda kullanılmaya başlanmıştır. Daha sonra, özel genotiplerin depolanmasında başarılı olan *in vitro* teknikler, kurutmaya ve soğukta depolanmaya uygun olmayan inatçı tohumlar ile sadece vejetatif olarak üretilebilen sorunlu gen kaynaklarının depolanması için umut oluşturmuştur. Biyoteknolojide somatik tekniklerin gelişmesi ise *in vitro* depolama çalışmalarını hızlandırmıştır. Günümüzde yeni teknolojiler, gen kaynaklarının depolanmasında sadece sorunlu bitkiler için değil, tüm genetik materyal için yeni olanaklar sağlamıştır. Son yıllarda uygulanan aşırı derecede (ultra) kurutulmuş tohumların depolanmasında güven ve maliyet açısından istenilen düzeye gilememiştir. Standart *in vitro* teknikleri ile yapılan depolamada ise, materyal dış etkilere karşı güvence altına alınmakla birlikte, yüksek maliyet, altkültürler arasında enfeksiyon riski, zamana bağlı olarak artabilen somaklonal varyasyon ve ekipman aksaklıkları gibi nedenlerden dolayı genetik materyal ancak kısa dönemli olarak korumaya alınabilmektedir. Bu nedenlerle, standart *in vitro* depolamadaki riskleri kaldırmak ya da azaltmak için çalışılmakta; "yavaş büyüme" yöntemiyle orta dönemli; "dondurma" yöntemi ile uzun dönemli depolama yapılabilmektedir. Genetik materyalin DNA biçiminde depolanması ise, bitkisel gen kaynaklarının korunmasına yeni olanaklar sağlamıştır.

Yavaş-Büyüme Tekniği ile Depolama

Bitkisel gen kaynaklarının *in vitro* depolanmasında temel prensip, kültürlerin büyümelerini en az düzeyde tutmaktır. Kültürlerin yavaş büyümesi;

- Olgunlaşmamış zigot embriyoları kullanılarak,
- Kültür ortamına osmotik ya da hormonal büyüme geciktiriciler katılarak,
- Depolama sıcaklığını azaltarak,
- Kültürü mineral yağ ile kaplayarak,
- Kültürün oksijen basıncını azaltarak,
- Sürgünlerin yapraklarını dökerek sağlanabilir.

Organize olmamış kültürler (kallus gibi) somaklonal varyasyona daha açık olduklarından, yavaş büyüme tekniği ile saklanacak olan materyal olarak sürgünler gibi organize olmuş dokular tercih edilmektedir. Bu teknik ile kök ve yumrulara ilişkin kültürler 2 yılda yapılan altkültürler ile 15 yıla kadar depolanabilmektedir (Rao ve Riley, 1994).

Bitki doku ya da hücre kültürleri optimum koşullarda birbirini takip eden farklı büyüme dönemlerine sahiptir (Reed, 1989). "Yavaş dönem" denilen birinci dönemi takiben hızlı büyüme dönemi başlar. Bu dönemde, hücre bölünmesi çok hızlanır. Daha sonra kültür, hücre sayısının artmadığı yani büyümenin tamamen durduğu "sabit dönem"e girer. Sabit dönem, kültür ortamındaki bir ya da birkaç önemli besin maddesinin tükenmesinden kaynaklanır. Dokular taze ortama aktarılmadıkça kültür bu dönemden çıkamaz ve belli bir süre sonra ölmeye başlar. Yavaş dönem ile sabit dönem arasındaki süre, türlere ve kültür tipine bağlı olarak 1-6 hafta arasında değişir. Bu nedenle hücre ve doku kültürleri yoğun laboratuvar çalışmalarını gerektirir. Buna karşın, kültür koşullarında yapılacak bazı değişikliklerle altkültüre alma süresini oldukça uzatmak mümkündür. Bu büyümeyi azaltma düşüncesi *in vitro* depolamanın temelini oluşturmaktadır. Büyümenin yavaşlatılması ile hem kültürün bakım işleri azaltılmış hem de ölmeleri engellenerek depolanmalarına olanak sağlanmış olur. Bu teknik ile genetik materyalin orta dönem süresinde depolanması mümkündür.

Kültür ortamındaki bileşiklerin miktarı en aza indirilerek ve kültürün fiziksel çevresinde değişiklikler yapılarak büyüme oranı azaltılabilmektedir. Özellikle, kültür çevresindeki gaz dengesinin mineral yağlarla kontrol altına alınmasıyla büyüme geciktirilebilmektedir. Ancak bu konuda en pratik ve etkili kontrol, kültür ısısının azaltılması ve osmotik geciktiricilerin kullanılması ile sağlanmaktadır. Bir çok türe ilişkin kültürler bu tekniklerle 6 ay ile 2 yıl arasında alt kültür yapılmadan saklanabilmektedir (Withers, 1987). Kültürlerin zarar görmemesi için büyümelerini yavaşlatma işlemleri yavaş uygulanmalı ve kültürler yavaşlatma ortamlarına alıştırlarak alınmalıdır. Yavaş büyüme, kültürün baskı altında kalma-

sına neden olduğundan, bu koşullarda genetik materyal somaklonal varyasyona yatkın olmaktadır. Bu nedenle, yavaş büyüme tekniğinin kalluslar gibi organize olmamış, mutasyonlara ve kromozomlardaki sayısal değişikliklere açık olan kültürlerle uygulanması önerilmez. Virüsten arındırılmış genetik materyal ile çalışılması istendiğinde meristem kültürü ile depolama çok uygundur. Virüs sorununun olmadığı durumlarda ise, kolay uygulanması ve ortam isteklerinin az olması nedeniyle kökucu kültürü ile depolama önerilmektedir. Son yıllarda somatik ve zigotik embriyo kültürü ile depolama çalışmaları da hız kazanmıştır.

In vitro kültürde büyümenin azaltılmasında yaygın olarak kullanılan yöntem, ortam ısısının azaltılmasıdır. Bir çok bitkinin en uygun kültür sıcaklığı 20-25°C arasındadır. Bu sıcaklığın 6-12°C arasına indirilmesi ile büyüme oranında önemli azalmalar sağlanabilmektedir. Ancak, sabit olarak sıcaklık azaltmaları canlılık oranında da azalmalara neden olduğundan, sabit sıcaklık azaltmaları yerine gece ve gündüz için farklı uygulamalarla (örneğin, gündüz 12°C gece 6°C) canlılığın azalmasına yol açmadan kültürlerin saklanması sağlanabilmektedir. Türler için uygun düşük sıcaklıkların belirlenmesi ile altkültürler arasındaki süre 89 haftaya kadar çıkarılabilmektedir. Böylelikle az sayıda altkültür yaparak genetik materyal uzun yıllar saklanabilmektedir (Reed, 1989).

Kültürde büyümeyi yavaşlatmak için kullanılan bir başka yöntemde ise, ortama büyümeyi geciktirici kimyasal maddeler katılmaktadır. Bunların başında manitol ve absisik asit (ABA) gelmektedir. Bu maddelerin uygulanması sıcaklık azaltılması ile birlikte yapıldığında ise altkültür süreleri dolayısı ile depolama süresi önemli ölçüde artırılabilmektedir. Öte yandan, kültür ortamının miktar olarak da yeterli olması, altkültür süresini önemli ölçüde artırmaktadır.

Bu tekniklerle büyüme önemli ölçüde azalıyorsa da, yine genetik değişikliklerin oluşması söz konusu olmaktadır. Bu nedenle, genetik değişimlerin olmadığı, hücre bölünmesinin tamamen durduğu diğer bir *in vitro* yöntem olan "dondurarak depolama" tekniği uzun süreli depolamalar için önerilmektedir.

Dondurarak Depolama

Fiziksel ve genetik stabilitesi ve ekonomikliği nedeniyle, uzun süreli ve emniyetli *in vitro* depolamalar için önerilen bu tekniğin temelini genetik materyalin çok düşük derecede dondurulması oluşturmaktadır. Donma sonucunda kültürde hücre bölünmesi ve buna bağlı olarak genetik değişim tamamen durmakta ve kültür bakım çalışmaları en aza inmektedir. Bir çok bitkisel gen kaynağı türü *in vitro* koşullarda dondurma tekniği ile başarılı biçimde depolanabilmektedir. En büyük sakıncası, dondurma ve çözme işlemleri sırasında yapılacak hatalardır. Bu durumda materyalin canlılığının zarar görmesi kaçınılmazdır. Günümüzde bu risk, yeterli ekipmanın, geliştirilmiş sistemlerin ve uygun laboratuvar tekniklerinin kullanılmasıyla en aza indirilmiştir.

Dondurarak saklama yöntemi için en uygun materyal olarak hücre ya da embriyogenik süspansiyon kültürleri kullanılmaktadır. Embriyogenik kültürlerin

rejenerasyon yeteneklerinin yüksek olması dondurarak depolama için iyi bir potansiyel oluşturmaktadır. Saklanacak materyalin dondurulmasında sırasıyla; (a) Bitki doku ve organlarının belirlenerek kültüre alınması, (b) hızlı önbüyütme, (c) donma sırasında kristal yapının oluşmaması ve hücrelerin zarar görmemesi için bir soğuktan koruyucu "cryoprotectant" solusyonun hazırlanması, (d) yavaş ya da hızlı dondurma, (e) donmuş genetik materyali -196°C 'de sıvı ya da -150°C 'de gaz halindeki nitrojende depolama, (f) donmuş materyalin ısıtılması ve çözünmesi, (g) çözünme sonrası uygulamalar ile (h) canlılık testleri ve büyümenin başlatılması işlemleri yapılmaktadır. Dondurarak depolama, normal yöntemlerle depolanamayan türlerin doku ve hücre kültürlerinin depolanmasında geleceğe yönelik önemli bir teknik olarak görülmektedir.

Farklılaşmış dokuların zarar görme olasılığına karşı, dondurma tekniği özellikle hücre süspansiyonları için çok uygundur. Son yıllarda, depolanan materyalin genetik stabilitesinin korunmasını garantiye almak açısından, dondurarak saklanacak materyal olarak sürgünücü, kökler ya da zigotik embriyolar gibi organize olmuş dokular tercih edilmeye başlanmıştır ve bu dokuların kültürleri üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Dondurulan genetik materyalin büyük bir grubu hücre ve doku düzeyinde canlılığını koruyabilmekle birlikte, bazen dokular fiziksel olarak zarar görebilmektedir. Bu durumda kallusların oluşması ve somaklonal varyasyonlara neden olması söz konusudur.

Dokularda buz zararını en aza indirmek için çalışmalar sürmekte olup, bu sorunun tam olarak çözülmesiyle bir çok bitki türünü *in vitro* koşullarda dondurarak saklamak mümkün olacaktır. Bu yeni yöntemlerden biri de, donmaya karşı yüksek oranda koruyucu içeren (cryoprotectant) solusyona materyal daldırılarak hücre suyunun osmotik basınçla çıkarılması esasına dayanan "vitrikasyon" tekniğidir. Böylelikle materyal dondurulduğunda su nedeniyle kristalleşmenin ve buna bağlı olarak fiziksel zararın oluşması önemli ölçüde önlenmektedir (Withers, 1994). Bu yöntem organize olmuş ya da olmamış her türlü dokuya başarıyla uygulanmakta olup, maliyet açısından da uygundur (Niino ve ark., 1992).

Klasik yöntemlerle depolanamayan "inatçı" tohumların dondurularak saklanmasında iki sorun ortaya çıkmaktadır. Birincisi, bu tohumlar genellikle büyük olduklarından fiziksel zarar görme olasılıkları yüksektir. İkincisi, dondurma öncesi kurutulmaya karşı hassastırlar. Bu tip bitkiler ise, olgunlaşmamış embriyolarının ya da somatik embriyolarının dondurulmasıyla depolanabilecekleri gibi, "yapay tohum" biçiminde de korunabilirler.

Yapay Tohum Depolaması

In vitro korumada geliştirilen en son tekniklerden biri vejetatif üreyen ya da inatçı tohumlara sahip türlere uygulanan "yapay tohum" teknolojisidir. Kapsülleştirme, kurutma ve dondurma aşamalarını içeren bu teknikte, sürgün uçları ya da somatik embriyolar tohum kabuğu ve endosperm görevi yapan yarı katı bir

materyal yardımıyla kapsül haline getirilmektedir. Kaplama materyali genellikle "sodium alginate" ve kalsiyum klorit'ten oluşmakta olup, besin maddeleri ve pestisit içermektedir. Somatik embriyolar ve kök uçları aktif olup, kurutulmaya karşı toleranslı değildirler. Kaplama ortamına hormon ilavesi ile kurutulmaya karşı tolerans artırılabilir. Hava ile kurutulduktan sonra hızla dondurulan materyalde, canlılık düzeylerinin yüksek, yapısal zararın ise son derece düşük olduğu saptanmıştır. Günümüzde, yapay tohum ile depolama uygulamaları yonca, havuç, üzüm ve soya gibi bitkilere başarıyla uygulanmaktadır (Withers, 1994).

DNA'nın Depolanması

Genetik materyalin DNA biçiminde depolanması, uygulama alanı çok geniş olan pratik bir yöntemdir. Bu tekniğe geleceğin depolama yöntemi olarak bakılmaktadır. Biyoteknolojik bitki ıslahı programlarına kolay uyum sağlaması bakımından da ayrı bir önemi vardır. Hastalıklara dayanıklılık genleri gibi, özel genlerin depolanmasına ilişkin çalışmalar sürdürülmektedir. Bu durumda, cinsler ve türler arasındaki gen aktarımı için doğal engel de ortadan kaldırılmış olmaktadır. Temelini, gen kaynaklarına ilişkin toplam genomik bilginin DNA düzeyinde depolanması oluşturan bu teknik, aynı zamanda ıslah programları için gerekli olan tek genleri kapsayan DNA kütüphanelerinin kurulması için de bir adım oluşturmaktadır (Benford, 1992). Bu teknik herbaryum ya da fosil gibi canlı olmayan kaynaklardan DNA dizilerinin belirlenmesi ile, yok olmuş genlerin yeniden kazanılması düşüncesini de desteklemektedir (Rao ve Riley, 1994).

f) Dağıtım

Gen bankasında depolanan özellikle vejetatif materyalin ıslah çalışmaları ya da diğer amaçlarla çalışan kullanıcılara ulaşabilmesi güvenli bir dağıtım ile mümkündür. *In vitro* tekniklerle depolanan genetik materyalin, patojenlerden arındırılmış bir biçimde dağıtımı, bu bakımdan büyük bir avantaj sağlamaktadır. Genetik materyal *in vitro* ortamda bitkicik halinde taşınabildiği gibi, mini patates yumruları gibi vejetatif parçalar halinde ya da yapay tohum olarak da kolaylıkla taşınabilmektedir.

3. BİTKİSEL GEN KAYNAKLARININ KULLANILMASINDA YENİ TEKNOLOJİLER

Son yüzyılda klasik bitki ıslahı çalışmalarından yararlanılarak üstün verimli ve kaliteli bir çok çeşit geliştirilerek insanlığın hizmetine sunulmasına karşın, başta hastalık ve zararlılar olmak üzere bazı biyotik ve abiyotik çevresel baskılara karşı dayanıklılıkta henüz istenilen sonuç alınamamıştır. Bu sorunların değişen ekolojik koşullar altında giderek büyümekte olduğu ve tür içi (intraspesifik) melezlemelerin varyasyon yaratmada yetersiz kaldığı görülmektedir. Uyumlu türlerin bulunması halinde klasik yöntemlerle yapılan melezlemeler sonucunda

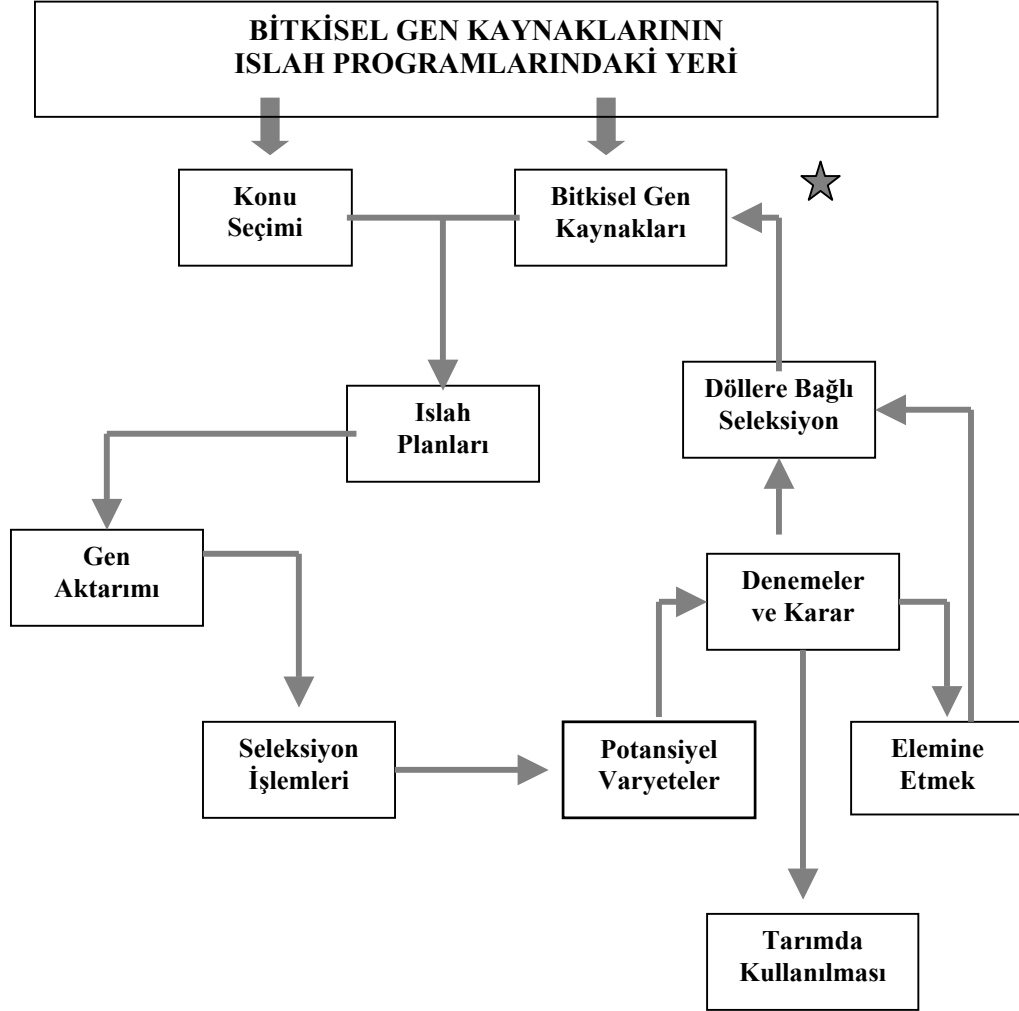
yeterli varyasyon oluşturulabilmektedir. Ancak, uygun anaçlarla sınırlı olan bu durum, değişen çevre koşulları ve tüketici istekleri karşısında yetersiz kalmakta, ıslah programlarında genetik tabanı artırmak için farklı cinslere ilişkin yeni gen kaynaklarına gereksinim duyulmaktadır. Bu gen kaynaklarının başında ise, kültür türlerinin yabancı akrabaları gelmektedir (Özgen ve Akar, 1994).

Islahçılar için çok önemli gen depolarını oluşturan ve dayanıklılık ıslahı çalışmaları için önemli genitörler durumunda olan yabancı bitkisel gen kaynaklarının ise bu sorunu çözmede büyük potansiyele sahip olmalarına karşın, cinslerarasında ortaya çıkan kısırlık, melezleme zorluğu ve istenmeyen özelliklerin geçmesi gibi nedenlerle klasik melezleme teknikleriyle bu kaynaklardan yararlanılması son derece sınırlı olmaktadır. Son 10 yılda kullanım alanı giderek yaygınlaşan biyoteknoloji ve genetik mühendisliği teknikleriyle bu sorunların aşılması ve bitkisel gen kaynaklarının büyük bir kısmını kapsayan kültür bitkilerinin yabancı akrabalarından daha fazla yararlanılması açısından önemli gelişmeler olmuştur.

Bitkisel gen kaynaklarının kullanımında yeni teknolojiden yararlanma olanakları maddeler halinde özetlenebilir:

- Bitki ıslah programlarının değişen çevre koşullarına (biyotik ve abiyotik) uygun olarak gelecekteki isteklerini karşılamak için "RFLP" ve "RAPD" gibi yeni moleküler tekniklerden yararlanılarak genetik çeşitliliğin belirlenmesi,
- Melezlemeye gereksinim kalmadan vektör aracılığı ile ya da doğrudan gen aktarma teknikleriyle yabancı türlerden gen aktarımı,
- Bitki ıslah programlarının kısaltılması,
- Yabancı gen taşıyan melezlerde hızlı ve güvenilir seleksiyon,
- Tür genotiplerinin ve agronomik özelliklerinin belirlenmesi için genetik haritaların yapılması,
- Yabancı kökenli DNA parçalarının yapılarının belirlenerek (PCR teknikleri) sadece istenilen kısımların kültür türlerine aktarılmasıyla bağlılığın (linkage) kırılması ve istenmeyen gen geçişlerinin önlenmesi,
- Antisens RNA tekniği ile özellikle bazı poliploid türler arasında doğal izolasyonun kaldırılması.

Islah programlarında genetik materyal, çalışma planının yapımından, yeni geliştirilen çeşitlerin tarımda kullanımına kadar tüm program aşamalarını belirleyen en önemli faktördür. Yeni teknolojilerden yararlanılması halinde bitkisel gen kaynakları ıslah programını belirleyici faktör olacak ve gen aktarımı, seleksiyon ve potansiyel varyetelerin belirlenmesi gibi aşamalarda önemli gelişmeler söz konusu olacaktır (Simmonds, 1983) (Şekil 1).

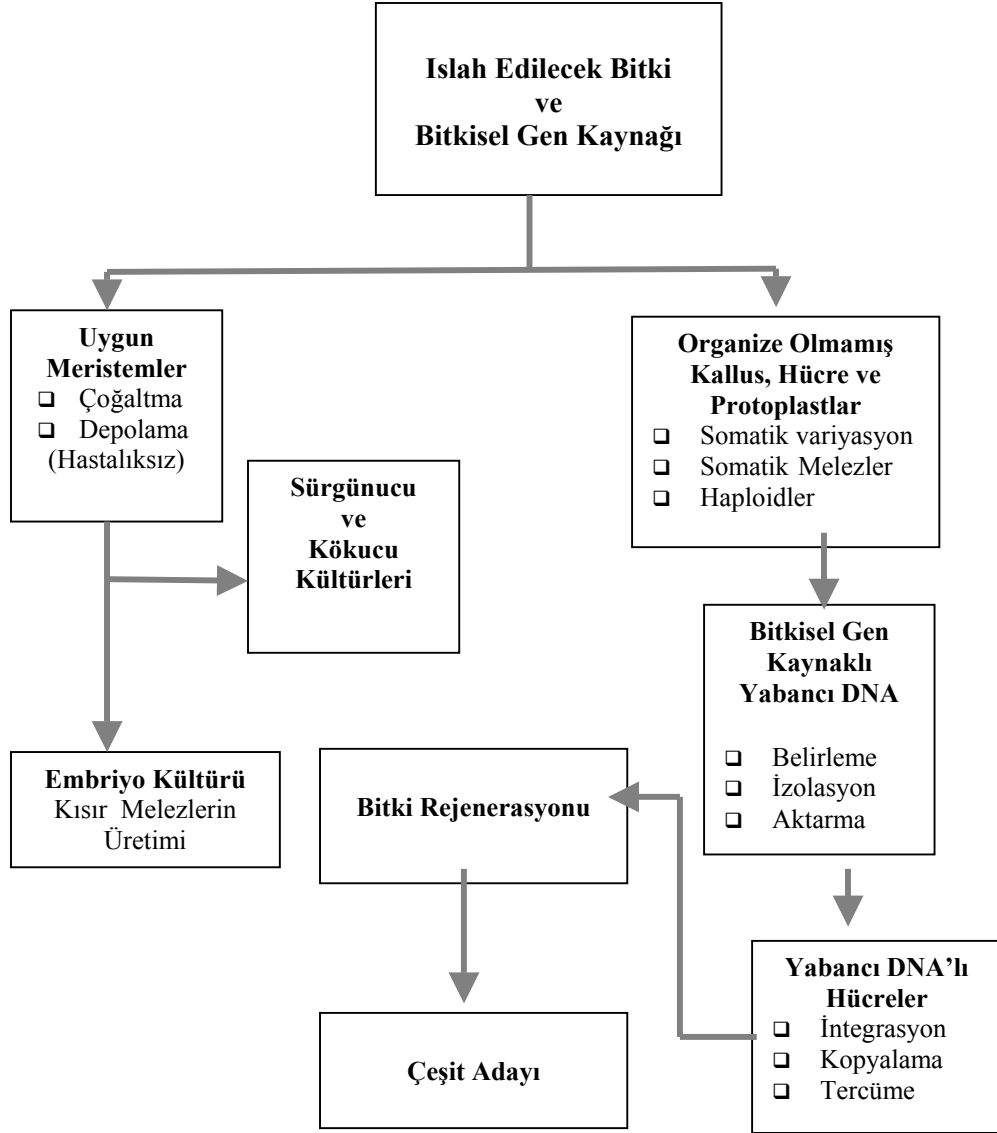


Şekil 1. Bitkisel gen kaynaklarının ıslah programlarındaki yeri

Yeni teknolojinin uygulanması ile izole edilmiş bir genin doğrudan aktarılması söz konusu olduğundan, öncelikle farklı türler ve cinsler arasında gen aktarmada melezleme zorunluluğunu ortadan kaldıracığından, klasik ıslahta yabancı gen kaynaklarından yararlanmada en önemli engel olan doğal izolasyon, bir başka deyişle, kısırılık ve uyumsuzluk sorunu da çözümlenmiş olmaktadır. Melezleme tekniği ile farklı cinslere ilişkin bitkilerden gen aktarımının ikinci büyük sorunu olan bağlılık (linkage) nedeniyle istenilen genlerin yanısıra istenmeyen bazı yabancı özelliklerinin de mezlelere geçmesi, yine yeni teknolojinin

gen aktarma teknikleri ile sorun olmaktan çıkmaktadır. Bilindiği gibi klasik ıslahta başarı seleksiyona, bu ise geniş bir genetik varyasyonun yaratılmasına bağlıdır. Melezleme ile aktarılan genin özelliklerinin bitkilerde fenotipik olarak gözlemlenebilmesi için, Mendel Açılımları'nın belirlediği çok sayıda bitkiden oluşan melez popülasyona gereksinim vardır. Uyumlu türler arasında klasik yöntemlerle yapılan melezlemelerle yeterli varyasyon sağlanabilmektedir. Ancak, yabancı türlerle yapılan melezlemelerde, yeterli varyasyon için geniş bir popülasyona gereksinim duyulmaktadır. Böyle bir popülasyon ise, kısır ve bozulan karakterlerin düzeltilmesi gibi nedenlerle, ancak uzun yıllar süren gerimelezlemelerle elde edilebilir. Popülasyon boyutlarındaki artış ise, yer, zaman ve finansman bakımından da önemli artışlara yol açmaktadır (Özgen ve Türet, 1995). Klasik bitki ıslahının temelini oluşturan varyasyon ve seleksiyon, yeni teknolojide karşımıza transformasyon ve *in vitro* seleksiyon olarak çıkmaktadır. *In vitro* seleksiyonlar, tüm bitki yerine hücre seçimine olanak sağlamakta; bu ise tarlada binlerce bitki yerine, petri kutularında hücre düzeyinde çalışmak anlamına gelmektedir. *In vitro* koşullarda seleksiyonun herhangi bir zamanda yapılabilmesi nedeniyle, bitkinin gelişme dönemlerine bağlı kalınmaması da önemli bir avantaj sağlamaktadır (Simmonds, 1983; Philips ve Eberhart 1993) (Şekil 2).

Yeni teknolojilerden yararlanarak bitkilere özellik kazandırmak sadece doğrudan gen aktarma ile sınırlı olmayıp, antisens RNA teknolojisi adı verilen çok yeni bir sistemle bitkinin protein sentezi kontrol altında tutulabilmekte, böylelikle bitkinin istenmeyen özelliğinin ortaya çıkması engellenebilmektedir. Bu şekilde, gen aktarmadan da bitkide ıslah amaçları doğrultusunda genetik değişiklik yapılabilir. Bu yeni sistemin geliştirilmesi halinde özellikle buğdayın poliploid türlerinde çok önemli bir sorunun çözümüne yardımcı olacaktır. Bilindiği gibi, ekme buğdayın diğer türlerle melezlenmesini, bir başka deyişle, yabancı gen kaynaklarından yararlanılmasını engelleyen en önemli faktör, homeolog eşleşmeleri baskı altında tutan ve 5B kromozomunun üzerinde olduğu bilinen PH genleridir (Sears ve Okamoto, 1958; Riley, 1958). Bu nedenle, kültürü yapılan buğday, pamuk ve tütün gibi önemli bitki türlerinin yer aldığı bu gen sistemine sahip poliploid türlerle yabancıları arasında yapılan melezlemeler, diğerlerine oranla daha karmaşık çalışmaları gerektirmektedir.



Şekil 2. Bitki ıslahında yeni teknolojilerden yararlanılarak bitkisel gen kaynaklarının kullanımı

Günümüzde, bu genleri taşıyan kromozomun çıkarılmasıyla elde edilen monozomik 5B buğday hatlarının ya da bu genlerin mutasyonla etkisinin yok edildiği mutant buğday hatlarının, farklı cinslerle melezlemesi kolaylıkla yapılabilmektedir. Örneğin, bu teknikle *Aegilops comosa*' dan sarıpasaya dayanıklılık geni (Riley ve ark., 1968); *Agropyron* cinsinden ise kahverengipasa dayanıklılık geni (Sharma ve Knott, 1966; Sears, 1973). melezleme ile buğdaya aktarılmıştır. Ancak, burada 5B kromozomunun tümüyle çıkarılması nedeniyle, bu kromozom üzerinde bulunan diğer genlerin de çıkarılması söz konusu olduğundan, bitkide istenmeyen başka değişiklikler de olmaktadır. Mutant hatlarda ise, yine diğer bazı genler de mutasyona uğrayabilmekte ya da mutant hatlarda mutasyonunun geri dönüşümlü olma özelliği nedeniyle PH genlerinin tekrar devreye girmesi söz konusu olabilmektedir. Antisens RNA tekniği ile protein sentezi kontrol altında tutularak, PH genlerinin baskı altına alınması halinde bu tip önemli kültür bitkilerine diğer cinslerden yeni özelliklerin klasik melezleme tekniği ile kolaylıkla aktarılması sağlanabilecektir. Günümüzde, etilen üreten genin etkisi antisens tekniği ile engellenerek depolama ömürlerinin uzatıldığı transgenik domates çeşitleri elde edilmiştir (Hamilton ve ark., 1990).

Bu tip çalışmalar; DNA izolasyonu, DNA'nın kesilmesi, PCR ve elektroforez tekniklerinin yaygın olarak kullanılmasıyla, gelecekte bitki ıslahçılarının bir numaralı yöntemi olacaktır (Day 1993). Kısacası, klasik melezleme tekniği ile farklı türlerden gen aktarmada en önemli engelleri oluşturan kısırılık, istenmeyen gen geçişleri ve geniş popülasyonda çalışma gibi sorunlar, genetik mühendisliği teknikleri ile gen aktarılmasıyla tamamen ortadan kaldırılmakta, ıslah süresinin kısaltılmasının yanında, yabancı bitkisel gen kaynaklarından genitör olarak sonsuz yararlanma olanaklarına kavuşulmuş olmaktadır.

4. YENİ TEKNİKLER İLE GEN AKTARILMIŞ (TRANSGENİK) ÇEŞİTLERİN KULLANIMINDA BİTKİSEL GEN KAYNAKLARI AÇISINDAN KARŞILAŞILABİLECEK SORUNLAR

Bitkisel gen kaynakları başta nüfus artışı olmak üzere, sanayileşme, kentleşme ve orman yangınları gibi birçok lokal fiziksel baskının tehditi altında yok olmaktadır. Ancak, asıl tehdit ekolojik dengenin bozulmasına neden olabilecek genetik değişimlerden kaynaklanmaktadır. Son yıllarda, biyoteknoloji ve genetik mühendisliğinde gen klonlaması, transformasyon, bitki rejenerasyonu, vektör sistemleri, yeni gen yapılarının oluşturulması ve doğrudan gen aktarma yöntemleri gibi tekniklerde önemli gelişmelerin olması, farklı biyolojik sistemler arasında gen aktarımına olanak sağlamıştır. Özellikle bakteri ve virüs kökenli genlerin aktarılmasıyla otöldürücülere (herbisit), hastalıklara ve zararlılara dayanıklı çeşitler geliştirilmiş; mısır, patates ve pamuk gibi önemli bazı bitkilerde yeni tek-

niklerle gen aktarılmış (transgenik) tescilli çeşitlerin başta Amerika Birleşik Devletleri olmak üzere bazı ülkelerde yaygın olarak ekimine başlanılmıştır.

Transgenik bitkilerin kullanımıyla oluşabilecek ekolojik denge bozulması ve buna bağlı olarak bitkisel gen kaynaklarının zarar görmesinin bir çok nedeni vardır. Konu genel olarak ele alındığında, transgenik bitkiler nedeniyle tek tip çeşit ekiminin yaygınlaşması, genetik çeşitliliğin zarar görmesinin en büyük nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Konu, aktarılan genler açısından incelendiğinde ise, özellikle otöldürücülere ve zararlılara karşı dayanıklılığı sağlayan genlerin, çevresiyle olan ilişkileri nedeniyle, bitkisel gen kaynakları açısından önemli sorunlara yol açabileceği görülmektedir. Bitki ıslahı açısından önemli genler taşıyan yabancı gen kaynaklarının çoğu, buğday, pancar, tütün, domates ve patates gibi kültür bitkilerinin akrabaları olup aralarında çiçektozu alışverişi ile gen geçişlerinin (introgression) olabileceği yapıya sahiptirler (Çizelge 1). Bu nedenle, transgenik bitkilerdeki dayanıklılık genlerinin akraba türlere geçme olasılığı her zaman vardır. Örneğin, otöldürücülere (herbisitlere) karşı dayanıklı olarak geliştirilen transgenik bitkilerin çevrelerinde yabancıot konumunda bulunan akraba türlere bu özelliği geçirmeleri ile, yabancıotların da dayanıklılığı artacak ve bunlarla mücadele olanaksız hale gelecektir. Ayrıca, kültür bitkilerinde otöldürücülere karşı dayanıklılığın artması kimyasal ilaç kullanımını teşvik edecek yoğun olarak aynı otöldürücünün kullanımı ile baskı altında tutulan yabancıotlar, genetik değişim göstererek zamanla dayanıklılık oluşturabileceklerdir (Holt ve ark., 1993).

Zararlılara dayanıklı transgenik çeşitlerin kullanımında da aynı sorunlar söz konusudur. Örneğin, mısır, pamuk ve patatese, zararlılara karşı korumayı sağlamak amacıyla aktarılmış olan bakteriyel kökenli "Bt" genleri, ürettikleri toksinler nedeniyle, bitkileri yiyen kurt ya da böceklerin kısa sürede ölmelerine neden olmaktadır. Bu çeşitlerin geniş tarım alanlarında yoğun biçimde kullanılmaları durumunda, zararlı popülasyonunun azalmasına paralel olarak, bu zararlıların doğal düşmanları da azalmaya başlayacak; bu bitkiler üzerinde beslenen ancak hiçbir zararı olmayan hatta yararlı olan bir çok böcek türünün de yok olması söz konusu olacaktır. Bu genlerin doğal melezleme ile yabancı türlere geçme ve onları da zararlılara karşı dayanıklı hale getirme olasılığı ise her zaman söz konusudur. Çevresindeki dayanıklı bitkilerin toksik etkisinden kaynaklanan çevresel baskı karşısında zararlıların genetik yapılarını hızla değiştirerek dayanıklı türlere dönüşmeleri kaçınılmazdır. Öte yandan, "Bt" toksinlerinin, transgenik bitkilerin yaprakları aracılığı ile toprağa ve suya bulaşarak, canlıların besin çemberine girmesi ise sorunun bir başka boyutudur (James, 1997). Tüm bu etkenler ekolojik dengenin bozulmasına ve sonuç olarak bu karmaşadan yine bitkisel gen kaynaklarının zarar görmesine neden olacaktır.

Bilindiği gibi, tohumluk firmaları ticari kuruluşlar olup, yaşamlarını ancak sürekli tohumluk satmakla sürdürebilirler. Transgenik bitkilerin de bir kez satın alınarak yıllarca hem ürün hem de tohumluk olarak kullanılmasını engellemek

amacıyla geliştirilen ve patenti alınan bir genetik sistemle kontrol altında tutulması söz konusudur (Crouch, 1998). Böylelikle, transgenik çeşitlerde de, melez (hibrid) tohumluklarda olduğu gibi her yıl yenilenmesi zorunluluğu getirilmiş olacaktır. Bu genetik kontrol sistemi ile, transgenik bitkinin tohumunda geç olgunlaşma döneminde üretilen toksik maddeler sayesinde hücreler ölmekte ve sonuç olarak embriyo canlılığını kaybetmektedir. Böylelikle, çimlenme yeteneği yok olan bu tohumun kullanılması ile ikinci kuşak üretim yapılması olanaksız hale gelmektedir.

Genlerle yönetilen ve ikinci kuşak üretimi engelleyen bu tohumluk kontrol sistemi, çevrede ekimi yapılan aynı türün klasik çeşitlerine ya da yabani türlerine çiçektozları aracılığı ile geçebilecek, hem çeşitlerin bozulmasına hem de son derece kıymetli gen kaynakları olan bu yabani türlerin doğal yollarla çoğalmalarını engelleyerek yok olmalarına neden olabilecektir. Üreticiye satılan genetik olarak değiştirilmiş tohumluğun ikinci yıl üretimde kullanılamaması amacıyla aktarılabilecek olan bu gen sisteminin harekete geçirilebilmesi için, tohumluğun satılmadan önce "tetracycline" antibiyotiği ile muamele edilmesi zorunluluğu, buğday ve pamuk gibi bitkilerin ekim alanları göz önüne alındığında, büyük miktarlarda antibiyotiğin doğaya verilmesine neden olacaktır. Bu durumda, topraktaki bazı bakteriler ölecek, bazıları ise zamanla antibiyotiğe karşı dayanıklı hale gelecektir. Her yıl toprakta biriken bu antibiyotik nedeniyle mikroorganizma dengesinin bozulması, önemli ekolojik denge sorunlarının ortaya çıkması ve mikroorganizmalarla yakın ilişkisi bulunan bitkilerin zarar görmesi kaçınılmazdır.

Sonuç olarak; gerek genetik olarak değiştirilmiş bitkilerin bakteriyel kökenli yeni genlerinin, gerekse kısa sürede uygulamaya aktarılması beklenen ikinci kuşak üretimi engelleyici genlerin çevredeki diğer çeşitlere ya da yabani türlere geçişlerini önlemek mümkün görülmemektedir. Olumsuz sonuçlarının uzun yıllar sonra belirlenmesi halinde bu çeşitlerin ekiminden vazgeçilse bile, bunların genleri doğadaki yayılmalarını ve etkinliklerini diğer bitkiler aracılığı ile giderek artıracaklar; insan sağlığı, gen kaynakları ve ekolojik dengeler bakımından oluşturdukları sorunları sürdüreceklidir. Bu nedenlerle, insan ve çevre sağlığı açısından gelecekteki sonuçları tam olarak bilinmeyen bakteri ve virüs kökenli genleri taşıyan transgenik bitkilerin, çok yıllık sonuçları alınmadan ekimi yapılmamalı, yeni teknolojilerden yararlanılarak çeşit geliştirme çalışmalarında bitkisel kökenli genlere ağırlık verilmelidir.

Çizelge 1. Önemli bazı kültür bitkileri ve bunlarla melezlenebilen yabancı akrabalarının özellikleri

Kültür Bitkisi	Yabancı Akrabası	Özelliği	Kaynak
<i>Triticum</i> spp. (Buğday)	<i>Agropyron</i> spp.	Karapasa ve kahverengipasa dayanıklılık	Knott ve Dvorak, 1976
	<i>Triticum monococcum</i>	"	Kerber ve Dyck, 1969 ve 1973
	<i>Triticum timopheevi</i>	Mildiyö ve karapasa dayanıklılık	Allard ve Shands, 1954
	<i>Aegilops umbellulata</i>	Kahverengipasa dayanıklılık	Sears, 1956
	<i>Triticum dicoccoides</i>	"	"
	<i>Aegilops squarrosa</i>	"	Dyck ve Kerber, 1970
	<i>Agropyron</i> spp.	"	Sharma ve Knott, 1966;
	<i>Agropyron</i> spp.	"	Sears, 1973
	<i>Agropyron elongatum</i>	Karapasa dayanıklılık	Knott, 1961
	<i>Aegilops comosa</i>	Sarıpasa dayanıklılık	Riley ve ark., 1968
	<i>Agropyron intermedium</i>	Karapas, sarıpas ve kahverengipasa dayanıklılık	Wienhues, 1966; Liang ve ark., 1979
	<i>Agropyron trichophorum</i>	Soğuğa dayanıklılık	Grafius, 1981
	<i>Triticum dicoccum</i>	"	Limin ve Fowler, 1989
	<i>Triticum araraticum</i>	"	"
	<i>Triticum ventricosa</i>	"	"
	<i>Triticum tauschii</i>	"	"
	<i>Aegilops kotschyi</i>	"	Spetsov, 1990
	<i>Agropyron</i> spp.	Tuza dayanıklılık	Cordukes, 1981
	<i>Festuca rubra</i>	"	McGuire ve Dvorak, 1981
	<i>Aegilops squarrosa</i>	Erkek kısırılık	Zhang, 1984
	<i>Triticum turgidum</i>	Yaprak böceğine dayanıklılık	Leisle, 1974
	<i>Agropyron elongatum</i>	Çizgi mozayik virüsünü taşıyan zararlılara dayanıklılık	Whelan ve ark., 1983
	<i>Triticum monococcum</i>	Otöldürücülere dayanıklılık	Gill ve ark., 1986
<i>Aegilops speltoides</i>	Verim ve kalite	Knott ve Dvorak, 1981	
<i>Aegilops mutica</i>	"	"	
<i>Aegilops squarrosa</i>	Ekmeklik kalitesi	Knott, 1987	
<i>Agropyron</i> spp.	Yüksek protein	Fatih, 1983 ve 1986	
<i>Lycopersicon</i> spp. (Domates)	<i>Lycopersicon hirsutum</i>	Septoryaya dayanıklılık	Lincoln ve Cummins, 1949
	<i>Lycopersicon hirsutum</i>	Tütün mozayik virüsüne dayanıklılık	Pelham, 1966; Dimitrov, 1966
	<i>Lycopersicon peruvianum</i>	"	Frazier ve ark., 1946
	<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i>	"	"
	<i>Lycopersicon hirsutum</i>	"	"

Çizelge 1. (devamı)

Kültür Bitkisi	Yabani Akrabası	Özelliği	Kaynak
<i>Lycopersicon</i> spp. (Domates)	<i>Lycopersicon chilense</i>	"	"
	<i>Lycopersicon peruvianum</i>	"	Dimitrov, 1966
	<i>Lycopersicon hirsutum</i>	Bakteriyel çürüklüğe dayanıklılık	Kuriyama ve ark., 1971
	<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i>	"	"
	<i>Lycopersicon peruvianum</i>	Nematodlara dayanıklılık	McFarlane ve ark., 1946; Laterrot, 1973
<i>Beta</i> spp. (Şeker pancarı)	<i>Lycopersicon cheesmanii</i>	Tuza dayanıklılık	Rush ve Epstein, 1981
	<i>Beta patellaris</i>	Yaprak lekesine dayanıklılık	Coons, 1954
	<i>Beta webbiana</i>	"	"
	<i>Beta procumbens</i>	"	"
	<i>Beta atriplicifolia</i>	"	Bornscheuer ve Schösser, 1961; Osinska, 1968
<i>Solanum</i> spp. (Patates)	<i>Beta trigyna</i>	"	"
	<i>Beta lomatogona</i>	"	"
	<i>Beta procumbens</i>	Nematoda dayanıklılık	Savitsky, 1975
	<i>Solanum demissum</i>	"	Rudorf, 1950; Black, 1952
	<i>Solanum stoloniferrum</i>	"	Ross, 1966
	<i>Solanum acaule</i>	Virüs-X'e dayanıklılık	Ross ve Bearecke, 1950
	<i>Solanum chacoense</i>	"	Yashina, 1974
	<i>Solanum stoloniferrum</i>	Virüs-Y'ye dayanıklılık	Wiersema, 1972
	<i>Solanum demissum</i>	Afitlere dayanıklılık	Ross, 1966; Serghiou, 1968; Radcliffe ve Lauer, 1970; Gerasenkova, 1974
	<i>Solanum acaule</i>	"	"
	<i>Solanum chacoense</i>	"	"
	<i>Solanum stoloniferrum</i>	"	"
	<i>Solanum spegazzini</i>	"	"
	<i>Solanum microdontum</i>	"	"
	<i>Solanum brachycarpum</i>	"	"
<i>Solanum medians</i>	"	"	
<i>Solanum bkasovii</i>	"	"	
<i>Solanum simplicifolium</i>	"	"	
<i>Solanum famatiane</i>	"	"	
<i>Solanum bulbocastanum</i>	"	"	
<i>Solanum michoacanum</i>	"	"	
<i>Solanum steriophylloium</i>	"	"	
<i>Solanum catarthrum</i>	"	"	
<i>Solanum vernei</i>	Nematodlara dayanıklılık	Olsen, 1969; Kort ve ark., 1972	
<i>Solanum multidissectum</i>	"	"	

Çizelge 1. (devamı)

Kültür Bitkisi	Yabani Akrabası	Özelliği	Kaynak
<i>Nicotiana</i> spp. (Tütün)	<i>Nicotiana glutinosa</i>	TMV'ye dayanıklılık	Knott ve Dvorak, 1976; Rusell 1981
	<i>Nicotiana glutinosa</i>	CMV'ye dayanıklılık	Daskeeva, 1965
	<i>Nicotiana benthamiana</i>	"	"
	<i>Nicotiana boneriensis</i>	"	"
	<i>Nicotiana raimondi</i>	"	Ternovskj ve Podkin, 1970
	<i>Nicotiana tomentosa</i>	"	"
	<i>Nicotiana tomentosiformis</i>	"	"
	<i>Nicotiana otophora</i>	"	"
	<i>Nicotiana longiflora</i>	Mavi küfe ve köşeli yaprak lekesine dayanıklılık	Clayton, 1958; Valleau ve ark., 1960
	<i>Nicotiana rustica</i>	"	Nakamura ve Nakatogawa, 1965
	<i>Nicotiana plumbaginifolia</i>	"	"
	<i>Nicotiana repandra</i>	"	"
	<i>Nicotiana alata</i>	"	"
	<i>Nicotiana affinis</i>	"	"
	<i>Nicotiana sanderæ</i>	"	"
	<i>Nicotiana forgetina</i>	"	"
	<i>Nicotiana acuminata</i>	"	"
	<i>Nicotiana plumbaginifolia</i>	Mildiyöye dayanıklılık	Chaplin, 1962; Apple, 1967
	<i>Nicotiana repandra</i>	Nematodlara dayanıklılık	Maan ve ark., 1963; Schweppenhauser, 1968
	<i>Nicotiana silvestris</i>	"	"
<i>Nicotiana longiflora</i>	"	Schweppenhauser, ve ark., 1963	
<i>Nicotiana nudicaulis</i>	"	Muro, 1972	
<i>Nicotiana plumbaginifolia</i>	"	"	
<i>Nicotiana landsdoffii</i>	"	"	
<i>Nicotiana nesophila</i>	"	"	
<i>Nicotiana repandra</i>	Yaprak lekesine dayanıklılık	Stavely ve ark., 1973	
<i>Nicotiana silvestris</i>	"	"	

KAYNAKLAR

Allard ,R.W. and Shands, R.G. 1954. Inheritance of resistance to stem rust and powdery mildew in cytologically stable spring wheats derived from *Triticum timopheevi*. *Phytopathology*, 44: 266-274.

Anonim, 1999. T. C. Çevre Bakanlığı, İnternet verileri, Ankara.

- Apple, J.L. 1967. Occurrence of race 1 of *P.pgrasitica* var. *nicotianae* in North Carolina and its implications in breeding for disease resistance. *Tob. Sci.*, 11: 79-83.
- Benford, F. 1992. Seving the library of life. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 89: 11098-11101.
- Black, W. 1952. Inheritance of resistance to blight (*P.infestans*) in potatoes. *Proc. R. Soc. Edinburgh Se. B*, 64 (1952): 312-352.
- Bornscheuer, E. and Schlösser, E.1961. Über Kreuzungen von *B.vulgaris* mit Arten der Sektion Patellares der Gattung Beta. *Zucker*, 14: 140.
- Chaplin, J.F. 1962. Transfer of black shank resistance from *N.plumbaginifolia* to flue-cured *N.tabacum*. *Tob. Sci.*, 6:184-187.
- Clayton, E.E.1958. The genetics and breeding progress in tobacco during the last 50 years. *Agron. J.*, 50: 352-356.
- Coons, G.H.1 954. The wild species of *Beta*. *Proc.Am.Soc.Sugar Beet Technol.*, 8 (2):142.
- Cordukes, W.E. 1981. Saltol, a salt tolerant red fescue. *Can.J.Plant.Sci.*, 61:761.
- Crouch, M.L., 1998. How the terminator terminates: an explanation for the non-scientist of a remarkable patent for killing second generation seeds of crop plants, An occasional paper of the Edmonds Institute, 1998.
- Daskeeva, K.N. 1965. Methods of artificially infecting tobacco plants with cucumber mosaic virüs. *Proc. 4th Conf. Agric. Plants, Kisinev, (1964):* 171 p.
- Day, P. 1993. Integrating plant breeding and molecular biology: Accomplishments and future promise. in *Proc. of the Int. Crop Sci. Cong. Ames, USA. Crop Sci. Soc. of America*, pp. 517-523.
- Dimitrov, S.1966. The local type of bacterial canker of tomato, *Corynebacterium michiganense*. *Plant Breed. Abs.*, 5822.
- Dodds, J.H. and Watanabe, K. 1990. Biotechnological tools for plant genetic resources management. *Diversity*, 6: 317-28.
- Dyck. P.L. and Kerber,E.R.1970 Inheritance in hexaploid wheat of adult plant resistance derived from *Aegilops squarrosa*, *Can.J.Genet.Cytol.*, 12: 175-180.
- Fath, A.M.B. 1983. Analysis of the breeding potential of wheat-Agroproyon and wheat-Agroproyon derivatives. *Hereditas*, 98: 287-295.

- Fatih, A.M.B. 1986. Genotypic and phenotypic associations of grain yield, grain protein and yield characteristics in wheat-Agropyron derivatives. *Hereditas*, 105: 141-153.
- Frazier, W.A., Kukuta, A., McFarlane, J.S. and Hendrix, J.W. 1946. Tomato improvement in Hawaii. *Am. Soc. Hortic. Sci.*, 47: 277-284.
- Frison, E.A. and Putter, C.A.J. 1988. FAO/IBPGR technical guidelines for the safe movement of germplasm. in *Abstr. 5. Int. Cong. Plant Pathol.*, Kyoto, Int. Soc. For Plant Pathol. P.279.
- Gerasenkova, E.D. 1974. Characterization of some potato species for resistance to the leaf roll virus. *Genet. Selek.* 53: 166.
- Gill, R.S., Multani, D.S. and Dhaliwal, H.S. 1986. Transfer of isoproturon resistance from *Triticum monococcum* to *T., durum*. *Crop. improv.*, 13: 200-203.
- Grafius, J.E. 1981. Breeding for winterhardiness. in: *Analysis and Improvement of Plant Cold Hardiness*. CRC Press, pp. 161-174.
- Hamilton, A.J., Lycett, G.W. and Grierson, D. 1990. Antisense gene that inhibits synthesis of the hormone ethylene in transgenic plants. *Nature*, 346: 284-287.
- Holt, J.S., Powles, S.B. and J.A.M. Holtum. 1993. Mechanisms and agronomic aspects of herbicide resistance. *An. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 44:203-229.
- James, R.R. 1997. Utilizing a social ethic toward the environment in assessing genetically engineered insect resistance in trees. *Agric. And Hum*, 14: 237-249.
- Kerber, E.R. and Dyck, P.L. 1969. Inheritance in hexaploid wheat of leaf rust resistance and other characters derived from *Ae.squarrosa*. *Can. J. Genet. Cytol.*, 11: 639-647.
- Kerber, E.R. and Dyck, P.L. 1973. Inheritance of stem rust resistance transferred from diploid wheat (*T.monococcum*) to tetraploid and hexaploid wheat and chromosome location of the gene involved. *Can. J. Genet. Cytol.*, 15: 397-409.
- Knott, D.R. 1961. The inheritance of rust resistance, VI. The transfer of stem rust resistance from *A.elongatum* to common wheat. *Can. J. Plant Sci.*, 41: 109-123.
- Knott, D.R. 1987. Transferring alien genes to wheat. in: *Wheat and Wheat Improvement, Wisconsin, ASA Inj.-Rlbl.*, pp. 462-471.

- Knott, D.R., and Dvorak, J. 1976. Alien germplasm as a source of resistance to disease. *Annual Review of Phytopathology*, 14: 211-235.
- Knott, D.R. and Dvorak, J. 1981. Agronomic and quality characteristics of wheat lines with leaf rust resistance derived from *Triticum speltoides*. *Can. J. Genet. Cytol.*, 23 475~480.
- Kort, J., Jaspers, C.P. and Dijkstra, D.L.J. 1972. Testing for resistance to pathotype C of *H.rostochiensis* and the practical application of *S.vernei* hybrids in the Netherlands. *Annals of Applied Biology*, 71: 78-9.
- Laterrot, H. 1973. Selection de varietes de tomate resistantes aux *Meloidogyne*. *OEPP/EPPO Bull.*, 3: 89-92.
- Leisle, D. 1974. Genetics of leaf pubescence in durum wheat. *Crop. Sci.*, 14: 173.
- Liang, G.H., Wang, R.C., Niblett, C.L. and Heyne, E.G. 1979. Registration of B-6-37-1 wheat germplasm. *Crop. Sci.*, 19: 421.
- Limin, A.E. and Fowler, D.B. 1982. The expression of cold hardiness in *Triticum* species amphidiploids. *Can. J. Genet. Cytol.*, 24: 51-56.
- Lincoln, R.E. and Cummins, G.B. 1949. *Septoria* blight resistance in the tomato. *Phytopathology*, 39: 647-655.
- McFarlane, J.S., Hartzler, E. and Frazier, W.A. 1946. Breeding tomatoes for nematode resistance and for high vitamin C content in Hawaii. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 47: 262-270.
- McGuire, P.E. and Dvorak, J. 1981. High salt-tolerance potential in wheatgrass. *Crop. Sci.*, 21: 702.
- Miller, J.C. and Tanksley, S.D. 1990. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*. *Theor. Appl. Genet.*, 80 (4): 437-448.
- Muro, A.D. 1972. Some *Nicotiana* species and tobacco varieties resistant to *Meloidogyne* spp. *Bull. Inf. Coresta*, 96p.
- Nakamura, A., Nakatogawa, H. 1965. Studies on breeding for resistance to *P. tabaci*. *Bul. Hatano Tobacco Exp. Sta.*, 55: 73.
- Niino, T., Sakai, A., Yakuwa, H. and Nojiri, K. 1992. Cryopreservation of *in vitro* grown shoot tips of apple and pear by vitrification. *Plant Cell, Tissue Organ Cul.t.*, 28: 261-268.
- Olsen, O.A. 1969. Breeding potatoes for resistance to wart and golden nematode. *Canada Agriculture*, 14: 2.

- Osinska, B. 1968. An assessment of the degree of susceptibility to leaf spot *C.beticola* Sacc.,in wild species of *Beta*. Biul.Inst.Hodowl Aklimatyzacja Roslin, 81..
- Özgen, M.. ve Akar, T. 1994. Yabani gen kaynaklarının bitki ıslahında kullanımı. I. Ulusal Çevre Kongresi, 5-7 Ekim, 1993, İzmir, E.Ü. Fen Fakültesi Dergisi, Seri B, 16 (1): 1423-1437.
- Özgen, M., Adak, S., Karagöz, A. ve Ulukan, H. 1995. Bitkisel gen kaynaklarının korunma ve kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği 4. Teknik Kongresi, 9-13 Ocak 1995, Ankara, Ziraat Bankası Kültür Yayınları, 26: 309-343.
- Özgen, M. ve Türet, M. 1995. Bitki ıslahı ve gen aktarma teknolojisi. Workshop "Biyoteknoloji ve Bitki Islahı", 17-19 Nisan 1995, Gebze / Kocaeli, Bildiriler, Can Ofset, İzmir, 227-236.
- Philips, R.L. and Eberhart, S.A. 1993. Novel methodology in plant breeding. in Proc. of the Int. Crop Sci. Cong. Ames, USA. Crop Sci. Soc. of America, pp. 647-648.
- Pelham, J. 1966. Resistance in tomato to tobacco mosaic virus. Euphytica, 15: 258-267.
- Radcliffe, E.B. and Lauer, F.I. 1970. Further studies on resistance to green peach aphid and potato aphid in the wild tuber-bearing *Solanum* species. Journal of Economic Entomology, 63: 110.
- Rao, V.R. and Riley, K.W. 1994. The use of biotechnology for conservation and utilization of plant genetic resources. Plant Genet. Res. Newsletter, 97: 3.
- Reed, S.M., 1989. *In vitro* conservation of germplasm. IBPCR Training Courses: Lectures Seris 2, IBPGR, Rome, pp. 23-30.
- Riley, R. 1958. Chromosome pairing and haploids in wheat. in Proc. X. Int. Cong. Genet., 2: 234-235.
- Riley, R., Chapman, V. and Johnson, R. 1968. Introduction of yellow rust resistance of *Ae.comosa* into wheat by genetically induced homoeologous recombination. Nature, 217: 383-384.
- Ross, H. 1966. The use of wild *Solanum* species in German breeding of the past and today. Am. Potato J., 43: 63-80.
- Ross, H., Baerecke, M.L. 1950. III. selection for resistance to mosaic virus in wild species and in hybrids of wild species of potatoes. Am. Potato J., 27: 275-284.
- Rudorf, W. 1950. IV.methods of and results of breeding resistant strains of potatoes. Am. Potato J., 27: 332-339.

- Rush, D.W. and Epstein, E. 1981. Breeding and selection for salt tolerance by incorporation of wild germplasm into domestic tomato. *J. An. Soc. Hort. Sci.* 106: 699.
- Russell, G.E. 1981. *Plant Breeding for Pest and Disease Resistance*. London, Billing and Sons Ltd., 485 p.
- Savitsky, H. 1975. Hybridization between *B. vulgaris* and *B. procumbens*, and transmission of nematode (*H.schachtii*) resistance to sugarbeet. *Can. J. Genet. Cytol.*, 17: 197-209.
- Schweppenhauser, M.A. 1968. Recent advances in breeding tobacco resistant to *Meloidogyne javanica*. *Coresta Inf. Bull.*, 1: 9-20.
- Schweppenhauser, M.A., Raeber, J.G. and Daulton, R.A.C. 1963. Resistance to the root knot nematode, *Meloidogyne javanica*, in the genus *Nicotiana*. *Proc. 3rd World Tob.Sci.Cc;n-g.*, Rhodesia, (1963): 222p.
- Sears, E.R. 1956. The transfer of leaf rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat. *Brookhaven Symp. Biol.*, 9: 1-22.
- Sears, E.R. 1973. Agropyron-wheat transfer induced by homoeologous pairing. *Proc.4th Int.Wheat Genet.Symp.*, (1973): 191-199.
- Serghiou, C.S. 1968. Green Peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), resistance in tuber-bearing *Solanum* species. *Dissertation Abst.*, 28: 3591-3592.
- Sharma, D. and Knott, D.R. 1966. The transfer of leaf-rust resistance from Agropyron to *Triticum* by irradiation. *Can. J. Genet. Cytol.*, 8: 137-143.
- Simmonds, N.W. 1983. Plant breeding: The state of the art. In *Genetic Engineering of Plants*. Plenum press, New York, London, pp. 5-25.
- Stavely, J.R., Pittarelli, G.W. and Burk, L.G. 1973. *N.repanda* as a potential source for disease resistance in *N.tabacum*. *J. Hered.*, 64: 265-271.
- Spetsov, P. 1990. Investigations on amphidiploids between common wheat and two tetraploid *Aegilops* species. *Proc. 2nd Int. Symp.*, 316-324.
- Swaminathan, M.S. 1993. From nature to crop production. In *Proc. of the Int. Crop Science Congress*. Ames, USA. Crop Science Society of America, 385-394.
- Ternovskij, M.F. and Podkin, O.V. 1970. Inheritance of resistance to cucumber mosaic virus in tobacco plants. *Tabak*, 3: 9.
- Valleau, W.D., Stokes, G.W. and Johnson, E.M. 1960. Nine years' experience with the *N.longiflora* factor for resistance to *P.parasitica. var.nicotianae* in the control black shank. *Tob. Sci.*, 4: 92-94.

- Whelan, E.D.P., Atkinson, T.G. and Larson, R.I. 1983. Registration of LRS-1F193 wheat germplasm. *Crop. Sci.*, 23: 194.
- Wienhues, A. 1966. Transfer of rust resistance of *Agropyron* to wheat by addition, substitution and translocation. *Hereditas Suppl.*, 2: 328-341.
- Wiersema, H.T. 1972. Breeding for resistance. In: *Viruses of Potatoes and Seed Potato Production*, ed: J.A. de Bokx. Wageningen, Cen. Agric. Publ. and Doc., 174 p.
- Wilkes, G. 1993. Germplasm collections: Their use, potential, social responsibility, and genetic vulnerability. in *Proc. of the Int. Crop Sci. Cong. Ames, USA*. Crop Sci. Soc. of America, 445-450.
- Withers, L.A., 1987. Long-term preservation of plant cells, tissue and organs. *Plant Mol. Cell Biol.*, 4: 221-272.
- Withers, L.A., 1994. New technologies for the conservation of plant genetic resources. in *Proc. of the Int. Crop Sci. Cong. Ames, USA*. Crop Sci. Soc. of America, 429-435.
- Yashina, I.M. 1974. Results of work on the use of parental form in breeding potatoes for virus resistance. *Ziemiak*, 1974: 5.
- Yidana, J.A., Withers, L.A. and Ivins, J.D. 1987. Development of a simple method for collecting and propagating cocoa germplasm *in vitro*. *Acta Hort.* 212: 95-98.
- Zhang, Y. 1984. Male sterility of common wheat induced by the *Aegilops squarrosa* cytoplasm. *An.Report Inst. Genet., Academia Sinica*, pp. 53-5,4.