

Çay Bitkilerinin Islahı ve Genetik Gelişimi

Bireysel Seçimden, Hibridizasyon ve Moleküler Islaha Kadar Çin'deki Çay (*Camellia sinensis*) Bitkilerinin Islahı ve Genetik Gelişimi

Liang Chen , Zhi-Xiu Zhou , Ya-Jun Yang

Çin Tarım Bilimleri Akademisi, Çay Araştırma Enstitüsü, Çay Germplazmı, Genetik Geliştirme ve Moleküler Biyoloji Laboratuvarı

Euphytica (2007) 154:239-248 DOI 10.1007/s10681-006-9292-3

Özet

Çay, Çin dahil dünyadaki çay üreticisi ülkeler için önemli bir gelir kaynağıdır. Çin, dünyada ki en geniş genetik farklılıklara sahip çay bitkilerinin orijin alanıdır. Ayrıca, 200'den fazla ıslah edilmiş melez varyeteye sahiptir. Islah edilmiş varyeteler, çay endüstrisine önemli katkılar yapmıştır. Bu makalede; çay ıslah sisteminin geliştirilmesi ve yerleştirilmesi, çay germplazmalarının toplanması, korunması, ekspertizi ve değerlendirilmesinin güncel durumu ile çayın genetik gelişimi ve ıslahında elde edilen başarılar yeniden gözden geçirilmiştir. Çin'de yakın bir gelecekte çay bitki ıslahı ve kalıtsallığı için önerilmiş başlıca araştırmalara da vurgu yapılmıştır.

Kısaltmalar

AFLP : Çoğaltılmış parça uzunluk polimorfizmi

ALPs : Amplikon uzunluk polimorfizmi

CAPS : Bölünerek çoğaltılmış polimorfik dizi

EST : Etiketlenerek ifade edilmiş dizi

ISSR : Basit sekans tekrarlamaları arası polimorfizm

RAPD : Rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA

RFLP : Restriksiyon fragmenti uzunluk polimorfizmi

SSR : Basit dizi tekrarı

Takdim

Çay, dünyada ki çay üreticisi ülkeler için çok önemli bir gelir kaynağıdır. Örneğin; Çay, Kenya'da gayri safi yurt içi hasılanın (GDP) %4'ü ve yıllık ihracat kazancına yaklaşık %26 katkı sağlar (Wachina ve Ronno, 2004). Sri Lanka'da ki toplam çay üretiminin yaklaşık %95'i ihraç edilmekte olup, 2003 yılında GDP'na yaklaşık %2,3 ve toplam döviz gelirine de yaklaşık %14 katkı sağlamıştır (Wijeratne, 2004). Çay endüstrisinin yıllık değeri Çin'de yaklaşık olarak 5 milyar dolara ulaştığı hesaplanmıştır. Ayrıca çay, çaya elverişli dağlık bölgelerde yüksek verimli anahtar bir tarımsal endüstridir. 2004'de 861.000 ton çay üreten Çin, 850.500 ton çay üreten Hindistan'ı geçmiştir, böylece dünyada bir kez daha I. Çay üreticisi ülke olmuştur (<http://faostat.fao.org>).

Tablo 1: 2005'de ilk 10 ülkenin çaylık alanı verimi ve ihracatı

Country\$	Acreage (ha)	Yield (t)	Of total production (%)	Exports in 2004 (t)	Of the world total export (%)
China	952,500	940,500	27.510	282,643	17.495
India	500,000	830,700	24.298	174,728	10.815
Sri Lanka	210,620	308,090	9.011	298,909	18.501
Kenya	140,000	295,000	8.629	284,309	17.598
Turkey	100,000	202,000	5.909	5,929	0.367
Indonesia	116,200	171,410	5.014	98,572	6.101
Viet Nam	104,000	110,000	3.218	99,400	6.152
Japan	49,000	100,000	2.925	923	0.057
Argentina	40,000	64,000	1.872	67,819	4.198
Bangladesh	54,000	55,627	1.627	10,635	0.658
Subtotal	2,266,320	3,077,327	90.013	1,323,867	81.942
Total in the world	2,561,001	3,418,777	100	1,615,610	100

Bir Çin atasözü derki: "bir tohum, tüm dünyayı değiştirebilir". Aynı şekilde geliştirilen çay varyeteleride, çay endüstrisinde kritik rol oynar. Çay bitkileri, Güney Çin'in Yunnan ili orijinlidir (Yu 1986; Hashimoto ve Takasi 1978). Çin'deki çay bitkileri, çay bitkilerinin kaynağındaki uzun süreli allogamy ve seleksiyonun mevcudiyetinden dolayı dünyadaki en geniş genetik varyasyonlara sahiptir (Chen et al. 2005a). Günümüze dek ülkede 200'den fazla geliştirilen varyete tescil edilmiştir bu varyeteler Çin'de ki tüm çay endüstrisine önemli katkılar sağlamıştır. Bu makalede :

1. Çayın genetik gelişimi ve ıslahında elde edilen başarılar
2. Çay germplazlarının toplanması, korunması, ekspertizi ve değerlendirilmelerindeki güncel durum
3. Çay ıslah sisteminin gelişimi ve yerleştirilmesinin yeniden gözden geçirilmesi

Bireysel seçim (Seleksiyon) ıslahı

Hibridizasyon ıslahı

Mutasyon ıslahı

Islah için erken-evre ekspertiz tekniği

Seçime (seleksiyona) yardım eden moleküler markörler

Mikroçoğaltım

4. Çay kalıtım biliminin geleceği ve ıslahın temel araştırma noktaları

Çayın genetik gelişimi ve ıslahında elde edilen başarılar

2005 yılının sonlarında, Çin tescil edilmiş 97 ulusal varyeteye sahip olup aralarında 17 ırk, 80 klon vardır, bunlarında 30'u bölgeye adapte olmuş varyete ve 67'si ıslah edilmiş klondur (Tablo 2). Bunlar; çay deneme istasyonları, yerel tarımsal departmanlar, tarım üniversiteleri ile ulusal ve bölgesel çay araştırma enstitüleri de dahil 23 farklı araştırma kuruluşu tarafından ıslah edilmiştir. Bunlardan başka, taşrada tescil edilmiş yaklaşık 130 varyete arasında 16 ırk, 114 klon olup onlarında sırasıyla 29'u bölgeye adapte olmuş klon ve 101'i geliştirilmiş klondur. 2003-2004'de ülke genelindeki 3. ulusal adaptasyon denemeleri kapsamında 9 test istasyonunda yürütülmüş denemeler kapsamında halen 55

yeni klon mevcuttur. 4. Deneme, 2007–2008 ‘de tesis edilecektir. Plantasyonlardaki klonal çay artış yüzdesi 1980’lerin başında %10’dan daha az iken, 2005’de %26’ya kadar yükselmiştir (Yu 2005).

Tablo 2: Çin’de tescil edilmiş varyetelerin özet sunumu
(Çin çay varyeteleri derleme komitesi 2001; MOA Bülteni No.191, 2002)

Table 2 Brief introduction to the Chinese national registered cultivars (China Tea Varieties Compilation Committee 2001; MOA Bulletin No. 191, 2002)				Table 2 continued			
No.	Cultivars	Registered year	Breeding methods [†]	No.	Cultivars	Registered year	Breeding methods [†]
1	Fuding Dabaicha	1985	Landrace	49	Ningzhou 2	1987	Field clone
2	Fuding Dahoacha	1985	Landrace	50	Yunkang 10	1987	Field clone
3	Fu’an Dabaicha	1985	Landrace	51	Yunkang 14	1987	Field clone
4	Meizhan	1985	Landrace	52	Juhuachun	1987	OP
5	Zhenghe Dabaicha	1985	Landrace	53	Guihong 3	1994	Field clone
6	Maoxie	1985	Landrace	54	Guihong 4	1994	Field clone
7	Tieguanyin	1985	Landrace	55	Yangshuling 783	1994	Field clone
8	Huangdan	1985	Landrace	56	Wannong 95	1994	Field clone
9	Fujian Shuixian	1985	Landrace	57	Xicha 5	1994	Field clone
10	Benshan	1985	Landrace	58	Xicha 11	1994	Field clone
11	Daye Wulong	1985	Landrace	59	Hanlv	1994	Field clone
12	Mengku Dayecha*	1985	Landrace	60	Longjing Changye	1994	Field clone
13	Fengqing Dayecha*	1985	Landrace	61	Zhenong 113	1994	OP
14	Menghai Dayecha*	1985	Landrace	62	Qingfeng	1994	Field clone
15	Lechang Baimaicha*	1985	Landrace	63	Xingyang 10	1994	Field clone
16	Hainan Daye*	1985	Landrace	64	Baxiancha	1994	Field clone
17	Fenghuang Shuixian*	1985	Landrace	65	Qianmei 601	1994	HP
18	Damianbai	1985	Landrace	66	Qianmei 701	1994	HP
19	Shangmeizhou Zhong	1985	Landrace	67	Gaoyaqi	1994	Field clone
20	Ningzhouzhong*	1985	Landrace	68	Zhuyeqi 12	1994	Field clone
21	Huangshang Zhong*	1985	Landrace	69	Baihaozao	1994	Field clone
22	Qimenzhong*	1985	Landrace	70	Jiebohuang 13	1994	Field clone
23	Jiukengzhong*	1985	Landrace	71	Shuyong 703	1994	HP
24	Yuntaishanzhong*	1985	Landrace	72	Shuyong 808	1994	HP
25	Meitan Taicha*	1985	Landrace	73	Shuyong 307	1994	HP
26	Lingyun Baimaicha*	1985	Landrace	74	Shuyong 401	1994	HP
27	Ziyangzhong*	1985	Landrace	75	Shuyong 3	1994	HP
28	Zaobaijie*	1985	Landrace	76	Shuyong 906	1994	HP
29	Yichang Dayecha*	1985	Landrace	77	Yihongzao	1998	Field clone
30	Yixingzhong*	1985	Landrace	78	Fuzao 2	2002	Field clone
31	Qianmei 419	1987	OP	79	Lingtou Dancong	2002	Field clone
32	Qianmei 502	1987	HP	80	Xiuhong	2002	Field clone
33	Fuyun 6	1987	OP	81	Wulinghong	2002	Field clone
34	Fuyun 7	1987	OP	82	Yunda Danlv	2002	Field clone
35	Fuyun 10	1987	OP	83	Gancha 2	2002	OP
36	Zhuyeqi	1987	Field clone	84	Shuyong 808	2002	HP
37	Longjing 43	1987	Field clone	85	Shuchazao	2002	Field clone
38	Anhui 1	1987	Field clone	86	Wannong 111	2002	Mutation
39	Anhui 3	1987	Field clone	87	Zaobaijian 5	2002	Field clone
40	Anhui 7	1987	Field clone	88	Nanjiang 2	2002	Field clone
41	Yingshuang	1987	OP	89	Zhenong 21	2002	Field clone
42	Cuifeng	1987	OP	90	E’cha 1	2002	HP
43	Jingfeng	1987	OP	91	Zhongcha 102	2002	Field clone
44	Biyun	1987	OP	92	Mingke 2	2002	HP
45	Zhenong12	1987	OP	93	Yuemingxiang	2002	Field clone
46	Shuyong 1	1987	HP	94	Mingke 1	2002	HP
47	Yinghong 1	1987	Field clone	95	Huangqi	2002	OP
48	Shuyong 2	1987	HP	96	Guilv 1	2003	Field clone
				97	Mingshan Baihao	2005	Field clone

* Jat varyeteler : (tohumdan üretilmiş) diğer klonlar

† Islah Metotları :

Landrace (yerel çeşitlerin popülasyon ıslahı yöntemi) : Jat varyeteler ve klonları da kapsayan geleneksel varyeteler.

Field clone (Tarla Klonu): Jat’lar/Fidanlardan elde edilen seçilmiş bireysel klonlar.

OP : Açık tozlaşma sonucu elde edilmiş döllerden seçilmiş klonlar.

HP : Elle tozlaştırma sonucu elde edilmiş döllerden seçilmiş klonlar.

Çay germplazmalarının toplanması, korunması, ekspertizi ve değerlendirilmesinin deki güncel durum

Çay germplazması, gelecekte tüm çay endüstrisi için potansiyel değerinin yanında çay ıslahı ve biyoteknolojisi için günümüzde çok değerli ana materyallerden biridir. Yarım yüz yıl süreyle özellikle iki düzine yıl (24 yıl) sonunda çay germplazmalarının toplanması, korunması, ekspertizi ve değerlendirilmesi için büyük özen ve efor sarf edilmiş olup, Çin'deki çay endüstrisinin hizmetine sunmak, daha çok yeni varyetelerin ıslahı için çok sayıda germplazmanın kullanılmasını gereklidir. Bu, çay ıslahında kullanılmak üzere çok sayıda ham maddeye sahip olmayı da sağlar.

Toplama (Koleksiyon) ve koruma

Çay germplazmalarının araştırılmaları 1930'lu yıllarda Çin'de başlatılmıştır. Bununla birlikte, geniş çaplı ve iyi planlanmış araştırma ve koleksiyon 1980'lerde başlamıştır. Bu araştırmalar başlıca; Yunnan, Shennangjia koleksiyonu, Three Gorgos bölgesi, Hainan adası, Dabashan bölgesi, Güneybatı Sichua, Kuzeybatı Guangxi ve Güneybatı Guizhou, Güneydoğu Ghangqing ve kuzeydoğu Guizhou ile diğer çay yetiştirilen bölgeleri kapsar (Chen et al. 2006a).

1990'da Çin Tarım Bilimleri Akademisi Çay Araştırma Enstitüsünde (TRICAAS) ki Hangzhou Çay Deposu ve TRI Yunnan Tarım Bilimleri Akademisindeki Menghou Çay Depolama ünitesinde dahil olmak üzere ulusal düzeyde sürekli koruma depoları olarak "Çin Ulusal Çay Germplazması Depoları (CNGTR)" tesis edilmiştir (Chen et al. 2004). 2003 yılı sonuna kadar CNGTR'de Çin'in çay yetiştirilen illerinden ve dünya üzerindeki diğer ülkelerden; ırklar, genetik materyaller, ıslah edilmiş klonlar, yerel ırklar ve yabancı çay bitki lerini de kapsayan yaklaşık olarak 2665 germplazm aksiyonu toplanmış ve koruma altına alınmıştır (Chen et al. 2004). Bu arada, adapte olmuş yerel ırkları korumak için başlıca çay üretimi yapılan diğer illerin TRI'lerinde farklı ölçeklerde depolar inşa edilmiştir.

Ekspertiz ve değerlendirme

1986 ve 2005 arasında CNGTR'de korunmuş olan 1500 adet çay germplazması ; tarımsal karakteristikleri, infüzyon (dem) kaliteleri, başlıca kimyasal bileşenleri, abiyotik ve biyotik toleransları, sitolojik ve enzimolojik karakteristikleri açısından çok yönlü bilimsel metotlar kullanılarak ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmiş ve sistematik olarakta ekspertize edilmişlerdir (Yu et al.1992,1997; Yang et al.2003b; chen ve Zhou 2005).

Bu çalışmaların sonucunda, "Çay'a (Camellia spp.) ait standart veri ve tanımlayıcı lar" kitabı yayınlanmış (Chen et al. 2005b) ve çok kısa bir süre sonrada Tarım Bakanlığı'nın standart tarımsal teknikler "Çay Bitkisi (Camellia sinensis) Ürün Germplazmalarını Değerlendirmek İçin Teknik Kod" isimli kitabı kamuoyuna sunulacaktır (Chen et al. 2006b). Bu yayınlarla ayrıca, kalite kontrol yönetim bilgisi ve metotları, ekspertiz ve değerlendirme içerikleri düzenlenerek standardize edilmiştir. Bu arada çay germplazmaları arasındaki genetik ilişkileri ve genetik farklılıkları değerlendirmede ; RAPD, AFLP ve ISSR gibi moleküler markörler popülerleşmiştir (Chen et al. 1998; Liang et al. 2000; Lou et al. 2002; Chen ve Yamaguchi 2002,2005; Huang et al.2004; Duan et al.2004; Yao et al.2005; Chen et al. 2005a). Hem bireylerin seçimi hemde mutasyon ıslahı ile birlikte hibridizasyon için ebeveyn seçiminde elit materyaller elde etmek için çay germplazmaları sistematik olarak değerlendirilmeye tabi tutulmuştur.

Çay ıslah sisteminin geliştirilmesi ve yerleştirilmesi

Tablo 2'de gösterilen ve 1985'de tescil edilmiş 30 varyetenin tamamına yakını Landrace ıslah metodu ile elde edilmiş ve aralarındaki 17 tanesi ırktır. 1987'de tescil edilmiş 22 klonda çoğunlukla açık tozlaşmayla elde edilen döller veya ırklardan elde edilen bireylerden seçilmiştir. Bununla birlikte, 1994 ve 2002'de tescil edilmiş olan iki grupta yüksek oranda elle tozlaştırmayla çoğaltılmış döllerden seçilmiş klonlardı ve tek klonda 2002'de mutasyon metodu kullanılarak ıslah edilmiştir. Devam eden 3.Ulusal Adaptasyon Denemesi içinde ki 45 yeni klon arasında kontrollü hibridizasyon ve mutasyon metotları kullanılarak çaprazlanmış klonlar çoğunlukta. Islahın amaçları ; yüksek verimden, yüksek kalite, yüksek randıman, yüksek fonksiyonel bileşen içeriği ve strese karşı yüksek toleransa kadar çeşitli

hedefleri içermektedir. Bu arada, ıslah tekniği sürekli gelişme göstermektedir. En yüksek derecede etkin bir çay ıslah sistemi yavaş yavaş gelişip, günümüzde yerleşmiş olan mikroçoğaltım teknikleri ve moleküler markör'lerle desteklenen seleksiyon ile kontrollü hibridizasyon ve bireysel seçim gibi başlıca ıslah metotlarının birleştirilmesiyle elde edilebilir.

Bireysel seçim (Seleksiyon) ıslahı

Hem 67'si ulusal (Tablo 2) hemde 101'i yerel olarak ıslah edilmiş klonlar içinde yaklaşık olarak %76'sı açık tozlaşmayla elde edilen döller veya ırklardan bireysel seçim metodu kullanılarak çaprazlamayla üretilmiştir. Böylece, yüksek kaliteli yerel varyetelerden (ırklar), doğal seleksiyonla ortaya çıkan varyasyonlar veya elit varyetelerin açık tozlanması ile döller elde etmek çay ıslahı için geçerli bir metottur. Örneğin, sırasıyla 6 ulusal klon; Qimen Qunti'den Anhui 1, Anhui 3 ve Anhui 7, Longjing Qunti'nin ünlü yerel varyetelerinin fidanlarından Longjing 43, Longjing Change ve Zhongcha 102 seçilmiştir. Toplamda 15 klon'da ebeveyn olarak Yunnan Dayecha ve/veya Fudin Dabaicha'nın açık tozlaşmasıyla elde edilen dölleri ve fidanlarından seçilmiştir. Onların bir çoğu, Çin'de ki çay bahçelerinde günümüzde geniş çapta yetiştirilmekte olan popüler klonlardır. Bununla birlikte, bireysel seçim metodu kullanılarak yapılan ıslahın yüzdeleri sırasıyla ilk zamanlarda (1987'de) % 85'den ikinci periyotta (1994'de) ve üçüncü periyotta (2002'de) % 66.7'ye kadar gerilemiştir

Hibridizasyon ıslahı

Hibridizasyon; genetik varyasyon elde etmenin temel metotlarından biridir ve yeni varyeteler geliştirmenin önemli bir yoludur. Hibridizasyon metodu kullanılarak üretilen tüm klonların %73.3'üne tekabül eden toplam 11 klon günümüze dek erkek ebeveyn veya dişi ebeveyn olarak (Fengqing Dayecha dahil) Yunnan Dayecha'nın kontrollü hibridizasyonundan üretilmiştir. Hibridizasyon metodu kullanılarak üretilen klonların yüze oranı önemli oranda artmış sırasıyla; ilk dönem (1987) için %9.1'den ikinci dönemde (1994) %22.2'e ve üçüncü dönemde (2002) %29.1'ye yükselmiştir. Uzak hibridizasyon, yeni varyetelerin genetik tabanını genişletmek için güçlü bir metottur. Kısırlık veya aşırı zayıf üretkenlik (tohum bağlama) nedeniyle hali hazırda çay bitkilerinin ıslahında rutin bir metot olarak kullanılamamaktadır. TRICAAS'de uzak hibridizasyonun başarı oranını geliştirmek için günümüzde geliştirilen strateji doku kültürü ile genç embriyoyu kurtarmaktır.

Mutasyon ıslahı

Mutasyon ıslahı, genetik varyasyon üretmek için çay bitkilerini suni olarak kullanılan fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerle etkilemek ve ardından yeni klonlar geliştirmek veya ıslah amacına uygun aynı zamanda ıslahta kullanılmak üzere yeni değerli genetik materyaller elde etmektir. Çay bitkisindeki biyolojik hasarı üzerine kimyasal mutagen'ler veya γ ışınının birlikte etkileri sistematik olarak analiz edilmiştir (Yang ve Lin, 1992). Fizikokimyasal mutagen'ler ile muamele edilen çay bitkilerindeki hasar, γ ışını yada kimyasal mutagen'ler ile muamele edilmiş olandan daha yüksekti. Çin çay varyetelerinin temel kriterleri ve mutasyon tekniği ile birleştirilen fizikokimyasal uygunluk oranı ile doz oranının etkisi ve ışın dozu arasında bir matematiksel model önerilmiştir. Çay tohumlarının başlıca içsel bileşenleri, nem içerikleri ve ışın hasarı arasındaki ilişki net bir şekilde aydınlatılmıştır. Mükemmel yeni bir ırk ki o, ilk baharda en erken filizlenir, dem kalitesi yüksektir, hastalıklara karşı dirençli olup kaliteli yeşil çay üretimi içinde uygundur ve bu Co60 γ ışınması altında Longjing 43 çeliklerinden elde edilen tohumlardan seçilmiştir (Yang et al. 2003a). O, halen 3. Ulusal Adaptasyon Denemesi içerisinde ve mutasyon metoduyla ışınlanan çelikler kullanılarak üretilmiş ilk ebeveyn çay klonu olma yolunda umut vericidir. TRI Hunan ve Anhui Tarım Üniversitesi sırasıyla, 1997 ve 2002'de ışın kaynağı olarak Co60 γ ışını ve ışın uygulama maddeleri olarak çay tohumları ve fidanlarını kullanarak yerel ve ulusal bir klon üretmiş ve tescil ettirmiştir. Tüm bunların gösterdiği, mutasyon ıslahı metodunun çay bitkileri için pratik ıslah metotlarından biri olduğudur. Bu arada, mutasyona uğrayan çeliklerin moleküler mekanizması (çalışmayı yapan) araştırmacıların laboratuvarındaki ISSR markörleri kullanılarak analiz edilmiştir. 24 M1 dölümüm genişletilmiş genomik DNA bant modelleri ve onun 4 Mo ebeveynleri

arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir, böylece onların seleksiyon için daha fazla potansiyele sahip oldukları ortaya çıkmıştır.

Islah için erken-evre ekspertiz tekniği

Dem kalitesi, verim ve (hastalıklara karşı) direnç çay ıslahının temel amaçlarıdır. Yüksek ürün verimi için istenilen nitelikler ve hatta kalite her 40000 veya daha çok sayıdaki ocağın birinin dışında bir kaçında olma olasılığı da olmayabilir (Wright 1956; Hajra 2001). Bu nedenle, geleneksel metotları kullanarak yeni bir klon üretmeyi başarmak 22 – 25 yıl alacaktır (Takeda 2000). Geleneksel yolla seleksiyon ve ıslahın etkinliği çok düşüktür. Böylece, ıslah zamanını kısaltmak ve ıslah etkinliğini arttırmak için ıslah çalışmalarında erken-evre ekspertiz tekniği üzerinde bir çok araştırma projesi yürütülmüş ve önemli düzeyde başarıya ulaşılmıştır. 1970'lerin başlarında çoğunlukla araştırmalar ; (hasatlara karşı) dayanıklılık, dem kalitesi, verim ve morfolojik karakterler arasındaki basit ilişkilere odaklanmıştır. 1980'lerde çoklu regresyon analizi, başlıca bileşen analizi ve yol analizi gibi biyoistatistiksel metotlar verim, kalite ve (hastalıklara karşı) dayanıklılık ile bazı morfolojik, fizyolojik ve kimyasal özellikler arasındaki ilişkileri sistematik olarak analiz etmek için kullanıldı (Lü ve Zhou 1994). 1990'ların sonlarına doğru DNA moleküler markörleri erken – evre ekspertizlerinde kullanılmaktaydı (Chen et al. Revize, 2006c). Çay ıslahı için erken – evre ekspertizi günümüzde morfolojik, fizyolojik ve kimyasal düzeyden daha kesin sonuçlar veren DNA düzeyinde yürütülmektedir.

Seçime (seleksiyona) yardım eden moleküler markörler

Moleküler biyolojik teknikler, bitkisel kalıtım ve ıslah için polimorfik DNA temelinde moleküler markörler sağlar. Moleküler markörler, diğer genetik markörlerle karşılaştırıldığında farklı avantajlara sahiptir. İlk olarak, döllere miras yoluyla kalıcı olabilen, çevre koşulları ile (bitki) gelişim evreleri tarafından etkilenmemiş olup DNA düzeyinde genetik varyasyonu direk olarak yansıtırlar. İkinci olarak, bazı markörler resesif tarımsal özelliklerin seçimi için uygun kodominant'lardır. Üçüncü olarak, genom varyasyonu yüksektir ve potansiyel markörler hemen hemen sınırsızdır. Günümüzde; RFLP, RAPD, CAPS, AFLP, ALPs, SSR ve ISSR gibi bazı moleküler markörler geliştirilmiş ve çay bitkisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Genom haritası, genetik kalıtsallık, gen bağlantılarının belirlenmesi, moleküler poligenetikler üzerine çalışmalar ve varyeteler ile çeşitlerin ayrımı, aralarındaki ilişki ile genetik farklılıklarının analizi için dikkate değer avantajlar sağlamaktadırlar (Chen et al. Revize, 2006c).

Son on yıl içerisinde bazı ikincil (bitkisel) metabolitler, çay bitkisinin kalite ve stres'e karşı direnci ve önemli fonksiyonel genleriyle ilişkili olanlardan; phenylalanine ammonia lyase, chalcone synthase, dihydroflavonol 4-reductase, flavanone 3-hydroxylase, flavonoid 3',5'-hydroxylase, leucoanthocyanidin reductase, anthocyanidin synthase, flavonoid biosentezi için polyphenol oxidase, kafeinin biosentezi için caffeine synthase ve S-adenosylmethionine synthase, beta-primeverosidase ve beta-glucosidase izole edilmiş, açığa çıkarılmıştır ve klonlanmıştır. Buna ilaveten, bütünüyle genom düzeyinde ; strese direnci, kaliteyi, metabolizmayı, farklılaşmayı, gelişme ve büyüme mekanizmalarını anlamak için yeni ve sağlıklı bir yaklaşımın sağlanması çay bitkisinin öncelikle fonksiyonel genleri üzerinde çalışma başlatılmış ve yürütülmektedir. Çay bitkilerine genetik olarak müdahale etmek ve kontrol altına almak mümkündür. Bunun gelecekte çayın genetik gelişimi ve ıslahında olağan üstü etkilere yol açacağı öngörülmektedir (Chen et al. Revize, 2006c).

Mikroçoğaltım

Çay bitkilerinin ıslah başlangıcından büyüme aşamalarındaki güçlüklerin biride çoğaltmadır. Yerel ve ulusal adaptasyon testleri ile nesil karşılaştırma testleri için yeterli miktarda dikilebilir bitki üretmek uzun zaman alır. Ayrıca, yeni klonlar çoğaltmak amacıyla büyük çaplı bir gelişim uzun zaman alacaktır. (Hibridizasyon sonrası elde edilen) Tamamen uygun birkaç çelikten, genesel tek boğumlu çelik metodu kullanılarak dikilebilir 4000 – 5000 bitkiyi çoğaltmak 8 – 10 yıl alacaktır. Bununla birlikte, mikroçoğaltım metotları kullanılarak aynı miktarda dikilebilir bitki elde etmek için yaklaşık olarak 2 yıl yeterli olacaktır (Cheng ve Li 1998). Mikroçoğaltımı içeren endüstriyel bir üretim yöntemi ile dikilebilir

bitki üretme tekniğinde, eleme ve elde etme aşamalı olur. Bu yolla, göreceli olarak kısa bir süre içinde büyük miktarlarda dikilebilir bitki elde etme imkanı vardır ve böylece yeni klonların büyümesi ile ıslahı teşvik ve yeni klonlar ile yeni materyaller için çoğaltma periyodu kısaldır.

Çay kalıtım biliminin geleceği ve ıslahın temel araştırma noktaları

Yukarıda ifade edilmiş olduğu gibi, Çin'de çay ıslahında önemli avantajlar elde edilmiş ve ayrıca ıslah sistemi de gelişmiştir. Bununla bitlikte, hem uluslar arası hemde yerel pazarların gittikçe aratan istek ve memnuniyetlerini karşılamak için Çin'deki çay kalıtım bilimi ve ıslahı içinde yer alan bazı tarla araştırmaları mutlaka arttırılarak yapılmalıdır.

Daha çok istenilen materyal sağlamak amacıyla çay germplazmlarının ekspertizine hız verilmelidir. Çay germplazmlarını toplamak, korumak, ekspertize etmek ve değerlendirmenin asıl amacı onlardaki istenilen genleri kullanmaktır. CNGTR'de muhafaza edilen çay germplazmlarının yaklaşık olarak %60'ı jat'tır (Chen et al. 2004). Jat'lar içindeki bireylerde yüksek heterozigotluk olduğundan dolayı, ekspertiz ve değerlendirilmelerinin sonuçları sadece bireyin seçimi düzeyinde doğruluğu ve kullanım geçerliliğini garantiler. Bu nedenle, ıslah için geçerli ebeveynler olarak birey ve gen düzeyinde ekspertiz ve değerlendirilmeleri uygun değildir. Uzun bir periyot süren ekspertiz populasyon üzerinde büyük ölçüde fenotip düzeyinde kalır ve sonuç, korunan çay germplazmlarının çokluğunda saklıdır. Ancak yinede germplazmlar, ıslah için yeterli olmaz. Ebeveyn hibridizasyonu için çok önemli anahtar genler, üstün karakterler ve genetik ark plan, tam olarak araştırılmışsa, Çin'de ki çay ıslahında yeni ıslah teknikleri ve metotlarının da yardımıyla baskın germplazmlardan daha üstün görünümlü yeni klonlar ortaya çıkacaktır (Chen et al. 2004). Yeni geliştirdiğimiz cDNA mikro – dizilim sıklığı cihazı, çayın gen düzeyinde yüksek performanslı germplazm ekspertizi için uygun bir araçtır (Zhao et al. 2006).

Özel gen kaynaklarını ortaya çıkarmak için fonksiyonel gen araştırmalarını derinleştirmek

Çay bitkilerinden fonksiyonel genlerin izolasyonu 1992'de başlamış ve diğer familyalara göre çayın sahip olduğu farklılıklardan dolayı yavaş ilerlemiştir (Zhao et al. 2003). Bununla birlikte, önemli ilerlemeler kayıt edilmiş, özellikle fonksiyonel gen araştırmaları bağlamında EST üretimi ve analizi genel olarak son yıllarda başlamıştır. Toplam olarak 1684 ESTs ile mazi önemli ikinci metabolizma genleri ve stres / savunma ile ilişkili genlerde dahil 300'den fazla fonksiyonel genin kısmi dizilimi oluşturulmuştur (Chen et al. 2005c). Buna rağmen, yinede bunlar fonksiyonel genlerin küçük bir bölümü, sadece yaklaşık olarak toplam yaprak özelliği genlerinin %5'idir. Çay bitkisinin fonksiyonel genlerini tanımlama ve tekin biçimde izole etmek için onlara ait DNA dizilim bilgisi yarar sağlayacaktır. Sonuç olarak, çay ıslahı için tamamen gen düzeyindeki genetik varyasyonun mekanizmasını daha iyi anlamak çay bitkisinin özel genlerini ortaya çıkarmak için fonksiyonel gen araştırmalarının derinliğini ve kapsamını arttırmaya ihtiyaç vardır.

Islah için temel kalıtsal araştırmaları çoğaltmak

Çay bitkisi, diğer odunsu çok yıllık bitkiler gibi kendine uyumsuzluk ve allogamy gösterir bu nedenle homozigotluk elde etmek güçtür. Çay bitkisinin kalıtsal temeline yönelik araştırmalar oldukça yetersiz ve yavaş ilerlemektedir. Çay bitkisinin genetik karakteristikleri hala yeterince anlaşılammış ve bu nedenle çay ıslahını önemli oranda negatif olarak etkilemiştir. Modern moleküler biyolojinin teknikleri ve metotları önemli tarımsal özellikler başta olmak üzere, kalite, metabolizma ve (hatalıklara karşı) direncin genetik yapısını anlamayı sağlamak için kullanılmalıdır. Bu teknikler, ıslahın etkinliğini geliştirmek ve doğruluğu arttırmak için çay ıslahında yol gösterici rehberler olacaktır.

Germplazm inovasyonunu çoğaltmak için uzak hibridizasyon uygulaması

Germplazm inovasyonu, ön-ıslah çalışmalarında görev üstlenir. Islahın etkinliğini geliştirmede ve genetik tabanı genişletmede önemli role sahiptir. Hibridizasyon ve mutasyon metotları kullanılarak üretilen klonların miktarı artmaktadır ancak germplazm inovasyonu hala yetersiz olduğundan dolayı

yüzde oranları düşüktür (Tablo 2). Bu nedenle, mükemmel germplazmların keşfi ile birlikte inovasyon, ıslah için gerekli germplazmları ortaya çıkarmayı teşvik etmiş olur. Çeşitli inovasyon metotları vardır en önemlilerinden biri uzak hibridizasyonda içeren hibridizasyon'dur. Bazı başarılı örnekleri mevcuttur. Japonya'da çay bitkisinin uzak hibridizasyonu *Camellia* cinsi içerisindeki 26 alt türde yürütülmektedir. *Camellia* çiçeği (*C. japonica*) ve çay bitkisi (*C. sinensis*) arasındaki türler arası bir melezleme sonucunda Chatsubaki isimli bir varyete elde edilmiştir. Çay antraknozu, kurşuni yanıklık ve kış soğuğuna karşı yüksek direnç göstermiş bunun yanında, düşük kafein içeriği ile dikkat çekmiştir (Takeda et al. 1987). Bu yeni varyete, Japonya'da çay ıslahı için önde gelen üç önemli ebeveyn materyalden bir olmuştur. Bir Assam x Çin melezi olan TV2 ile *C. irrawadiensis* x *C. assamica*'nın F1 hibridleri arasındaki çaprazlamadan elde edilen Hindistan, Assam'da ki TV24 yüksek verimli bir klondur (Bezbaruah 1987).

Dış genler kullanılarak, gen transformasyon tekniğini geliştirmek

Gen mühendisliği teknikleri kullanılarak, diğer organizmalardan elde edilen istenilen özellikteki dış genler çay bitkilerine aktarılabilir, yeni özelliklere sahip yeni varyeteler oluşturulabilir. İki klonun istenilen özellikleri bir araya getirilebilir. Örneğin; çay bitkilerinde Bt böceklerine karşı direnci tanımlaması ; pestisit kullanımı yoluyla neden olunan çevre zarar larını ve pestisit kalıntısını azaltmak, böcekler tarafından neden olunan kayıpları azaltmayı ve böceklerle karşı dayanıklı bitkiler üretmeyi sağlayacaktır. Bu. Hindistan'daki çay bitkilerinde başarılmıştır (Mondel et al. 2001). Bu arada, Çin'deki bazı araştırma projelerinde hem partikül bombardımanı hemde *Agrobacterium* aracılığıyla veya birleştirilmiş transformasyon metotları kullanılmaktadır (Luo ve Liang 2000; Zhao et al. 2001; Wu et al. 2003,2005). Ayrıca, RNA aracılığıyla transkripsiyon sonrası gen susturma (PTGS) tekniği, düşük veya sıfır kafein içeren çay klonları üretmek için kullanılmaktadır. S-adenosylmethionine sentez genleri kullanılarak RNA çift sarmalı yoluyla gen dizilimi spesifik olarak bozulabilir. Çay bitkileri için, gen transformasyonu güçtür ve halen rutin olarak kullanılmayan kapsamlı bir tekniktir. Transformasyon reseptör sisteminin dar geçitliği hala bir problemdir. Böylece germplazm inovasyonu için etkili rutin bir yolla gen transferi yapmak ve onu geliştirmek, gen transformasyon tekniği için büyük bütçe ayrılmasını gerektirir.

Erken-evre ekspertizini etkili olarak yürütmek için tümüyle moleküler markörlerle destekleme tekniği

Erken-evre ekspertiz yollarının bir çoğu çay ıslahında kullanılabilir. Bunlar ; morfolojik, fizyolojik, kimyasal ve moleküler metotları içerir. Moleküler metotlar, pratikte nadiren kullanılır. DNA aydınlatıcı markörler, markör destekli seleksiyon yoluyla çay ıslahında önemli tarımsal karakterlerin kantitatif özellik lokuslarının (QTL) yerlerini öğrenmek, yüksek yoğunluklu genetik bağlantı haritaları yapmak, dayanıklı ve canlı görünüşleri araştırmak için kullanılırlar. Çay bitkisi için ilk (gen) bağlantı haritası Takana (1996) tarafından RAPD markörleri kullanılarak yapılmıştır ve markörlerin; tehanine içeriği, tomurcukların filizlenme tarihleri, antraknoza karşı direnç ve soğuğa karşı toleransla ilişkileri belirlenmişti (Takana 1996). Dişi ebeveyn, SFS150'den elde edilen diğer bir bağlantı haritası, RAPD ve AFLP markörleri ile saptanmıştır (Hackett et al. 2000). Günümüzde, çay bitkisi için bir AFLP (gen) bağlantı haritası da Çin'de yapılmıştır. Dişi bir ebeveynin haritası ; 17 bağlı grup ve 208 markör bulundurmakta, markörler arası ortalama uzaklık 11,9 cM olup 2.457,5 cM'lik toplam bir uzunluğu kaplamaktadır. Erkek bir ebeveyninden elde edilen harita ; 16 bağlı grup ve 200 markör bulundurmakta, markörler arası ortalama uzaklık 12,8 cm olup 2.543,3 cM'lik toplam bir uzunluğu kaplamaktadır (Huang et al. 2005). Bununla birlikte ilk çalışmalar da haritalama için gerekli birey sayısı, istenilen kesinlikte harita elde etmek için çok azdı (sadece 40 – 90 birey). Bunlarla yapılan haritalar, moleküler markörlerin düşük dağılımlarına bağlı olarak bazı önemli özellikler ile QTLs bağlantı lokasyonlarıyla sınırlı kalmıştır. Günümüzde tam olarak çay bitkileri için pratik bir gen haritası mevcut olmadığı halde, markör destekli seleksiyon potansiyeli net ve sağlıklıdır.

Sonuç olarak, diğer tarımsal ürünlere benzer şekilde çay ıslahının nihai amacı ürün kalite ve kantitesini geliştirmektir. İlk bahardaki erken filizlenme, yüksek dem kalitesi, yüksek verim, biyotik ve abiyotik strese karşı yüksek direnç ile bazı özel karakteristikler (düşük kafein, yüksek kateşin gibi) Çin'de günümüzde ve gelecekte öngörülen temel çay ıslah hedefleridir. Gelişmiş çay ıslah programları, bireysel seçimden hibridizasyon ve moleküler ıslaha kadar günümüzde ve gelecekteki ıslah programlarına yardımcı olacaktır.

Teşekkür

Bu çalışmaya Liang Chen 'de Zhejiang'ın (Y305124) NSF bölümü tarafından destek sağlanmıştır ve araştırmacılar, kritik değerlendirmeleri ve yapıcı yorumları için TRICAAS'da ki Prof. Fu LianYu ile Pretoria Üniversitesi Çay Araştırma Laboratuvarındaki Dr. Zeno Apostolides'e ve Güney Afrika'da ki diğer denetleyicilere teşekkür eder.

Kaynak : Liang Chen , Zhi-Xiu Zhou , Ya-Jun Yang. 2007. [Genetic improvement and breeding of tea plant \(Camellia sinensis\) in China: from individual selection to hybridization and molecular breeding](#). Euphytica (2007) 154:239–248 DOI 10.1007/ s10681-006-9292-3. Laboratory for Tea Germplasm, Genetic Improvement and Molecular Biology, Tea Research Institute Chinese Academy of Agricultural Science, Key Laboratory of Tea Chemical Engineering of the Ministry of Agriculture, Yunqi Road, Hangzhou, Zhejiang 310008, China.

Tercüme: Kamil Engin İSLAMOĞLU, Ziraat Mühendisi, [E-Mail](#)

Çeviri'de yer alan teknik terimlere ait tanımlar:

Hibridizasyon = Bitki ve hayvanlarda, aynı türden farklı genotipe sahip bireylerin çaprazlanmasıdır. Terim genellikle daha dar anlamda kullanılır: komplementer iki DNA tek ipliğinin birleştirilmesi (DNA/DNA hibridizasyonu), komplementer DNA ve RNA ipliklerinin birleştirilmesi (DNA/RNA hibridizasyonu), farklı türden kültür hücrelerinin invitro ortamda birleştirilmesi (hücre hibridizasyonu) gibi.

Harita mesafesi = Gen lokusları arasında, fiziksel olarak (cM, santimorgan) veya genetik olarak (rekombinasyon sıklığı) ifade edilen uzaklık. Santimorgan = Linkaj (bağlantı) haritalarında kullanılan bir uzunluk birimidir (100 santimorgan (cM) = 1 Morgan). İki gen lokusunun santimorgan olarak birbirine uzaklığı, görülen yüzde rekombinasyon sıklığına eşittir Yani, bir cM yüzde bir rekombinasyon sıklığı demektir. Drosophila'da klasik genetik deneylerin öncüsü olan Thomas H. Morgan'ın (1866 1945) adı verilmiştir.

Homozigotluk = Belli bir gen lokusunda aynı allellere sahip olma. Allel veya allelomorf; bir genin, belirli bir gen bölgesinde bulunan alternatif formlarından her biri.

Heterozigot = Belli bir gen lokusunda iki farklı allele sahip olmak

cDNA = RNA kalıp üzerinden revers transkriptaz enzimi aracılığıyla sentezlenen komplementer DNA.

Diploid = Biri anneden (maternal), biri babadan (paternal) olmak üzere iki homolog kromozom setine sahip hücre yada organizma.

Haploid = Tek kromozom setine sahip hücre yada birey. Gametler haploiddir.

DNA polimeraz = DNA sentezleyen bir enzim. Senteze başlamak için komplementer DNA ipliğine ve bir RNA pirimere gereksinimi vardır.

Dominant = Heterozigot durumda gözlenebilen genetik özellik demektir. "Dominant" ve "resesif" terimleri belli bir gen lokusundaki allellerin etkisini tanımlar. Gözlenen etki kısmen gözlemin doğruluğuna bağlıdır. Lokustaki iki farklı allelin (heterozigot) her ikisinin de etkisi görülebiliyorsa, allellerin kodominantlığından söz edilir. DNA düzeyinde, iki homolog lokustaki allel genler kodominanttır.

İrk= Bazı gen alellerinin frekansı ile diğer popülasyondan ayrılan bir popülasyondur.

Markör = Belirli bir genotipi belirlemek için kullanılan allel. Genetik marker; allellerin atasal kökenini belirlemek için kullanılabilen, polimorfik genetik özellik (polimorfik DNA bölgelerinin karşılaştırılması).

Mutasyon = Genetik materyaldeki kalıcı değişiklik. Bir gen içerisine baz çiftlerinin katılması (insersiyon), kaybı yada değişmesi şeklinde nokta mutasyonu olarak veya kromozom yapısındaki değişimler şeklinde kromozomal mutasyon olarak farklı tipte görülebilir. Yanlış anlamlı (missens) mutasyon, gen ürününde yanlış amino asidin bağlanmasına neden olan bir değişikliktir. Anlamsız (nonsens) mutasyon, bir genetik mesajın ortasında dur kodonu oluşturarak tümüyle işlevsiz bir gen ürünü çıkmasına neden olan bir değişikliktir. Yapay yollarla mutasyona yol açan etmenlerde mutagen denir.

Germplazm = Yeni bir organizmanın elde edilebileceği herhangi bir genetik materyal.

Lokus = Bir genin bir kromozom üzerindeki konumu.

İnovasyon = "Yeni ve değişik bir şey yapmak" anlamındaki Latince "innovare" kökünden türetilmiştir. İngilizce karşılığı ; "Bilim ve teknolojinin ekonomik ve toplumsal yarar sağlayacak şekilde yenilenmesi" anlamına gelir.

Mikroçoğaltım = Bir bitkiden alınan ve tam bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahip bitki kısımlarından (embriyo, tohum, gövde, kök, sürgün vb.) yapay besin ortamlarında ve mikroorganizmalardan arındırılmış şartlar altında genetik olarak birbirine benzeyen çok sayıda bitkiyi hızlı çoğaltma amacıyla kullanılan bir doku kültürü tekniğidir. Bu teknik bahçe ve tarla bitkileri, peyzaj ve ormancılıkta birçok bitki türünde kullanılmaktadır (Solarova ve Posposilova 1997, Nquyen ve Kozai 1998, Pospisilova ve ark.,1999a ve Mansuroğlu ve Gürel 2001).

Polimorfizm = Bir gen veya kromozomun bir toplumda, iki veya daha fazla, sık rastlanan allelinin varlığı. allel sayısı arttıkça toplumda o gen için polimorfizm artar.