

MOLEKÜLER İŞARETLEYİCİ DESTEKLİ SELEKSİYON KURAMI VE UYGULAMASI (Çeviri)

Taner AKAR

Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
P.K: 226 06042 Ulus-ANKARA e-posta: taner_akar@ankara.taeem.sov.tr

ÖZET: MAS'ın geliştirilmesi ve arpa ıslahında uygulanması geri melezleme ve pedigrisi ıslah yöntemlerindeki etkinliğini artırmada büyük yarar sağlamaktadır. Dahası, basit ve karmaşık bir çok özelliklerin genetik kontrollerindeki bilgilerimizi geliştirmektedir. Bu bilgi birikimi, gelecekte arpa ıslahını kolaylaştırmak için gerekli olan daha özenle planlanan melezleme ve seçim stratejilerine dönüştürülmelidir.

Ek 1: Avustralya Arpa Islah Programlarında Ulusal Arpa Moleküler İşaretleyici Programının Bir Parçası Olarak Moleküler İşaretleyici Destekli Seleksiyonda Kullanılan Özelliklerin Sınırları

MARKER ASSISTED SELECTION IN THEORY AND PRACTICE

SUMMARY: *Molecular marker assisted selection (MAS) was first discussed at the 6th IBGS in 1991 when RFLP markers were readily accessible. At the 7th IBGS in Saskatoon in 1996, there were six invited papers and 35 contributed papers dealing with mapping and markers. Marker development had reached the point where a large number of traits were potentially amenable to MAS, namely,*

1. 30 major genes for resistance to 11 diseases plus 20 QTL for 6 diseases (Graner et al, 1996)
2. 84 genomic locations for 11 quality traits (Henry et al., 1996)
3. 3 major genes for disease and pest resistance (Langridge et al., 1996)

*Just as significantly, authors discussed some of the key opportunities and limitations of this technology. Powell et al. (1996) showed the potential for reducing the number of backcrosses by using random genomic markers to select individuals with a lower percentage of donor parent alleles than predicted from expected segregation ratios. Hayes et al. (1997) questioned the transferability of QTL derived in one cross to wider breeding populations. However, they reported initial promising results of attempts to use MAS based on QTL identified in the original Steptoe*Morex mapping population to select superior recombinants from intercrosses among progeny.*

So what has changed since 1996? Due to the growing gap (in phenotypic performance) between elite cultivars and the ancestral genepool (Rasmusson and Phillips, 1997), there exists an urgent need to develop new strategies for the introgression of novel alleles from exotic donors in to barley breeders' current germplasm. The advanced backcross QTL analysis espoused by Tanksley and Nelson (1996) stimulated interest in this area of research. Some authors, such as Young (1999), have questioned the impact of MAS on practical breeding outcomes. He claims few, if any, of the 400 papers he surveyed (published between 1995 and 1999) describing the use of MAS actually led to new commercial cultivars. Young presents a challenge to those involved in barley genetics and breeding, to demonstrate MAS is a useful tool in practical plant improvement. In this paper, progress with MAS since 1996 is reviewed by comparing published reports, both theoretical and applied, with experience in MAS in two breeding programs in southern Australia.

GİRİŞ

Arpada Moleküler İşaretleyici Destekli Seleksiyon (MAS) ilk olarak 1991 yılında 6. uluslararası arpa genetik sempozyumunda (UAGS) tartışılmıştır. RFLP işaretleyicilerine kolayca ulaşılabilen 7. UAGS'unda (Kanada, 1996) haritalama ve moleküler işaretleyiciler ile ilgili olarak altı tanesi çağrılı olmak üzere toplam 41 bildiri sunulmuştur. Moleküler işaretleyici geliştirme öyle bir noktaya ulaşmıştır ki çok sayıda karakterde potansiyel olarak MAS kullanılabilir. Bunlar;

- 1) 11 hastalık dayanıklılığı için 30 anagen ve 6 hastalık için 20 QTL kantitatif özellik lokusu (QTL) (Graner ve ark., 1996),
- 2) 11 kalite özelliği için 84 genomik bölge (Henry ve ark., 1996),
- 3) Hastalık ve böcek dayanıklılığı için 3 ana gen (Landridge ve ark., 1996).

Araştırmacılar tamamen bu teknolojinin bazı önemli fırsat ve sınırlayıcı yönlerini tartışmışlardır. Powel ve ark. (1996) beklenen açılma oranlarında tahmin edilenden çok daha düşük bir oranda verici anaç allelleriyle bireyleri seçmek için rastgele genomik işaretleyicilerin kullanımıyla geri melezleme sayısındaki azalma potansiyelini ortaya koymuşlardır. Hayes ve ark. (1997) bir melezden elde edilen QTL'lerin daha geniş ıslah popülasyonlarına aktarılmasını sorgulamışlardır. Bununla birlikte Stepto x Morex haritalama popülasyonlarda belirlenen QTL esas alınarak, döller arasında üstün rekombinatları seçmek amacıyla MAS'ı kullanma girişiminin ilk umutvar sonuçlarını belgelemişlerdir.

Öyleyse 1996'dan bu yana ne değişti ? Elit çeşitler ile atasal gen havuzları arasında özellikle fenotipik performansta gözlenen aşırı farklılaşma (Rasmusson ve Philips, 1997) yüzünden arpa ıslahçıların mevcut genetik materyale yabancı akrabalarından yeni aileleri aktarabilmek için acil olarak yeni stratejiler geliştirme ihtiyacı duyulmaktadır. Tanksley ve Nelson (1996) tarafından geliştirilen ileri düzeydeki geri melez QTL analizi, bu alandaki araştırmalar ilgi uyandırmıştır Young (1999). Bazı araştırmacılar örneğin Young (1999) MAS'ın uygulamalı ıslaha etkilerini sorgulamıştır. Young (1999), 1995-99 yılları arasında MAS kullanımını tanımlayan 400 yayını gözden geçirdiğini çok azının yeni ticari çeşitlerin gelişmesine neden olduğunu iddia etmiştir. Young, uygulamalı bitki ıslahında MAS'ın etkili bir araç olduğunun gösterilmesi için, arpa ıslahçıları ve genetikçilerine de bir çağrıda bulunmuştur. Bu bildiri, Güney Avustralya'daki iki ıslah programının MAS deneyimleriyle birlikte hem teorik ve hem de uygulamalı olarak yayınlanmış raporlar ile bugüne dek MAS'daki ilerlemeleri konu alan araştırmaları karşılaştırılmaktadır.

Moleküler İşaretleyicilerin Geliştirilmesi

Moleküler işaretleyicilerin geliştirilmesinde 9 adet önemli aşama vardır (Tablo 1). Bu tabloda, tamamıyla haritalama popülasyonlarından (popülasyon başına 5 lokus MAS'a uygun olduğu varsayılarak) geliştirilen işaretleyiciler birleştirilmiş açılma analizleri (BSA) (popülasyon başına bir lokus varsayılarak)'nden geliştirilenlerle karşılaştırılmaktadır. İşaretleyici geliştirme; harita oluşturulması, fenotiplendirme ve doğrulamayı da içine alan aşırı kaynak gerektiren kesinlikle pahalı bir bilimdir. Arpada BSA kökenli işaretleyicilerin maliyeti tamamıyla haritalama popülasyonlarından geliştirilenlere oranla üç katı daha azdır. Bununla birlikte BSA'ların gücü sınırlıdır. Çoğu kez bir veya iki ana genle kontrol edilen özellikler için geliştirilirler. Şu anda 18 adet işaretleyicinin Avustralya ıslah programlarında kullanıldığı unutulmamalıdır (Eki).

MAS'ın Geri Melezleme Programlarında Kullanımı

Avustralya'da yoğun geri melezleme programlarıyla çok az sayıda arpa çeşidi geliştirilmiştir. Fakat buğdayda son 30 yılda geliştirilen yeni çeşitlerin büyük çoğunluğu çok başarılı olunan geri melezlemelerden elde edilmiştir. Bu başarısızlığın nedenleri;

Moleküler İşaretleyici Destekli Seleksiyon Kuramı ve Uygulaması

- Geleneksel pedigrî veya döl yöntemleri yoluyla daha hızlı genetik ilerleme sağlanması,
- Aktarılabilecek önemli özellik olmayışı,
- Tek bitkileri tanımlamaya uygun fenotip seleksiyonunun olmayışı,
- Özellik geliştirilmesi veya "hasar azaltmayı" garanti edecek elit çeşitlerin olmayışı,
- Uzun geliştirme süreci
- Bir özellikten fazla eşzamanlı geliştirme şansının az oluşu sayılabilir. (???)

Açıkçası, arpa ıslahçıları bu sorunları çözememiştir. Günümüzde en azından maltlık çeşit geliştirmek için geri melezlemenin kullanımı hakkında ikna edici tartışmalar devam etmektedir.

Tablo 1. Avustralya Ulusal Arpa Moleküler İşaretleyici Programında Kullanılan İki Alternatif Yöntemle Moleküler İşaretleyici Geliştirmenin Aşamaları ve Maliyeti

Strateji 1; Haritalama popülasyonlan yoluyla tam harita oluşturma		Strateji 2; Toptan açılma analizi (BSA)	
Aşamalar	Tam harita başına maliyeti (\$A) ve toplamdaki yüzdesi	Aşamalar	BSA başına maliyet ve toplamdaki yüzdesi
İlgilenilen özelliği tanımla; karmaşık özellik (veya birçok tek gen özelliği)	-	İlgilenilen özelliği tanımla; tek genli özellikler	
Anaçları seç. Stratejiyi belirle ve eşgüdümü sağla	20.000 (4 %)	Anaçları seç	2.000 (6.7 %)
Geniş bir popülasyon oluştur (> 180 tek bitki)	7.400 (1,5%)	Popülasyonlan oluştur, 50 civarında tek bitki	1.860(6.2%)
Tohumu çoğalt	5.400(1%)	Tohum çoğalt	1.040 (% 3.5)
Harita yapımı	201.100(41%)		
Harita popülasyonunu fenotiplendir	15.000 (agronomik özellikler) 50.000 (Hastalık) 85.000 (Kalite) (31 %)	Tek bitkileri fenotiplendir	14.560 (% 49)
		İstatistiksel analizler dahil toptan analizlerin oluşturulması	1.000 (% 3)
QTL analizi, istatistiksel analiz dahil	10.000(2%)	Toptan bireyleri genotiplendir	1.000 (% 3)
		Olası işaretleyicilerin belirlenmesi	1.000 (% 3)
Olası işaretleyicilerin doğrulanması	75.000(15%)	İlgili pedigrîlerin doğrulanması	7.500 (% 25)
Toplam maliyet	484.000	Toplam maliyet	29.960
İşaretleyici başına maliyet	96.800 (popülasyon başına 5 lokus belirlendiği varsayılarak)	İşaretleyici başına maliyet	29.960 (popülasyon başına bir lokus varsayılarak)

1. Tek Dominant Genlerin Aktarılması

Çoğu ıslahçı tarafından üzerinde çalışılan muhtemelen en basit MAS uygulaması budur. Bekman ve Soller (1986) geri melezleme süresince MAS uygulandığında arzulanan allel frekansının önemli biçimde arttığını göstermişlerdir. Güney Avustralya Arpa Islahı Programı 'nda (GAAIP) tahıl kist nematoduna (CCN) dayanıklılık geninin (Ha2) Chabec çeşidinden maltlık Sloop çeşidine aktarılmasına 1994 yılında başlatılmıştır (Kretschmer ve ark., 1997). MAS'da RFLP Xawbma21 işaretleyicisi geri melezlemenin 3 döngüsünde kullanıldı. Doubled haploid bitkiler BC₃F₁'den üretilmiş ve elde edilen bitkilerin % 66's

CNN'na dayanıklı bulunmuştur. Bu sonuç beklenen oranı aşmış, (Ha2'den 3cm uzaklıktaki bir işaretleyici için; % 48), görünen o ki; doku kültüründeki artışla ilişkili bir bölge aynı zamanda Chebee çeşidinden gelen H2 geniyle de ilintilidir. CCN dayanıklı Shoop çeşidi tipindeki BC3'den sağlanan bu bitkiler, 2000 yılında 80 ha alanda yetiştirilmiştir. 2001 yılında bu hatların ticari gelecekleri, ticari malt denemeleri ile belirlenecektir. Fenotipik seleksiyonla karşılaştırıldığında, MAS'in en az 2 yıl kazandırdığı tahmin edilmektedir.

GAAIP'den verilecek iki güzel örnek, Arpa sarı cücelik virüsüne (BYDV) toleransı sağlayan Yd2 geninin Franklin den Shoop çeşidine YLM adlı bir PCR işaretleyicisiyle MAS yoluyla başarılı aktarılmasıdır (Paltridge ve ark., 1998). MAS geri melezlemenin iki döngüsünde kullanılmış ve BCaF1'den sağlanan hatlar viruliferous afitleriyle bulaştırılarak parsellerde tarla testine tabi tutulmuştur. Yd2 geni BC2 hatlarına başarıyla aktarılmış ve BYDV'den kaynaklanan kayıplar ani bir şekilde azaltılmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. 1998 Yılında Güney Avustralya'da (Strathalbyn) F₂'den sağlanan BYDV ile Bulaşık BC₂ hatlarında elek üstü (% > 2,5 mm) ve dane verimine YLM varyantlarının etkileri.

-	YLM varyantları	- Afidler	+ Afidler	Afitlerin % si	Önemliliğin farkı(P)
Dane verimi (g/parsel)	Sloop	1023 a	316 a	29	< 0.0001
	Franklin	1257 b	1096 b	87	<0.05
Tombul dane (% > 2.5 mm)	Sloop	63 a	29 a	34	< 0.0001
	Franklin	72 a	69 b	97	N/S

2. Tek Resesif Genlerin Aktarılması

Bir eş-baskın (co-dominant) işaretleyicinin (RFLP veya SSR gibi) var olması durumunda, geleneksel geri melezleme programında fenotipik seleksiyon döngüleri arasında ihtiyaç duyulan kendileme aşamalarını kısaltmak mümkündür. Bu ana genlerden çok az bir farklılıkla, bir resesif genin kavramsal ve uygulamalı olarak aktarılmasını sağlamaktadır. Arpada, resesif özelliklerin bağlantılı olduğu işaretleyicilere örnek olarak mlo (klonlanmış geninden sağlanan işaretleyici, Buschges ve ark., 1997) ve ant 28 (RAPD işaretleyicisi p324; Garvin ve ark., 1998) verilebilir.

3. Birçok Genin Eşzamanlı Seçimi

Geri melezlemelerde MAS'ın en çarpıcı uygulamalarından birisi çok genli özelliklerin aktarılma potansiyelidir. Uygulamalı geri melez stratejisinde fenotipik seleksiyonla iki özelliği aktarmayı kavramak ve idare etmek zordur, kaldı ki daha fazlasını düşünmek çok daha zordur. Tersine, MAS uygulamasında, her lokusta heterozigot olan istenen sayısı da bireylerin ortaya çıkmasını garanti edecek bir uygun BC_x F₁ popülasyonunun idare edilmesi tek sınırlayıcı unsurdur. Hasar azaltıcı strateji çerçevesinde GAAIP, CCN (Ha2 veya Ha4), BYDV (Yd2) ağ benekliliğin nokta formu (Rpt4) ve Mn etkinliği (Mel 1) genlerini Shoop çeşidine paralel akış çizgisi çerçevesinde aktarılmıştır. 1996'da başlayan bu bağımsız akış çizelgesi ileriki düzeyde birleştirildi. Sloop tipi bu özellikleri taşıyan hatlar 2000 yılında tarla denemelerine alınmıştır.

Bu yaklaşımda karşılaşılan zorluklar;

- Verici anahtarın artan sayısına paralel polimorfik işaretleyicilerin var oluşu, bu zorluk her bir kanaldan gelen hatlar arası melez yapılmadan kendileme veya doubled haploid üretimiyle her geri melez akış çizgisinde genlerin sabitlenmesiyle aşılabilmektedir.
- Uygun büyüklükteki popülasyonların idare edilmesi.

4. QTL'lerin Aktarılması

Şu anda birçok QTL'lerin geri melezlemeyle aktarılması örneği vardır. Bunlar; kantitatif kalıtmı sarı pas dayanıklılığı (Toojinda ve ark., 1999), distilasyon kalitesi (Powel, kişisel görüşme), malt kalitesi (Thomas ve ark., 1996; Han ve ark., 2000). GAAIP malt kalite özelliklerinin genetik kontrolünün analizini öyle bir noktaya kadar geliştirdi ki, malt ekstraktı, diastetik güç ve mayşe vizkozitesinde MAS'u kullanmak artık mümkündür.

En basit şekliyle, ana genlerle karşılaştırıldığında, geri melezlemeyle bir QTL aktarılması için çok az bir farklılık vardır. İlk olarak, QTL'in yeri hakkında bir şüphe vardır ki bu QTL'leri çerçeveleyen işaretleyicileri zorunlu kılmaktadır. İlgilenilen bölge iyice haritalanmamışsa, bu çoğunlukla aktarılacak parçacığın uzunluğunu artırır. Son olarak, en önemli konu QTL'lerin doğrulanmasıdır. Bu süreç bir haritalama populasyonundan elde edilen özel kromozom bölgesinin fenotipik etkisini belirli sınırlar içinde ilk olarak yakın olandan başlayıp daha sonra daha az yakın olana doğru giderek sınamayı içerir. Collins ve ark., (1999) ve Coventry ve ark., (1999) bu araştırmayı sırasıyla malt ekstraktı ve diastetik güçte üstlendiler ve QTL'lerin MAS ile aktarılmaya uygun olduğunu önerdiler. Şimdi karmaşık kalite özelliklerini geri melezlemede MAS ile uyarılma fırsatı artık olanaklıdır. Bu fenotipik seçimle programlarında döl testi döngülerinde zaman kaybetmeksizin geleneksel geri melezleme önceleri mümkün değildi. QTL'lerin aktarılması ile ilgili önemli bir diğer konu ise seçimin kesin oluşudur. Yapılan iki çalışma (Lande ve Thampson, 1990; Zhang ve Smith, 1992) göstermiştir ki MAS düşük kalıtım derecesine sahip özelliklerin seçimindeki zorunluluğu önemli oranda artırmaktadır.

5. Verici Anaçların Seçimi

Birçok araştırmacı ya kendi ıslah programlarından veya kendi coğrafik bölgelerinden arpa genetik kaynaklarının filogramlarını yayınlamışlardır (örneğin arpa için Melchinger ve ark., 1994; Russel ve ark., 1997). Moleküler işaretleyici verilerine dayalı benzerlik indeksinden yararlanarak istenen özellik için olası bir çok anaç içerisinde bazı bireyler seçilebilirdi, ideal olanı da seçilecek genotipin tekrarlanacak anaçtan en az genetik mesafeye sahip olmasıdır. Bu tekrarlanacak anaç fenotipini yeniden yakalamak için teorik olarak geri melez döngü sayısını azaltacaktır. Örneğin, CCN dayanıklılığı konusunda, Chebec (Ha2 taşıyıcısı) tekrarlanacak anaç olan Shoop'a, Barque (Ha4 taşıyıcısı)'ndan genetik olarak daha yakındır. BCI'den sağlanan hatlarda, verici anaç olarak Borque değil de Chebec kullanıldığında, Shoop çeşidinin malt kalite özelliklerinin (düşük mayşe vizkozitesi; yüksek serbest amino asit azotu (FAAN), diastetik güç (DP) ve alfa ve beta amilaz) yeniden kazanıldığı kolaylıkla doğrulanmıştır (Tablo, 3).

Tablo 3. Bazı Basit ve Geri Melezlemelerde Anaç ve Döllerin Ortalama Sıcak Su Ekstraktı (HWE, % kuru ağırlık), vizkozite, FAAN, DP, Alfa ve Beta Amilaz Aktiveleri

Mezleme şekli	Verici anaç	Hat sayısı	Sıcak su ekstraktı	Vizkozite	Serbest amino asit Azotu	Diastetik güç	Alfa amilaz	Beta amilaz
Basit BC, BC, BC ₃	Chebec	5	78,0 a	1,62 a	124 a 133	371 a	109 a	260 a
	Chebec	13	77,7 a	1,60 ac	ac 112b	412a 375	116a 97	294 a
	Barque	18	77,4 a	1,69 b	143 c	a 494 b	b 116a	276 a
	Chebec		77,9 a	1,56 c				368 b
Kontrol	Sloop		77,9	1,55	147	453	101	352
	Chebec	-	77,8	1,62	123	378	103 94	273
	Barque		75,9	1,73	100	389		295

6. Tekrarlanan Anaç Genotipinin Yeniden Kazanılması

Arpada Powel ve ark. (1996) beklenen oranla (% 25) karşılaştırıldığında, BC₁'de verici anaç işaretleyicilerinin oranlarının % 8-60 arası bir sınırdaki değiştiğini; Jefferies ve ark., (yayınlanmamış), BQ ve BC₃ döllerinde verici anaç allellerinin oranlarının bir geniş bir sınırdaki olduğunu da gösterdiler. Onlar, Powel ve ark. (1996) önermeleriyle aynı görüşleri ki MAS'ın asıl genotip için kullanılmasıyla 1-2 geri melezlemeden tasarruf sağlanmasının mümkün olduğuna inanmaktadır. Jefferies ayrıca tekli melez, BQ ve BC₃ döllerini fenotiplendirdi ve görüldü ki bazı kantitatif özelliklerin fenotipleri moleküler işaretleyici kullanılarak yapılan tahminlerdeki gibi verici anaçların allellerinin oranlarıyla ilişkiliydi (Şekil 1).

Hospital ve ark. (1992) ve Openshaw ve ark. (1994) mısırdaki farklı geri melezleme şemalarını takip ederek tekrarlanan anaçın geri kazanılmasını karşılaştırmak amacıyla modellemeler yapmışlardır. Bu çalışmalar geri melezlemenin optimize edilmesini büyük ölçüde açıklığa kavuşturmuştur. Stam ve Zeven (1981), 100 cM'lik bir kromozomda üç geri melezlemeden sonra verici anaçın tipik parçacık uzunluğunun tutulan DNA'sının 51 cM olduğunu tahmin etti. Frish ve ark. (1999) mısırdaki simüle edilen bir sistemde oldukça sıkı bağlantılı çerçevesel işaretleyiciler boyunca, BC₁'de aşırı bir seleksiyonun verici anaçın segmentlerinin azaltılması için kaçınılmaz olduğunu göstermiştir. Frisch ve ark. (1999) ve Hospital ve ark. (1992) verici anaçın hızlı kazanımı için genomun geri kalan kısmına serpiştirilmiş her 100 cM'da 2-3 işaretleyici olması gerektiğini önermişlerdir. Frisch ve ark. (1999) bir 6 geri melezlemelik stratejide 2-4 geri melezleme azaltılması gerektiği konusunda görüş birliğine varmışlardır.

GAAIP AFLP'leri bu amaçla test etmiş bu işaretleyicilerin hemen kullanılacağını fakat uygun bir lisansın maliyetini göz önüne aldıklarında, ıslah programlarında uygulamak amacıyla SSR esaslı bir protokol geliştireceklerdir.

7. MAS'ın Gerimelezleme İslahında Kullanımının Özeti

Yukarıda açıklanan 6 stratejiyi kullanarak geri melezleme etkinliğinde çok fazla kazanımlar mümkündür ancak bunlar henüz birçok uygulamalı arpa ıslah programları tarafından gerçekleştirilememiştir. Bu gelecek için bir fırsat sunmaktadır.

MAS'ın Pedigri veya Döl İslahında Kullanımı

GAAIP'ında geri melezleme toplam genetik materyalin % 10-15'ini kapsar. Geri melezleme etkinliğindeki gelişmeler önemlidir. Fakat MAS'ın çoğu programlarda en büyük potansiyel etkisi pedigri veya döl ıslahı sistemine uzanır. GAAIP'ında bir F₃-döl sistemi uygulanmaktadır.

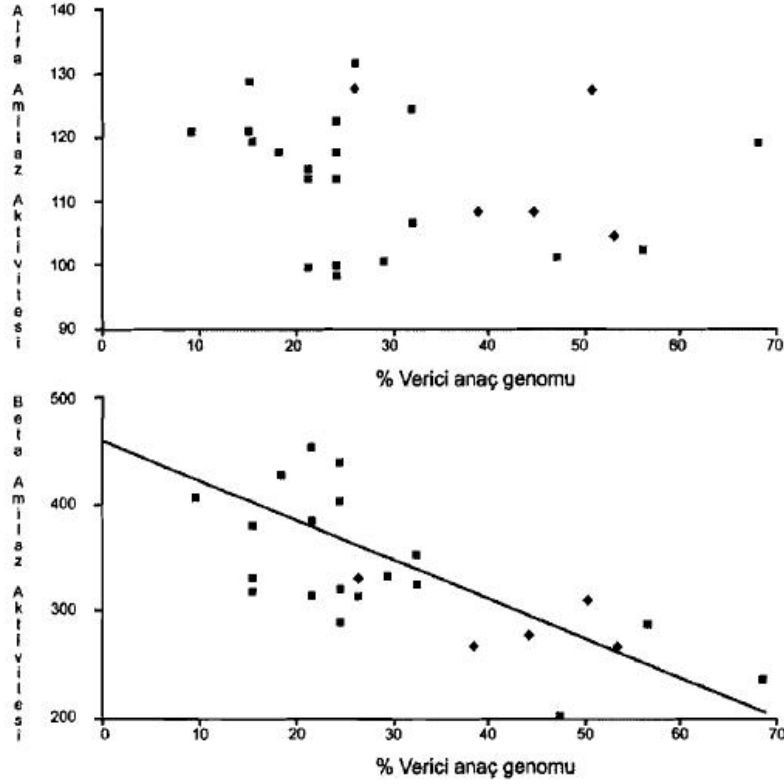
1. Gen Havuzunun Tanımlanması

Birçok ıslah programında moleküler işaretleyicilerin ilk kullanım girişimi kendi gen havuzlarındaki çeşitliliğin tanımlanmasıdır. Melchinger ve ark. (1994) ve Russel ve ark. (1997) sırasıyla Avrupa ve Kuzey Amerika materyallerini tanımlamışlardır. Avustralya materyali diğer önemli gen havuzlarıyla karşılaştırılmış (Chalmers ve ark., basımda) ve bu çalışma Kuzey ve Güney Avustralya koşullarına adaptasyonun anlaşılmasını sağlamıştır.

Kuzey Avustralya için seçilip adapte olan materyal büyük oranda Avrupa materyaliyle örtüşürken, Güney Avustralya materyali iki farklı gruba ayrıldı. Bu bilgiler;

- Daha önce tanımlandığı gibi tekrarlanan anaç yakın verici anaçın geri melezlemede seçilmesinde,

- İlgilenilen özelliğe transgressif açılma fırsatlarını en üst düzeye çıkarmak için daha geniş bir çeşitlilik içeren anaçların seçiminde,
- Farster ve ark. (1997) *H.spontaneum* materyali arasında tuz toleransı açısından gösterdiği AFLP ilişkileri ve Paull ve ark. (1998)'nin Sr22 için buğdayda gösterdikleri gibi işaretleyici benzerlikleri ve pedigri esas alınarak özelliklerin haritalanmasında kullanılabilir.



Şekil 1. Alfa ve Beta Amilaz arasındaki ilişki ve Sloop (tekrarlanan) ve Chebec (verici) geri melez ve melezlerinde verici anaç genomunun oranı. Alfa amilaz açısından bir ilişki bulunmazken, Beta amilaz açısından anlamlı bir olumsuz ilişki saptanmıştır. Basit melez, BC1 ve BC3 elde edilen döller sırasıyla □ ◆ ■ şeklinde gösterilmiştir.

2. Bağlantı Blok Analizi ve Seçim

İslahçılar seleksiyon sürecinde yüksek oranda korunan belli kromozom bölgelerinden ki bunlar genlerin anahtar gruplarını taşımaktadır (bağlantı bloklarını tanımlamak için sık sık "Ulusal Parklar" terimini kullanılır). Kuzey Amerika Arpa Genom Haritalama Projesi (KAAGHP) bir dizi malt kalite özelliğiyle ilişkili olan 1H ve 5H kromozomlarındaki bu bölgeleri tanımlamaktadır. Baum ve ark. (kişisel görüşme), Suriye'de karşılaşılan stress koşulları altında yüksek performans için mutlaka gerekli olan QTL'lerin 5H kromozomu üzerinde bir bölgede olduğunu bildirmektedir. Waite Kampüste yürütülen bir öğrenci projesinin ilk bulguları (Atmodjo, basılmamış); Güney Avustralya koşullarına adaptasyon için gerekli olan ve önemli bir anaç hat, CI 3575'tan gelen genomun korunmuş bölgelerinin 4-5 melezleme ve seçme döngüsü içerisinde şu anki ıslah materyalinde biriktirildiğini göstermiştir. Çok az ıslahçı kendi ıslah materyalinde bağlantı bloklarını tanımlamaya çalışmış ancak çoğu bu bilgiyi elde edebilecek araçlara sahip değildirler. Macaulay ve ark. (baskıda) bir genotipik veri tabanı oluşturmak için kullanılan 48'lik bir SSR setini tanımlamaktadır. Elde edilen bilgiler Excel ortamında bir grafiksel genotipler oluşturmak için kullanılmış bu bir set ıslahçı

hatlarında korunmuş bölgelerin görselleştirilmesi için kolay bir yöntem olmuştur. Birçok program örneğin "GGT" (Berlo, 1999) piyasada şu anda kullanıma hazır iken son zamanlarda "grafiksel genotipler" için en gelişmiş yazılım özel sektörde yerini almaktadır.

3. Temel Rekombinasyon Olayları

Moleküler işaretleyici geliştirme programlarından gelen en büyük katkılardan birisi de arpa genomu hakkında artan bilgi birikimi ve önemli özelliklerin genetik kontrolüdür. Bu alandaki ilk on yıllık araştırmalara göre; arpa ıslatıcıları bir özelliği bir anaçtan diğerine aktarırken veya gerçekten kantitatif özellikleri geliştirirken, düzenleyecekleri uygun bir strateji konusunda kendilerini daha güvende hissedebilirler. Şekil 2'de arpada malt ekstraktının belirlenmesi ile ilişkili sekiz farklı haritalama populasyondan sağlanan 16 QTL' u gösterilmektedir. Bu bilgiyle eşleştirildiğinde, bir çok önemli agronomik özelliğin yeri de bilinmektedir. Güney Avustralya için maltlık arpa ıslahı söz konusu olduğunda, niye malt ekstraktının geliştirmenin CCN'e dayanıklılıkla, ister Ha2 (2H) olsun isterse H4 lokusu (5H), birlikte seçmenin zor olduğu şimdi daha açık görülmektedir. Ha2/Ha4 dayanıklılığını taşıyan bir anaç hattın Amerika veya Kanada' nın yüksek malt ekstraktının QTL'lere sahip çeşitlerine karşılık kullanılması durumunda CCN'e dayanıklılıkla yüksek malt ekstraktı lokuslarının (QTL) rekombinasyonu Avustralya arpa gen havuzunda çok az rastlanan bir olay olarak görünmektedir.

4. F1'lerin Doğrulanması

Çoğu ıslatıcının bir sorun olarak görmemeyi tercih etmesine rağmen uygulamalı ıslah programlarında yapılan melezlemelerin % 5'e kadarlık bir kısmı gerçek melez olmayabilir. Yani bunlar kendilenebilmekte veya yanlış anaçları içermektedirler. GAAIP yanlış melezleri elemek ve tanımlamak için moleküler işaretleyiciler bulmuştur ki bunlar haritalama populasyonlarının üretilmesinde, genetik çalışmalar ve doubled haploid üretimini hedefleyen melezlemelerde kesinlikle mutlaka elzemdir.

5. Karmaşık Filerin Geliştirilmesi

Üç veya dörtlü melezler potansiyel olarak çok fazla oranda arzulanan özelliklerin elit döllere birlikte aktarılmasına izin vermelerinden ötürü çekicidirler. Bununla birlikte, uygulamada birçok ıslahçı elit döllerin frekanslarının düşük olduğunu bulmaktadırlar. Bu yüzden, onlar basit melez yapmanın uzun yolunu tercih ederler yani önce arzulanan allelleri sabitlerler daha sonra her bir basit melezlerden seçtikleri hatlarla melezleme yaparlar. Çeyreğine bir anacın katkıda bulunduğu her bir lokustaki arzulanan allel frekansını artırmak için MAS bir seçenek olarak kullanılır ki döllerin % 25 ile % 50'si F1'lerin üst melezlerle (top cross) veya 4'lü melezle taranmasıyla ortaya çıkarılmaktadır. Bu, GAAIP programında en basit MAS kullanımının bir belgesidir ve toplam işaretleyici uygulama kaynaklarının % 60'ına karşılık gelir.

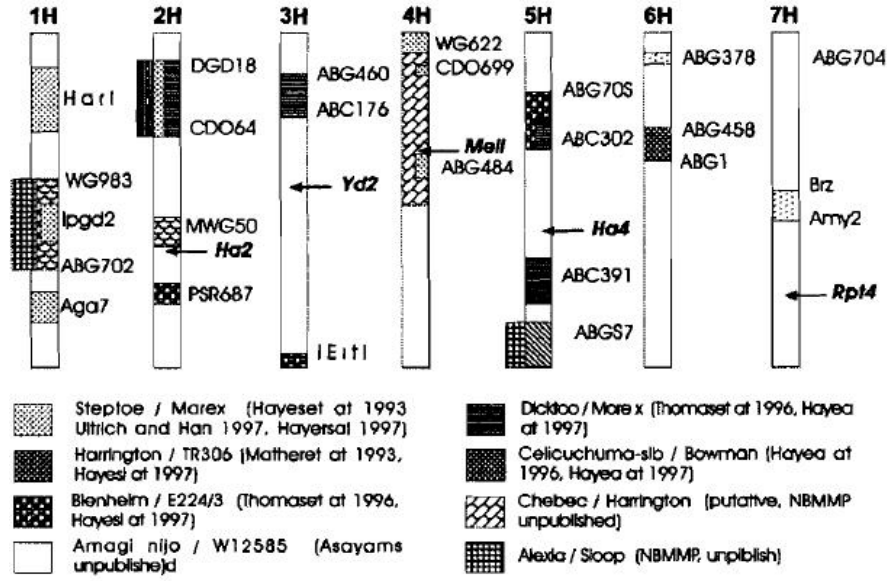
Karmaşık melezlerde şu anda izlenen özellikler; CCN dayanıklılığı, bor toleransı, ağ benekliliğin nokta formu, Mn etkinliği, BYDV toleransı ve malt kalitesidir. Bu strateji ile ilgili sorun şudur ki, moleküler işaretleme teknolojisi karmaşık melezleri çok basitleştirmiş fakat ileri düzey karmaşıklık ve MAS'un önündeki şimdiki engel kullanılan anaçlar arasında polimorfizmin olmayışıdır.

6. Erken Kuşaklarda Seçim

MAS'ı erken kuşaklarda uygulamak için gerekli olan teori diğer seleksiyon şekilleriyle benzerdir. Kaldı ki MAS eşzamanlı seleksiyona daha yakındır. Halbuki fenotipe dayalı erken dönem seleksiyon daha çok birbirini takip eden diziler halindedir. Genel olarak, ıslatıcılar yüksek kalıtım derecesine sahip özellikleri görsel olarak erken kuşaklarda seçerler çünkü verim veya diğer karmaşık özellikleri sıralar veya küçük parsellerde etkili bir biçimde

seçmek imkansızdır. Populasyon genişlikleri yeterli ve kalıtım derecesi düşükse, MAS'in fenotipik seleksiyondan daha etkin olduğunu bilgisayar modellemeleri göstermiştir (Whittaker ve ark., 1997; Lande ve Thompson, 1990). Bu, ıslahçılar ve genetikçileri erken kuşaklarda etkin karmaşık özellikleri seçmek için uygulamak ve MAS yöntemlerini düzenleme ve çalıştırmak için bir fırsat sunmaktadır.

Böylece erken kuşaklarda MAS ile hatların sabitlenmesi GAAIP'nın birincil hedefidir. Her yıl, 15.000 üzerinde yeni F₃'ten sağlanan hatlar sıralar halinde bir yerde ekilir. Amaç, oldukça geniş ölçekteki bu özellikleri (ve bağlantı bloklarını) izlemektir ki bu hat başına 20 adet işaretleyici gerektirir. Şu anda, bu kamu ıslahçıları için fantazidir. Çok sayıda sınırlayıcı etmenler, MAS'in yalnızca erken kuşaklarda tüm programın bir küçük kısmını kapsayan çok önemli materyalin taranmasında kullanılabileceğini zorunlu kılmaktadır. Önemli kısıtlar; DNA ekstraksiyonun maliyeti, uygun işaretleyicilerin varlığı, örnekleme ve verilerin işleminde kullanılacak eleman kaynakları ve yüksek yatırım gerektiren sistemlerin maliyetidir.



Şekil 2. Arpa haritalama çalışmalarında malt özütü ve temel tarımsal özelliklerle ilişkili kromozom bölgeleri. Tarımsal özellikler tahıl kist nematoduna (Ha2 ve Ha4) dayanıklılık, Manganez etkinliği (Mel 1) ve Ağ benekliliğin nokta formuna (Rpt 4) dayanıklılıktır.

7. Özellikleri Alt Unsurlarına Ayırma

Özellikleri alt unsurlarına ayırmak için QTL analizinin güçlü bir araç olduğu doğrulanmaktadır. Hayes ve ark. (1999) saji pasa dayanıklılığın kantitatif unsurlarını araştırdı ve QTL'leri etmenlerine ayırdı ki bunlar farklı patojen grupları tarafından etkilenmektedir. Collins ve ark. gösterdiler ki Gallean x Harunanijo haritalama populasyonda tanımlanan bir malt ekstraktı QTL'in kavuz kalınlığı ve arpanın çimlenmesinin belirlenmesine de dahil olmaktadır. Özelliklerine ayırma farklı özellikler için sağlanan QTL'lerin üst üste çalışmasına bağlıdır ve karmaşık özelliklerin analizi için geliştirilen EST yaklaşımı kadar güçlü bir araç olamaz. Bununla birlikte çoğu arpa programlarında kullanılabilirliği ve yararlı oluşu doğrulanmaktadır.

İlkel Genetik Materyalin Değerlendirilmesinde MAS'ın Kullanımı

Özel kalite öğelerini geliştirmek için uygulanan yüksek seleksiyon baskısı yüzünden maltlık arpa çeşitlerindeki genetik çeşitlilik hızla azaltılmaktadır. Bu sonuç olarak arpa ıslahçıların yeni hastalık baskılarına karşı koyabilmeleri için kapasitelerin azalmasına ve arpa ıslahçıların kalite ve verimde önemli gelişmeler yapma sınırlanmasına yol açacaktır. Şu

andaki maltık arpa gen havuzlarına dışarıdan materyalin aktarılması mutlaka gereklidir. Agronomik ve kalite özellikleri için QTL'ler şu anda belirlenmiştir. Büyük oranda elit ıslah hatları ve çeşitlerden gelmektedir. Halbuki bu elit (ve dar) gen havuzu dışındaki materyal için şu anda çok az bir yatırımla QTL'ler belirlenmiştir. Bu alana yapılan çok az araştırma yatırımına karşın, tuz dayanıklılığı (Ellis ve ark., 1997), yaprak lekeli dayanıklılığı (Abbott ve ark., 1996), külleme dayanıklılığı (Moseman, 1983) ve daha fazla sıcak kararlılığı olan B glukanoz (Eglinton ve ark., 1998) için *H. spontaneum*dan alleller tanımlanmıştır. Diğer bitkilerden sağlanan deneyimler (Tanksley ve Nelson, 1996) kantitatif özelliklerde asıl ilerleme yabancı akrabaların değerlendirilmesi yoluyla olduğunu işaret etmektedir. Dahası "Geliştirilmiş gerimelez ve QTL" yöntemi (Tanksley ve Nelson, 1996) yabancı akrabalardan ailelerin girişini sunmaktadır ki eş zamanlı olarak bağlantıları çekmeyi idare eden bir yöntem sağlamaktadır (moleküler işaretleyicilerin kullanılmadığı yabancılerden gen aktarma programlarında karşılaşılan devamlı bir sorundur). *H. spontaneum*, kültürü yapılan arpanın hem agronomik özellikler ve hem de kalitesini önemli düzeyde geliştirecek bir potansiyel sunmaktadır ki, bunda ötesinde mevcut elit çeşitler arasında QTL'lerin moleküler manipülasyonuna bağlı olarak ta bu gerçekleştirilebilir.

MAS'ın Geleceği

Gelecek birkaç yılda işaretleyici teknolojilerinde bir çok gelişme olacağı beklenmektedir. Hatlar arasındaki DNA varyasyonu belirleyen yöntemler daha ucuzlayacak ve şu anda mümkün olandan daha fazla sonuç alınmasına izin verecektir. Örnek başına maliyet aşağı çekilirken, robotlu sistemler, ileri varyasyon belirleme ve DNA analizleri için duyulan ihtiyaçtan ötürü gelişmiş bir laboratuvarda işletme maliyetlerini arttıracaktır. Belli bir düzeyde düşüş olmasına rağmen, DNA izolasyonu önemli bir kısıtlayıcı etmen olmaya devam edecektir. Şu andakinden daha fazla önemli özelliklerin moleküler işaretleyicilerle belirlenmesine güvenle bakılmaktadır. Islah ve seçim programlarınca izlenecek birçok gen (veya lokuslar)'ın sayısı genetik mühendisliği yöntemlerinin arpa ıslahına uygulanmasıyla hayli artacaktır. Bu eğilim ıslatıcıları hatlarına daha detaylı moleküler analizler yürütmeye teşvik edecek ve her bir hat için uygun olan bilgi miktarını genişletecektir. Bu noktaları akılda tutarak, aşağıdaki konuların MAS'ın uygulama ve gelişmesini etkin hale getirileceğine inanılmaktadır.

1. Polimorfik İşaretleyiciler

GAAIP laboratuvarlarında, MAS uygulamalarını kısıtlayan en önemli etmen kullanılan anaçlar arasında polimorfizmin olmayışıdır ki bu tip melezlemeler ve dörtlü melezlerin izlemesinden daha belirgindir. Çok fazla sayıda SSR işaretleyicileri RFLP/AFLP esaslı Avustralya haritalamalarına eklenmektedir.

İskoç Bitki Araştırma Enstitüsü'nün (SCRI)'den sağlanan işaretleyiciler oldukça ümitvar fakat tamamıyla uygulamaya konulamadı. Avustralya haritalama popülasyonlarında, anaçlar arasındaki polimorfizmin SSR için yaklaşık % 25-30 iken bu rakam RFLP (beş enzim) için % 70'dir. Diğer haritalama popülasyonları bu rakamı % 23-38 arasında bildirmektedir. Polimorfizm oranları ıslah popülasyonlarında daha düşük olabilir. Özellikle gen havuzunda olduğu maltık programlarda Macaulay ve ark. (baskıda) seçilmiş bir 48'lik SSR seti için PIC değerini (polimorfik bilgi içeriği) = 0,64 olarak bildirmektedir. MAS amacına bağlı olarak şu an mevcut olandan daha çok işaretleyiciye gereksinim duyulacaktır. Örneğin PIC değerini 0.25, genom büyüklüğünü 1200 cM ve her 10 cM'un kapsanacağı varsayarsak, 480 SSR'a ihtiyaç duyulacaktır. Eğer belli bir lokus MAS ile hedeflenecekse, çoğu anaç kombinasyonlarını karşılayacak şekilde uygulamalarda 10 civarında SSR'a ihtiyaç duyulacaktır.

2. İşaretleyicilerin Doğrulaması

MAS'la uğraşan çoğu gruplar haritalama populasyonlarında ilgilenilen olası bölgelerin ilk tanımlanmasının ardından ihtiyaç duyulan doğrulama sürecinin maliyetini düşük görürler. Çoğu kez bir haritalama populasyonunda bağlantılı bir işaretleyicinin bulunması nisbeten doğrusal gittiği belgelenmektedir, halbuki uygulamalı ıslah programlarında durum böyle değildir. Doğrulama süresi; orijinal haritalama populasyonundan öte bir allelin etkisinin farklı genetik tabanlarda sınanmasını, anaçların tüm kombinasyonlarında bir dizi aday işaretleyiciler kullanılarak polimorfizmin belirlenmesini ve seçilmiş enzim-işaretleyici/işaretleyici-protokol dizilerinin temel testlerini içermektedir. GAAIP'ında; MAS'in % 15-25 bütçesi bu süreç için harcanır hatta bazı araştırmacılar bunun düşük tutulduğuna inanır (Tablo 1). Doğrulama ile ilgili masrafların azaltılması durumlarda MAS'a daha fazla ilgi duyulacaktır. SNP gibi teşhis işaretleyicileri bu masrafları azaltmanın olası bir yolu olabilir.

3. İşaretleyici Maliyeti

İşaretleyici maliyetinin kısıtlayıcı etkileri erken kuşakta materyal taranması konusunda kısaca tartışıldı. Asıl kısıtlar;

- DNA ekstraksiyonunun zaman ve maliyeti: Hızlı DNA izolasyon yöntemleri mevcut ve bunlar maliyeti düşürebilir fakat bu MAS'da ana maliyet olmaya devam etmektedir.
- Sıkı bağlantı içinde olan işaretleyicilerin var olması : Arpa genomunda, kamu ve özel sektör çalışmaları mevcut işaretleyicilere ek olarak yeterli SSR işaretleyicileri sağlayabilir böylece bu sorun aşılabilir. Bazı ıslahçılar yalnızca bazı anaçlar ve özellikleri için polimorfik olduğu doğrulanan işaretleyiciler kullanımıyla yapılan MAS'in gen havuzunun daraltılmasına yol açacağı şeklinde bir endişeyi taşımaktadırlar.
- Bitki, DNA ve allel verilerini idare edecek uzmanlar : Birçok ıslah programı MAS ile ilgili ilk çalışmalarını özel projelerden karşıladılar fakat birkaç yıl önce özel sektör ıslahçılarında olduğu kamu ıslahçıları içinde zaman hızla yaklaşıyor ki MAS'in daha ileri çalışmaları için ıslah grubuna yeni insan kaynaklarının dahil edilmesi gerekmektedir.
- Yeni, robotik sistemler : Günde 10^4 - 10^5 lokusu analiz etme kapasitesinden ötürü büyük bir fırsat fakat sadece çok büyük ıslah programları için.
- Robotlu sistemler, taq polimeraz, jel esaslı olmayan ayırıcı sistemlerin maliyeti v.s. gerçekten yüksek maliyetlerdir : Bazı sistemlerin hedeflenen sayıda yönetilmesi potansiyeline rağmen bunlar şu anda çoğu arpa ıslahı programının bütçelerinden ötesinde görünmektedir. Bununla birlikte SNP işaretleyicilerinin ciplerde analiz edilebilir veya yoğun spektrofotometrik yöntemler kullanılabilir olması maliyeti büyük ölçüde azaltabilir.

4. MAS'ın Kullanmasının Risk ve Kısıtları

En sık gündeme getirilen risk, genetik çeşitliliğin daralmasına yol açabilecek yalnızca işaretleyici ve/veya polimorfik işaretleyicilerin belirlendiği anaçların kullanılmasıdır. Bu özellikle daha iyi rapor edilmiş kaynakları kullanmak yerine birkaç tane çok iyi tanımlanmış hastalık dayanıklılık genlerine yoğunlaşma şeklinde olabilir.

Bu risk ıslahçılar tarafından programın bir kısmını yeni karakterize edilmemiş materyale ayrılarak en aza indirebilir. Bu sorun, işaretleyici teknolojisi nasıl gen havuzunuzu genişletebilir diye düşünülürse daha faydalı olabilir, nitekim Tansksley ve Nelson (1996) "İleri gerimelez QTL" analizi yöntemleriyle bir çözüm önermektedirler. Birçok arpa genetik grubu bu alanda çalışmalar başlatmıştır fakat çok az yayınlanmış bilgi mevcuttur.

İşaretleyici teknolojisi ıslahçılara kullandıkları genlerin kesin olarak yerlerini bilmeleri konusunda yardımcı olabilir. Örneğin, hastalıklılara dayanıklılık programı konusunda, bir ıslahçı farklı dayanıklılık kaynaklarını kullandığını gen piramidinin mümkün ve riskin dağıtıldığını sanabilir. GAAIP'nda farklı genleri taşıdığına inanıldığı arpa yaprak lekesi dayanıklılık kaynaklarının gerçekte aynı genleri ait olduğu veya en iyi olasılıkla aynı lokuslardaki farklı alleller olduğu bu gün artık açıklıkla bilinmektedir.

İşaretleyici teknolojisi üzerinde fazla durulmasının belli çevreler için çok uygun olacak bir stratejiden çok ıslah stratejilerinin bu teknolojiye odaklanacağı şeklinde bir endişe mevcuttur. Örneğin, geri melezleme MAS için oldukça kullanılabilir fakat bu strateji yapısı gereği ıslah programlarında birincil öncelikli olmamalıdır. Tekrar bu konu da açıklanabilir, eğer ıslahçılar potansiyel sorunlarının farkındaysa, kendi programlarına birçok yöntemi dahil edebilirler.

Bir başka kısıtta QTL ayırımlarının gücü ile ilgilidir (Melchinger ve ark., 1998). Haritalama popülasyonlarında gösterilen çoğu QTL doğrulama popülasyonlarda kaybolur. Bu QTL'ler melez özel olabilir bunlar çeşitçe çevre etkileşimine konu olmaktadır. Chebec x Harrington haritalama popülasyonundan elde edilen ve İH kromozomu üzerinde bulunan malt ekstraktı QTL, sadece bazı çevrelerde belirirken, 5H kromozomundaki QTL çoğu çevrede ortaya çıkmaktadır. Bu gerçek olmayan QTL'ler küçük haritalama popülasyonlarındaki yanlışlıklardan, fenotiplendirme denemelerindeki hatalardan veya QTL analiz yöntemine ilişkin temel kısıtlayıcı faktörleri yansıtır olabilir.

5. Teşhis İşaretleyicileri

Teşhis için kullanılan işaretleyicilerin çekiciliği (bu işaretleyiciler gerçek fonksiyonel gen dizinin elde edilirler veya hedef genle bir rekombinasyon göstermezken) özellikle SNP gibi basit analiz yöntemlerle birleştirildiğinde çok baskın durumdadır. Fazla zaman gerektiren doğrulama ve anaçlardaki polimorfizm aşamalarını sıfırlamak (en azından fazlasıyla azaltmak) mümkün olduğu gibi işaretleyiciler, izlemenin kesinliğini de artırır. Böylesi işaretleyicileri geliştirmenin maliyeti insan genom projeleri için her hangi bir kısıt içermezken, arpa için çok daha kısıtlayıcı olabilir. Bazı mısır ıslahçıların açıkça kullanmalarına rağmen, bitkilerde SNP uygulamalarında herhangi bir yayın yoktur. Bunların arpa ıslahında olası etkilerini tahmin etmek için zaman çok erkendir.

6. Değişik Harita Yapma Yöntemleri

Bağlantı eşitsizliğine göre haritalama yöntemleriyle işaretleyici tanımlama, toptan açılan analiz (BSA) ve haritalama popülasyonlarının geliştirilmesi esasına dayalı mevcut stratejiye seçenek olarak tartışılmaktadır (Elsner ve ark., 1995). Bu teknik özellikle insan ve hayvanların haritalamasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Böylesi bir yaklaşım işaretleyici geliştirmenin maliyetini değiştirecek mi? İslah popülasyonların analiz için hatları sağlamasından ötürü, fenotiplendirme, tohum hazırlama ve popülasyonların oluşturulmasıyla ilişkili masraflar azalacaktır. Bununla birlikte çok fazla hattın genotiplendirilmesine ihtiyaç duyulacaktır (1000 civarında) ve bir popülasyonun toplam maliyeti, Tablo 1'de tanımlandığı gibi bir haritalama popülasyonunki kadar olabilir. Daha sonra sorulacak soru, ayırım işlemi bir haritalama popülasyonu veya özelliklerin sayısından daha mı iyi olacak ? Bizim bilgilerimize göre bitkilere geniş ölçüde bu tekniğin uygulandığına dair herhangi bir rapor yoktur. Bununla birlikte, buğdayında dahil olduğu birçok türde işaretleyicilerin özellik ilişkilerini belirlemek için kullanılmaktadır (Pavell ve ark., 1998). İnsan haritalamadan edilen deneyimler göstermektedir ki, bu teknik karmaşık özellikleri küçük etkileri olan birçok faktöre ayırabilir. Daha ileri düzeyde ilginin nedeni seleksiyon kuşakları boyunca ıslah popülasyonları geliştirilirken haritalama sonuçları da eş zamanlı olarak elde edilebilir. Tersine, haritalama popülasyonlarından ilgili materyalin seleksiyon sistemi boyunca ilerlemesinin ilk aşamasından sonra sonuçlar alınmaktadır.

7. EST Veritabanlarına Erişim

Gelecek iki yıldan itibaren 150.000 civarında arpa EST'sinin genel kullanıma hazır olacağı tahmin edilmektedir (Kamusal Buğday ve Arpa Genomları Programı, Dundee Çalıştayı, Mayıs 2000). Bundan 1000 tane yeni SSR sağlanacağı beklenmektedir ve ayrıca arpa için SNP işaretleyicilerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır. Bu çalışmanın etkisi haritalar üzerindeki işaretleyicilerin yoğunluğunu arttıracak ve işaretleyici-esaslı taramanın maliyetini de aşağı çekmeye yardımcı olacaktır. Ayrıca haritalanma esaslı klonlamanın arpa ıslahçıları için daha erişilebilir olacağı tahmin edilmektedir, böylece teşhis işaretleyicilerinin geliştirilmesi veya arpanın genetik dönüşümüne uygulanabilecek oldukça geniş oranda genlerin yalıtımını göreceğimizi bekleyebiliriz.

8. Transgenlerin Islah Programlarına Bütünleştirilmesi

MAS, transgenik bitkilerin geliştirilmesinden sonra transgenlerin seçilmesi ve izlenmesinde hayli önemli olmaktadır. Maltlık arpa söz konusu olduğunda, bira endüstrisinin transgenik çeşitleri kabul etmekteki endişeleri bu teknolojinin uygulanmasını sınırlayacaktır. Bununla birlikte, bir ıslah programının döngüsü süresince, gelecek on ve yirmi yılda kamu eğiliminde bir değişiklik olabileceğini tahmin etmek zordur. Böylece, ıslah yöntemlerinin planlanmasında genetik dönüşümün dahil edilmesi önemlidir. Beklenti, birçok genin genetik mühendisliği yoluyla dönüştürülmesinin yapılabileceği şeklindedir. Islah programları boyunca transgenlerin hızlı aktarımı ve yasal zorunlulukların karşılaması için, onların sıkı bir şekilde izlenmesi gerekecektir. Bu izlenmesi gereken fazla sayıda lokus üzerine etki yapacak ve ıslah stratejilerini zorunlu kılacak ki böylece ıslah hedefleri ve MAS'in diğer konuları ilgili transgen izlemesi etkili bir şekilde bütünleştirilecektir. Genetik mühendisliğin yemlik arpa geliştirilmesine uygulanması muhtemelen toplum tarafından daha kolay kabul edilebilir, fakat bu yöntemin ıslah programlarına etkili bir şekilde uygulamasını etkileyen unsurlar aynıdır.

Özellikler	Lokuslar	Kromo-zomdaki yerleri	İşaretleyici tipleri	Problar	Kaynaklar
Malt özütü	QTL	5H	RFLP	ABG463	NBMMP
Fermente olabilme	Bmy1	4H	Isozyme		Eglington, J.K. ve ark. (1998) J. Cereal Science 28:301
Proantosiyanidin	Ant28	3HL	RAPD	p324	Garvin, D.F. ve ark. (1998) Crop Science 38:1250
Boy	Denso	3HL	RFLP	PSR170	Laurie ve ark. (1993) Plant Breeding 111:198
Bor toleransı	QTL	2H	RFLP	CDO370 WG996	Jefferies S.P. (1999) TAG 98:1293
Bor toleransı	QTL	3H	RFLP	WG405	Jefferies S.P. (1999) TAG 98:1293
Bor toleransı	QTL	4H	RFLP	WG114	Jefferies S.P. (1999) TAG 98:1293
Bor toleransı	QTL	6H			Jefferies S.P. (1999) TAG 98:1293
Manganez etkinliği	Mell	4HS	RFLP	ABG714	-
Tahıl kist nematod dayanıklılığı	Ha2	2H	RFLP	AWBMA21	Kretschmer J. V. ve ark. (1997) TAG 94:1060
Tahıl kist nematod dayanıklılığı	Ha4	5H	RFLP	Xyl	Barr A., ve ark. (1998) Plant Breeding 117:185
Yaprak lekesi	Rrs14	3H	AFLP		NBMMP basılmamış
Ağ beneklilik nokta formu	Rpt4	7H	RFLP	Xpsr-117(D) Xcdo673	Williams ve ark. (1999) TAG 99:323
Külleme	Mlo	4H	PCR		NBMMP basılmamış
Arpa cücelik virüsü	Ryd2	3H	PCR	YLM	Paltridge N.G. ve ark. TAG 96:1170
Buğday Rus afidi		1H	PCR	Hor2	Neito-Lopez ve Blake, (1994) Crop Science 34:655-659
Buğday Rus afidi		2H	PCR	ABG8	Neito-Lopez ve Blake, (1994) Crop Science 34:655-659
Kahverengi pas	RphQ	5HS	RAPD		Poulsen ve ark. (1995) TAG 91:270

Bu yayın A.R. Barr ve ark. (2000)'nın "Marker Assisted Selection in Theory and Practice" adlı eserinden çevrilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abbott, D.C., Burdon, J.J., Jarosz, A.M., Brown, A.D.H., Muller, W.J. and B.J. Read (1991). Aust. J. Agric. Res. 42, 801-809.
- Barr A., et al. (1998). Plant Breeding 117:185
- Beckmann, J.S. and M. Soller (1986). Pl. Mol. Celi Biol.3:197-250.
- Berloo (1999). Genetics 328-329.
- Buschges et al (1997). Celi. 88, 693-705.
- Collins, H.M, Logue, S.J, Jefferies, S.P., Stuart I.M., and A.R. Barr (1999). Proc. 9* Australian Barley Technical Symposium, Melbourne, Aust. Pg2.44.1-2.44.6.
- Coventr, S, Barr, A.R., Jeffereies, S.P., Chalmers, K., Logue S.J, and P. Langridge (1999). Proc. 9th Australian Barley Technical Symposium, Melbourne, Aust. Pg3.16.1-3.16.5.
- Eglinton, J.K., Langridge, P., and D.E. Evans (1998). J. Cereal Sci. 28, 301-309.
- Ellis, R.P., Forster, B.P., Waugh, R., Bonar, N., Handley, L.L., Robinson, D., Gordon, D.C., and W. Povvell (1997). New Phytol. 137,149-157.
- Elsner T I., Albertson H., Gerken S C, Cartwright P., White R., (1995). Am. Hum. J. Genet. 56, 500-507.
- Frisch M., Bohn M. and A.e. Melchinger (1999). Crop Science, 39,1295-1301.
- Forster, B.P. Russell, J.R., Ellis, R.P., Handley, L.L., Robinson, D., Hackett, C.A., Nevo, E., Waugh, R., Gordon, D.C., Keith, R. and W. Povvell (1997). New Phytologist. 137 (1), 141-147.
- Garvin, D.F., Miller-Garvin, J.E., Viccars, E.A., Jacobsen, J.V., and A.H.D. Brovvn (1998). Crop Sci. 38, 1250-1255.
- Graner A., (1996). Proc. 7th Int. Barley Gen. Symp., Saskatoon, Canada. Invited Papers pl57-166.
- Han, F., Romagosa, I., Ullrich, S.E., Jones, B.L., Hayes, P.M., and D.M. Wesenberg (1997). Mol. Br. 3,427-437.
- Hayes et al. (1993). Theor. Appl. Gen. 87, 392-401.
- Hayes et al. (1997). J. Quant. Trait Loci. 3,2 <http://probe.nalusda.gov:8Q0/otherdocs/iqtl>.
- Hayes, P.M., T. Toojinda and H. Vivar (1999). Proc. Aust. Pl. Br. Conf., Adelaide, South Australia. pg 64-66.
- Henry, R.J., Weining, S. and P.A. Inkerman (1996). Proc. 7th Int. Barley Gen. Symp., Saskatoon, Canada. Invited Papers pl67-173.

- Hospital, F. and A. Charcosse (1992). *Genetics* 1469-1485.
- Jefferies S.P. et al. (1999). *Theor. Appl. Gen.* 98,1293
- Jones N., Ougham H., and H. Thomas (1997). *New Phytol.* 137,165-177.
- Kretschmer J, et al. (1997). *Theor. Appl. Gen.* 94, 1060.
- Lande and Thompson (1990). *Genetics.* 124, 743-756.
- Langridge, P., Lance, R., and A.R. Barr (1996). *Proc. 7th Int. Barley Gen. Symp., Saskatoon, Canada. Invited Papers* 141-149.
- Laurie et al. (1993). *Plant Breeding* 111, 198
- Macauley, M., Ramsay, L., Powell, W., and R. Waugh (in press).
- Mather et al (1997). *Crop Sci.* 37,544-554.
- Melchinger, A.E., Graner, A., Singh, M., and M. Messmer (1994). *Crop Sci.* 34,1191-1199.
- Melchinger, A.E., Utz, H.F., and C.C. Schon (1998). *Genetics.* 149, 383-403.
- Moseman, J.G., Nevo, E., and D. Zohary (1983). *Crop Science* 23,1115-19.
- Neito-Lopez and Blake, (1994). *Crop Sci.* 34, 655-659.
- Openshaw, S.J., Jarbe, S.G., and W.D. Bevis (1994). in: *Analysis of Molecular Data, A. Soc. Hort Sci&CSAA*,p41-43.
- Paltridge, N.G., Collins, N.C., Bendahmane, A., and R.H. Symons (1998). *Theor. Appl. Gen.* 1170-1177.
- Paull, J.G., Chalmers, K.J., Karakousis, A., Kretschmer, J.M., Manning S., and P. Langridge (1998). *Theor. Appl. Gen.* 96,435-446.
- Poulsen et al., (1995). *Theor. Appl. Gen.* 91, 270.
- Powell et al. (1996). *Proc. 7th Int. Barley Gen. Symp., Saskatoon, Canada.*
- Rusmusson, D.C. and R.L. Phillips (1997). *Crop Sci.* 37, 303-310.
- Russell, J.R. et al. (1997). *Theor. Appl. Gen.* 82,537-544.
- Stam, P. and A.C. Zeven (1981). *Euphytica* 30, 227-238.
- Tanksley, S.D. and J.C. Nelson (1996). *Theor. Appl. Genet.* 92, 191-203. Thomas, W.T.B. et al. (1995). *Theor. Appl. Gen.* 91, 1037-1047.
- Toojinda T., Baird E., Booth A., Broes L., Hayes P., Powell W., Thomas W., Vivar H. And G. Young (1998). *Theor. Appl. Genet.* 96, 123-131.
- Ullrich, S.E., Han, F., and B.L. Jones (1997). *ASBC* 55 (1), 1-4.