



## Bitki Doku Kültürü Çalışmalarında Somaklonal Varyasyon

Yeşim KORKMAZ<sup>\*</sup>

Hatice ÇÖLGEÇEN<sup>2</sup>

Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Zonguldak

Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Zonguldak

Sorumlu Yazar:

E-posta: ysmkorkmazfb@hotmail.com

Geliş Tarihi

: 13 Kasım 2012

Kabul Tarihi

: 28 Aralık 2012

### Özet

Hücre veya dokulardan rejeneren tüm bitkilerin ebeveyn bitkiyle aynı özellikte olması beklenirken, bitki rejenerasyon süreci hücrelerin genetik stabilitealarının bozulması ve genetik varyasyon oluşumu için bir etkidir. Kültüre alınan hücrelerde kendiliğinden ortaya çıkan genetik çeşitlilik somaklonal varyasyondur. Somaklonal varyasyon önceden tahmin edilemeyen kalıtsal değişikliklerdir. Somaklonal varyasyon bitki ıslahında doğal varyasyonun daraldığı veya varyasyon meydana getirmenin zor olduğu durumlarda avantajlı olup, yeni bir kaynak olarak görülmektedir. Somaklonal varyasyon, dayanıklı yeni türlerin ortaya çıkarılmasında, çeşitli ekonomik bitkilerin ticari veriminin değerlendirilmesinde önemli bir kaynak, gelecek vaat eden yeni bir uygulama alanıdır.

**Anahtar Kelimeler:** bitki doku kültürü, somaklonal varyasyon

## Somaclonal Variation in Plant Tissue Culture Studies

### Abstract

It has been assumed that all the plants regenerate from cells or tissues that are identical with the mother plant. Although plant regeneration process is a factor that exchanges the genetic stability and genetic variation, in the culture genetic diversity is called somaclonal variation. Somaclonal variation is unforeseeable heredity changes. Somaclonal variation is a new source of when natural variation has narrowed or when it became difficult to turn out a new variation. It has been recorded that using somaclonal variation is an important and promising source to discover enduring new species and to realise the value of commercial efficiency of some economic plant species.

**Key Words:** plant tissue culture, somaclonal variation

## GİRİŞ

Somatik hücrelerin *in vitro* rejenerasyonu mitotik bölünme ile gerçekleşir ve bu eşeysiz bir üremedir. Klonal çoğaltım amacı ile kullanılan *in vitro* teknikler mikroçoğaltım teknikleri olarak da ifade edilir. Ancak, bu tekniklerde beklenmeyen ve kontrol edilemeyen varyasyonlar da ortaya çıkmaktadır. Bu tür varyasyonlar doğal olarak meydana gelmektedir. Bunlar ya hücrelerdeki genetik değişimler ya da hücre ve dokulardaki geçici değişimler olarak ifade edilmektedir. Mikroçoğaltım amacı ile yürütülen çalışmalarda varyasyonlar istenmez. Bu nedenle mikroçoğaltımda en güvenilir doku kültürü tekniklerinin kullanılması büyük önem taşımaktadır. Fakat yine de hangi teknik kullanılırsa kullanılsın, mikroçoğaltım boyunca genetik değişimin ortaya çıkma olasılığı her zaman bulunmaktadır. Kültüre alınan hücrelerde çok yaygın olarak görülen ve mikroçoğaltımda istenmeyen bu fenotipik ve genotipik varyasyonlar bitki ıslahında büyük önem taşımaktadır. Bitki ıslahında doğal varyasyonun daraldığı veya varyasyon meydana getirmenin zor olduğu durumlarda avantajlı olarak değerlendirilen bu varyasyon, yeni bir kaynak olarak görülmektedir ve doku kültürlerinde ortaya çıkan bu kalıtsal değişikliklerin tümü 'somaklonal varyasyon' olarak tanımlanmaktadır [9]. Somaklonal

varyasyon 1981 yılında doku kültüründen rejeneren olan şeker kamışı bitkilerinin incelenmesiyle Larkin ve Scowcroft tarafından tanımlanmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### *In vitro* Doğal Varyasyonlar

Doku kültüründe protoplastlardan gelişen bitkiler 'protoklon', kallustan rejeneren klonlar 'kalliklon' olarak isimlendirilmiştir. Daha sonra somatik hücrelerden herhangi bir doku kültürü tekniği ile elde edilen tüm bitkiler 'somaklon' sözcüğü ile ifade edilmeye başlanmıştır [9]. Buna göre protoplasttan gelişen bitkilerdeki varyasyona 'protoklonal varyasyon', anter kültüründen elde edilen bitkilerde gözlenen varyasyona 'gametoklonal varyasyon' denilmektedir. Fakat genel olarak hepsi için 'somaklonal varyasyon' sözcüğü de kullanılmaktadır. Bu nedenle somaklonal varyasyon doku kültürlerinde ortaya çıkan kalıtsal değişiklikler olarak tanımlanır. Doku kültürlerinde kalıtsal olmayan değişiklikler de görülmektedir. Bunlar 'epigenetik varyasyonlar' olarak adlandırılmaktadır [9], [10]. Kültüre alınan hücre ve dokular ile rejeneren bitkilerde sık sık stabil olmayan değişimlere de rastlanmaktadır. Bu değişimlerin nedenleri tam olarak bilinmemekle birlikte mutasyon, gen

amplifikasyonu gibi nedenlerle meydana geldiği belirtilmektedir. Genetik materyaldeki bu stabil olmayan bazı değişimler eşeysel melezlemelerle döllere aktarılabilmektedir [9]. Gametlerin eşeysel yollarla birleşmesi olmadan hücrede bir değişim olursa mutasyona uğradığı belirtilmektedir. Mutasyonlar, karyotipteki değişimler ile kromozom sayısı veya yapısındaki değişimlerle veya bir ya da daha fazla genin pozisyonundaki değişimlerle ortaya çıkabilir. Canlı organizmalarda bu yolla oluşabilecek spontan mutasyonlar gibi *in vitro* kültür boyunca da bir takım mutasyonlar meydana gelmektedir. Bu mutasyonların bazıları bitki ıslahı için yararlı olabilir ve bunlardan ıslah programlarında yararlanılmaktadır.

Somaklonal varyasyonlar ile klasik yapay mutasyonların sebep olduğu varyasyonlar arasındaki farklar aşağıdaki şekilde özetlenebilir [9].

1. Somaklonal mutasyonların frekansı kimyasal ve fiziksel mutagen uygulamalarıyla elde edilen mutasyonlardan daha yüksektir.

2. Haploid bitki kültürlerinden elde edilen mutant hücrelerde hem dominant hem de resesif mutasyonlar hemen görülebilmekte ve homozigot mutant bitkiler elde edilebilmektedir.

3. Somaklonal varyasyonun hücre düzeyinde seleksiyonu da başka bir avantajdır. Örneğin, tütünde kültür ortamına tuz ilave edilerek bu koşullarda yaşama yeteneği iyi olan tuza toleranslı hücrelerden bitkiler rejenera edilmiştir. Diğer taraftan mutantların *in vitro*'da seleksiyonu *in vivo*'ya göre bazı üstünlüklere sahiptir.

1. *İn vitro*'da seleksiyon bütün bir yıl boyunca yapılabilir.

2. Deneme ortamı devamlı olarak kontrol altında tutulabilir.

3. Tarla ya da sera şartları için söz konusu olan bazı riskler *in vitro*'da yoktur. *in vitro* çalışmalar daha kısa sürede yapılabilmektedir.

*İn vitro* seleksiyonun bu üstünlüklerinin yanı sıra, kültüre alınan hücrelerden bitki rejenerasyonu frekansının düşük olması ve özellikle kültürde belirlenen ekstrem koşullara toleransın hücre ve bitki düzeyinde farklı olması da dezavantajlarıdır [1].

### Somaklonal ve Epigenetik Varyasyon

Somaklonal varyasyonlar gibi epigenetik yani çevre etkisi ile ortaya çıkan varyasyonlar da olmaktadır. Bunlar da genlerdeki değişikliğin bir sonucudur, ancak kalıtsal değildir. Epigenetik ve somaklonal varyasyon arasındaki farklar aşağıda verilmiştir [8]:

Somaklonal varyasyon kalıtsaldır, epigenetik varyasyon ise döle aktarılamaz.

Bitki yaşamı boyunca epigenetik varyasyon tersine dönebilir, somaklonal varyasyon tersine çevrelemez.

Somaklonal varyasyon, çoğunlukla adventif meristemlerden meydana gelen bitkilerde görülürken, epigenetik varyasyon bu bitkilerde ve apikal/aksiler meristemlerden meydana gelen bitkilerde gözlenebilir.

Epigenetik varyasyon önceden tahmin edilebilir, oysa somaklonal varyasyon bilinemez.

### Doku Kültürü Tekniklerinin Varyasyona Etkileri

Mikroçoğaltımda ortaya çıkan genetik değişikliklerden sakınmanın en güvenilir yöntemleri direkt sürgün oluşumu, direkt embriyogenesis, boğum ve sürgün kültürleridir. Sürgün kültürlerinde görülen varyasyonlar muhtemelen ansızın oluşan mutasyonlardır. Görülen çoğu değişiklikler geçici özelliktedir. Bunların genotipten mi

yoksa epigenetik mi olduğu dikkatli bir analiz yapılmadan belirlenemez. Sürgün kültürlerinden elde edilen ve genetik açıdan farklı bitkiler aksiller tomurcuktan ziyade, taban kallusundaki rastgele tomurcuklardan gelişen sürgün oluşumuna bağlı olmaktadır [9].

Hücrelerin totipotent olması nedeniyle somatik hücrelerden bitki rejenerasyonu ortaya çıkmaktadır. Bu yetenekteki bir hücre, farklılaşmamış bir hücre yığını meydana getirip sonra tekrar farklılaşarak tam organizasyonlu bireyleri meydana getirmektedir. Böyle bir yöntemde varyasyon meydana gelir ve varyasyonun derecesi doku kültürü tekniğine göre değişmektedir [9].

Fenotipik varyabilite tüm cinslerin hücre süspansiyon kültürlerinde ve kallus kültürlerinde yaygın olarak görülmektedir. Mutasyonlar, direkt organogenesis veya somatik embriyogenesisinde daha az görülmekte, kallus kültürlerinden elde edilen bitkilerde ise daha sık görülmektedir. Bu genetik değişimler genellikle kalıtsaldır [9]

### Kallus Kültürleri

Düzensiz kültürlerde somaklonal varyasyonun ortaya çıkma frekansı yüksektir. Yani genetik açıdan farklı bitkiler ortaya çıkmaktadır. Ama kallus ve süspansiyon kültürlerinden elde edilen tüm bitkilerin orijinal stok bitkiden genetik açıdan farklı olması da mümkün değildir. Bazı durumlarda bir kültür genetik yapısını muhafaza ederken, bazen sadece bir bölümü genetik açıdan değişik hücrelerden meydana gelmiş olabilir. Bitkinin genetik yapısının, onun doku kültürlerinden oluşan somaklonal varyasyonun derecesi üzerinde güçlü bir etkisi bulunmaktadır. Doku kültürü teknikleri ile orijinal ana bitkiden daha üstün bitkilerin elde edilebilmesi bitki ıslahı açısından çok büyük önem taşımaktadır [9].

### Rejenerasyon Metodu

Rejenera edilen bitkiler arasındaki genetiksel değişim derecesi kallustan veya süspansiyon kültürlerinden üretilme metodlarına bağlı olabilir. Hem dolaylı organogenesis hem de dolaylı somatik embriyogenesis yoluyla elde edilen bitkilerde varyasyon görülmekle beraber, dolaylı organogenesisle elde edilen bitkiler değişime daha yatkın bulunmuştur[9]. Gerek monokotil bitkilerin gerekse dikotil bitkilerin, somatik embriyolarından elde edilen bitkilerde somaklonal varyasyonlar gözlenmiştir. Somatik embriyogenesis ile görülen farklı somaklonal varyasyonun nedeni pek açık olmamakla birlikte, bu durumun embriyonik dokunun tipindeki farklılıktan kaynaklandığı üzerinde durulmaktadır. Genişlemiş vakuollü parankimatik hücrelerden kallus kültürlerinin karyolojik değişikliğe daha eğimli olduğu da belirtilmektedir [9].

### Yarı Düzenli Kültürler

Düzenli meristematik merkezleri içeren kültürler genetik açıdan normal bitkiler vermektedir. Sürgün kültürlerinde sürgünün tabanında şekillenen kallus çoğunlukla yarı düzenlidir ve varyasyona sebep olmaktadır [9].

### Somaklonal Varyasyonun Kökeni

Doku kültürlerinde genetik çeşitliliğin ana bitki hücreesindeki değişimlerden ve kültür boyunca karyotipteki değişimlerden kaynaklandığı belirtilmektedir. *İn vitro* kültür boyunca çeşitlilik meydana gelmesinden sorumlu 3 farklı dönemden söz edilir [9]

1. Kültür indüksiyonu (uyarımı) dönemi
2. Kültürün gelişme dönemi

### 3. Bitki rejenerasyon dönemi

#### Somaklona Varyasyonun Nedenleri

##### Hücre Organizasyonunun Etkisi

Çeşitli doku kültürü sistemlerinde kallus fazından sonra adventif meristemlerin formasyonu ile kültürde somaklona varyasyon gözlenmektedir. Burada, hücre organizasyonu kritik bir durum olarak ortaya çıkmakta ve düzensiz büyümeye bağlı olarak somaklona varyasyon beklenmektedir. Eğer düzensiz faz uzun sürerse somaklona varyasyon şansı daha yüksek olmaktadır ve böylece uzun bir fazdan sonra organize olan yapılarda daha büyük bir sapma görülmektedir. Oysa kültüre alınan bitki dokularından yapıların direkt oluşumu kararsızlık şansını en aza indirmektedir [10].

##### Doku Kaynağındaki Varyasyon

##### Donör bitki orijiniindeki değişimler

Somaklona varyasyon donör bitkide meydana gelen somatik mutasyonlardan ortaya çıkmaktadır. Bitkilerin vejetatif parçaları aynı genetik potansiyele sahip hücreleri içermektedir. Fakat bitkide farklı genetik yapıları hücreler de bulunabilmektedir. Böylece genetik olarak farklı hücreleri taşıyan stok bir bitkinin dokularından kültür başlatılırsa genetik olarak değişik bitkilerin elde edilmesi mümkündür. Bu şekilde genetik ve fizyolojik potansiyeli olan hücrelerin bileşimi 'kimera' olarak tanımlanmaktadır.

##### Eksplant kaynaklı varyasyon

Hücre normal bir mitoz bölünme geçirmezse, yani sitoplazma bölünmesi gerçekleşmeyip kromozomları aynı hücre içinde duplike olursa bu endoreduplikasyon olarak ifade edilmektedir. Böylece kromozom sayısı katlanmış hücreler ortaya çıkmaktadır. Böylece bir bitkinin somatik dokuları arasında farklı kromozom sayısına sahip hücrelerin varlığı polisomati olarak adlandırılmaktadır. Olgun bir bitkinin bazı kısımları diğerlerinden polisomatik olmaya daha duyarlıdır. Örneğin, meristemde ve sporofitik üretkenlikte olan dokularda genellikle polisomati meydana gelmez. Endopoliploidi, politeni ve DNA dizisinde eksilme gibi genomdaki büyük değişimler bitki büyüme ve gelişmesinde somatik farklılaşma boyunca meydana gelebilmektedir [10]. Bu farklı doku kaynaklarından rejenerasyona gidildiğinde somaklona varyasyonun doğasında ve frekansında farklılıklar meydana gelmesi beklenir. Kültüre alınan hücrelerdeki varyasyonun büyüklüğü kültürü başlatma için seçilen eksplantın doğasına göre değişmektedir. Ayrıca kültürde farklılaşmadan geri dönüş ve yeniden farklılaşma durumu genomdaki hem kalitatif hem de kantitatif değişimleri içerebilmektedir. Buradaki değişimler orijinal doku kaynağına ve rejenerasyon sistemine bağlı olmaktadır.

##### DNA Metilasyonu

DNA yüksek oranda metillendiğinde gen aktivitesi baskılanmaktadır. Metilasyondaki bir azalma gen aktivitesinin artması ile ilişkilidir. Değişen metilasyon durumunun genetik varyasyona sebep olmasından sorumlu olarak *in vitro* da doğal olmayan koşullar nedeniyle hücrenin fizyolojisini karıştıran bir stres veya şok geçirmesi gösterilmiştir. Genetik varyasyonların meydana gelmesi türler için değişmekte ve kullanılan kültür metodundan çok fazla etkilenmektedir [9].

##### Nükleik Asit Öncüllerinin Kaybı

Çoğu doku kültürlerinde meydana gelen hızlı nükleik asit biyosentezi için gerekli öncüllerin eksikliğinin, bazı

mutasyonların ortaya çıkmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle genellikle adenin bazı, bitki doku kültürü ortamına ilave edilir.

##### *In vitro* Hücre Bölünmesindeki Anormallikler

Aktif olarak bölünen meristematik hücrelerin kültür sırasında çoğunlukla stabil kalmasına karşın, geniş vakuole sahip hücrelerde değişimler meydana gelmektedir. Parankimatik dokularda değişik ploidi düzeylerine sahip hücreler bulunmaktadır. Kültürde poliploid hücrelerin meydana gelmesinin nedeni mitoz boyunca iğ ipliği oluşumunun başarısızlığı veya olağan iki kutuplu iğ iplikleri yerine anormal çok kutuplu iğlerin meydana gelmesidir. Diğer bir neden de hücre bölünmesinin interfazın G2 alt evresinde geçici olarak durması ve sonra normal mitoz olmadan hücrenin tekrar G1 'de hücre döngüsüne girmesi olarak ifade edilmektedir.

Anöploid hücrelerin oluşmasına ise çekirdek bölünmesi boyunca meydana gelen bazı hatalar sebep olmaktadır. Kromozom sayısındaki değişimlerin dışında, kromozomlarda yapısal değişimler de meydana gelebilir. Translokasyonlar, delesyon, disentrik veya trisentrik kromozomlar ortaya çıkabilir [9].

Sitolojik çalışmalar hücre bölünmesindeki anormalliklerin çok kutuplu iğ ipliklerinin oluşumu, köprü ve fragmentler, mikronukleuslar ve kromozom fragmentlerinin meydana gelmesi ile ortaya çıkabileceğini göstermiştir. Bu hatalar rejenerasyon olan bitkilerde sayısal ve yapısal kromozom değişimlerine yol açmaktadır. Somaklona varyasyonun nedenlerinden birisi de *in vitro* 'da hücre döngüsünün kontrolünün yetersiz olmasıdır [10].

Protoplast kültürlerinde somaklona varyasyonun sık görülmesinin nedenleri arasında protoplast izolasyonu ile hücre duvarının uzaklaştırılması, kültür sonrası yeni hücre duvarının sentezlenmesi ve daha sonra hücre bölünmesinin başlatılması gibi çeşitli faaliyetler sayılabilir. Sitolojik çalışmalar protoplast kültürü boyunca iğ ipliği oluşumu ve düzenlenmesinde, kromatidlerin ayrılmasında yüksek frekansta hataların meydana geldiği ve bu nedenle kromozom sayısı ve yapısında geniş bir varyasyon ortaya çıktığını göstermiştir [10].

##### Bitki Büyüme Düzenleyicilerin Önemi

Hücre döngüsü üzerine bitki büyüme düzenleyicilerinin etkili olduğu ve bunun somaklona varyasyona neden olduğu bilinmektedir. Oksin ve sitokin grubu büyüme düzenleyicilerinin nispi düzeyleri ile hücre popülasyonunun genetik kompozisyonunun etkilendiği belirtilmektedir [9],[10].

##### Kültür Ortamının Bileşimi

Kültür ortamının bileşimi kültürdeki hücrelerin ploidi düzeyini, bu durumda farklı kromozom sayısına sahip hücrelerin nispi oranlarını etkileyebilmektedir. Örneğin; Pisum'un kök parçaları basit bir ortamda kültüre alındığında hücrelerin tümü diploid iken, ortamda maya ekstraktı, Hindistan cevizi sütü veya kinetin bulunması hücre bölünme oranını artırmış ve bölünen hücrelerin diploid, tetraploid ve oktoploid dokuları oluşmasına neden olmuştur [9].

##### Kültür Koşulları

Kültürlerin inkübe edildiği sıcaklık mutasyon oranını etkileyebilir. Örneğin; 35°C' de inkübe edilen tütün kallusu diploid iken, 25°C' de kültüre alınan aynı doku belirgin olarak karyolojik kararsızlık göstermiş ve tetraploid bulunmuştur [9].

Reduplike olmayan bitki dokuları eksplant olarak kullanıldığında stok bitki ile aynı ploidi düzeyinde olan bitkiler üretilmektedir. Diploid türlerde özellikle az kromozom sayısına sahip olanların alt kültürlerinde orijinal kromozom sayısı korunmuş olmakla birlikte düşük oranda da olsa karyotipik değişmelerin meydana gelmesi olasıdır. Sık sık yapılan alt kültürler kromozom sayısının korunmasında etkili olmuştur [9].

#### Stres

Bitkiler çevre stresine maruz bırakıldığı zaman 'genom şoku' ile hızlı evrimsel değişmelerin meydana gelebileceği savunulmuş ve doku kültürü ile de bir stres şekli olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle doku kültürlerinde de genomik değişmelerin meydana gelebileceği vurgulanmıştır [8].

#### Somaklonal Varyasyonun Belirlenmesi

Somaklonal varyasyon; fenotipik, sitolojik ve moleküler düzeyde incelemeler ile belirlenebilmektedir.

Somaklonal varyasyonun büyüklüğü genellikle bir veya daha fazla kalitatif sapmalar gösteren bitkilerin oranı olarak belirlenmektedir. Kantitatif özelliklere ait verilerin kontrole göre geniş sınırları ve somaklonal popülasyonda belli bir özellik için standart sapma değeri ve somaklonal varyasyonun büyüklüğünü belirlemektedir.

Kromozom sayısı varyasyonunda mitotik hücrelerdeki kromozomların sayılması, her hücrenin DNA içeriğinin ölçülmesi, stoma bekçi hücrelerindeki kloroplast sayılarının tespiti veya stoma boyunun ölçülmesiyle belirlenmektedir. Kromozom sayısı değişimleri doku kültürlerinde ve doku kültürlerinden rejeneren bitkilerde en erken gözlenen genetik değişimlerdir. Kromozom sayısı belirlemeleri ile genotip, ortam bileşimi, doku tipi ve kültür uzunluğunun etkileri üzerinde kallus dokularında ve rejeneren olan bitkilerde somaklonal varyasyonun derecesi üzerinde çalışmalar bulunmaktadır. [6], haploid tütün bitkilerinin somatik dokularının in vitro kültürlerinde kallus fazından sonra elde edilen bitkiler arasında haploid, diploid ve aneuploid bitkileri belirlemiştir. Kromozom sayısı değişmiş bitkiler farklı bir fenotipe sahip oldukları gibi, bu bitkiler normal fenotipte de görülebilmektedir. Ayrıca normal kromozom sayılı bitkilerde de fenotipik değişiklikler gözlenebilmektedir.

#### Somaklonal Varyasyonun Belirlenmesinde Kullanılan Moleküler Teknikler

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism):

Restriksiyon endonükleazlarla DNA'nın farklı büyüklüklerdeki fragmanlara ayrılarak incelenmesine dayanmaktadır. Tek baz değişikliklerini ve farklı büyüklükteki minisatellitleri belirleyebilen bir tekniktir. Genotipleme, polimorfizm çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.

#### AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

RFLP ve PCR metodunun bir kombinasyonudur. Genomun bütününde DNA polimorfizmini tespit için kullanılan bir markör sistemidir. Az sayıda bazdan meydana gelen adaptör oligonükleotitler ve spesifik restriksiyon enzimleriyle oluşturulan genomik restriksiyon fragmentlerin PCR ile çoğaltılması prensibine dayanır. Bu teknik, sekans bilgisine ihtiyaç duyulmadan herhangi bir kaynağa ait DNA'dan parmakizi oluşturmada kullanılır.

#### RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

RAPD yöntemi, sekans bilgisine gereksinim duymayan ve DNA'yı baz alan modifiye bir PCR tekniğidir. RAPD,

genomda herhangi bir nükleotit dizisinin karşılıklı zincirde ters yönde bulunabilme ihtimalini temel alır. Bu yöntemde genomik bölgelerin amplifikasyonu için tek bir primer kullanılır. Yöntemde spesifik bir DNA bölgesi değil, genom üzerinde birçok DNA lokusu aynı anda çoğaltılabilir ve çalışılan organizmalar oluşturdukları bant modellerine göre ayırt edilirler. RAPD özellikle akraba organizmalar arasındaki DNA dizi farklılığının ortaya çıkarılmasında yaygın olarak kullanılır.

#### SSR (Simple Sequence Repeats)

Canlı genomunda çok sıklıkla tekrarlanan DNA dizileri belli sayılarda tekrarlanır. Dizilerin genomun neresinde bulunduğu ve kaç defa tekrarlandığı türden türe farklılık gösterir. Aynı tür içindeki fertler arasında da bu dizilerin bulunup bulunmamasına dayalı olarak SSR tekniği geliştirilmiştir.

#### SCAR (Sequence Characterised Amplified Region)

Bu markör sistemi genellikle RAPD veya AFLP metodlarıyla çoğaltılmış tek bir ampikonun primer uzunluğunu yaklaşık ikiye katlayarak yeniden çoğaltılmasına dayanır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

#### Somaklonal Varyasyondan Yararlanma

Bitki ıslahında gerekli iki temel konu uygun genetik varyasyonun varlığı ve etkili bir seleksiyon yönteminin olmasıdır. Tür içinde yararlı varyasyon olmadığı zaman yabancı ve akraba olmayan türler ve mutasyon teknikleri genetik varyasyonu genişletmek için kullanılmaktadır.

#### Somaklonal varyasyonun avantajları

1. Hızlı bir varyasyon kaynağı olarak elverişlidir  
2. Bazı değişimler yüksek frekanslarda meydana gelebilir.

3. Agronomik özellikler değişebilir.

4. Bazı değişimler homozigottur.

5. Yeni varyantlar ortaya çıkabilmektedir.

6. Yeni varyeteler üretilebilmektedir.

Somaklonal varyasyon bitki ıslahı açısından yeni bir varyasyon kaynağıdır. Ancak bu varyabilite kaynağının avantajlarının yanı sıra uygulamasında bir takım problemler de vardır [10]. Bunlar:

1. Varyasyon çeşide bağlıdır.

2. Değişim frekansı çok farklıdır.

3. Çoğu değişimler istenmeyen değişimlerdir.

4. Bazı değişimler kararsızdır.

5. Çoğu değişimler yeni değildir.

6. İstenilen karakterler değişmeyebilir.

7. İstenilen karakter elverişsiz tarla performansları ile birlikte bulunabilir.

8. Varyantları tanımlamak için elverişli markörlerin kaybı söz konusu olabilir.

9. Varyantların yasal bir düzenlemesi yoktur.

Somaklonal varyasyonun arzu edilmeyen yönlerinin daha fazla olduğu görüşü de bulunmaktadır [8]:

1-Çeşitli süs bitkilerinin mikro üretiminde (orkide, anteryum, zambak ve Afrika menekşesinin bazı kısımlarında) somaklonal varyasyon nedeniyle sapmalar görülmektedir. Bu nedenle somaklonal varyasyon mikro üretimde büyük kayıplara neden olmaktadır.

2-Bitki biyoteknolojisinde bitki ıslahı teknikleri somatik hücrelerden rejenerasyona dayanmaktadır. Bu tür bitkiler mutlaka somaklonal varyasyonun etkisi altındadır.

Ancak istenmeyen mutantlar ayrılarak uzaklaştırılabilir. Fakat bu çok yıllık bitkilerde pek mümkün olmamaktadır.

3-Bazı istenmeyen mutasyonlar hemen tanınamayacak ve bu yüzden böylesi mutantlar uzaklaştırılmayacaktır. Örneğin; yağ palmiyeleri tarlada bir kaç yıl kaldıktan sonra anormallikler göstermiştir.

4-Somaklonal varyasyon, hücre kültürlerinde sekonder metabolit üretimini de etkilemektedir.

## SONUÇLAR

Somaklonal varyasyonun kontrolsüz ve tesadüfi olması sınırlayıcı bir faktördür. Somaklonal varyasyon bitki doku kültürlerinde ortaya çıkan önemli bir kaynaktır. Şimdiye kadar somaklonlardan elde edilen yeni çeşitlerin sayısı oldukça sınırlıdır. Somaklonal varyasyonun varlığı ve belirlenmesi, kültürde asıl üretilecek materyalin stabilitesi açısından çok önemlidir. Çeşitli süs bitkilerinin mikro üretiminde somaklonal varyasyon sapmalara sebep olur. Somaklonal varyasyon, dayanıklı yeni ürünlerin ortaya çıkarılmasında, çeşitli ekonomik bitkilerin ticari veriminin değerlendirilmesinde önemli bir nokta, gelecek vaat eden yeni bir uygulama alanıdır.

## KAYNAKLAR

- [1] Bürün, B. (1996).Doku Kültürü ve Bitki Islahı. Hasad, 133:35-36.
- [2] Emiroğlu, Ü. ve Gürel, A. (1993). Bitki ıslahında modern biyoteknoloji. The Biotechnology Revolution Short Course, February 8-12, s.94-125, Bornova, İzmir.
- [3] Kaeppeler, S.M., Kaeppeler, H., ve Rhee, Y. (2000). Epigenetic aspect of somaclonal variation in plants. Plant Molecular Biology. 43:179-188.
- [4] Chatterjee, B., Gupta, P. (1997). Induction of somaclonal variation by tissue culture and cytogenetic analysis in *Oryza sativa* L. Biologia Plantarum Vol. 1 ss. 25-32.
- [6] Bürün, B. (1998). Tütünde somatik dokuların in vitro kültürleri ve bitkilerin ploidi düzeyi. XIV. Ulusal Biyoloji Kongresi, 7-10 Eylül, Cilt III, s.403-412, Samsun.
- [7] Cai, T., Ejeta, G., Axtell, J.D., Butler, L.G. (1990). Somaclonal variation in high tannin sorghums. Theor. Appl. Genet., 79:737-747.
- [8] De Klerk, G.J. (1990). How to measure somaclonal variation. Acta bot. Neerl, 39(2):129-144.
- [9] George, E.F. (1993). Plant Propagation by Tissue Culture, Part I, The Technology, Exegetics Ltd., England.
- [10] Karp, A. (1994). Origins, causes and uses of variation in plant tissue cultures. In: Vasil IK, Thorpe TA (eds), Plant Cell and Tissue Culture, pp.139-151, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- [11] Lewis-Smith, A.C., Chamberlain, M., Smith, S.M. (1990). Genetic and chromosomal variation in *Petunia hybrida* plants regenerated from protoplast and callus cultures. Biol. Plant., 32(4):247-255.