

## Bitki Islahına Biyoteknolojik Yaklaşım

Fonksiyonu ve şekli ne olursa olsun, bir canlıyı oluşturan hücrelerin her biri, bütün organizma için gerekli olan DNA'nın bir kopyasını içermektedir. DNA, bildiği üzere, bir hücrenin tüm fonksiyonlarından sorumlu olan şifreyi taşımakta ve hücrenin faaliyetlerini bu şifrenin çözülmesiyle yönlendirmektedir. Olay iki aşamada gerçekleşmekte; birincisinde DNA şifresinin kopyası çıkarılmakta, yani messenger RNA (mRNA) elde edilmekte (transkripsiyon olayı), ikincisinde ise, bu kopya hücre içerisinde okunarak amino asit zincirine dönüştürülmekte (translasyon olayı), ortaya çıkan bu zincirler de organizmada fenotipik karakterleri etkileyen proteini meydana getirmektedir (Şekil 1).

Bu bilgiler biyologlar tarafından uzun zamandan beri bilinmesine rağmen, biyoloji biliminde reform sayılabilecek yeni gelişmeler DNA'yı çeşitli yerlerinden kesilen, kesilmiş DNA parçacıklarının birbirine eklenmesini sağlayan çeşitli ve çok sayıda enzimlerin keşfedilmesi ile olmuştur. Bunun sonucunda da biyolojinin yeni bir koluna, moleküler biyoloji doğmuştur. Bu bilim dalının geliştirmiş olduğu yeni teknikler, biyoloji biliminin ilgi alanına giren bütün ana ve alt bilim dalları (top, veteriner hekimliği, zooloji, arkeoloji, petro-kimya ekoloji vb) tarafından da anında biyoteknoloji çatısı altında kullanılmaya başlanmıştır.

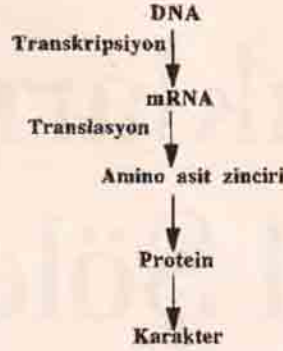
Kullanılan alanlarından birisi de bitki iyileştirme ve islah çalışmalarıdır. Bitki islah çalışmalarında gerçekleştirilmesi istenilen amaçlar, bir islahçının karşılaştığı problemler ve bu problemlerin çözümünde bitki doku kültürleri tekniklerinin nasıl kullanılabileceği çeşitli yerlerde anlatılmıştır. Bu yazının amacı, bitki biyoteknolojisinin kapsamına giren

moleküler biyoloji tekniklerini son gelişmeleriyle birlikte vermek ve bir bitki islahçısına hangi aşamada yardımcı olabileceğini açıklamaktır.

Bir bitki islahçısının moleküler alanda istekleri arasında şunlar bulunmaktadır; a) bitkisine yeni karakterler kazandıracak genleri bulmak ve aktarmak; b) bitkisinde hali hazırda bulunan genlerin kopya sayısını artırmak; c) bitkisinin genetik haritasına sahip olmak; d) yabancı bir bitkide bulunan bir geni oradan izole edebilmek ve kendi bitkisine aktarabilmek; e) bazı durumlarda bitkisindeki istenilmeyen karakterleri ortadan kaldırmak, yani bazı genleri susturmak; f) bazı durumlarda da susmuş genleri yeniden faaliyete geçirebilmek. İşte moleküler biyoloji, islahçının bütün bu isteklerine fazlasıyla yanıt vermektedir. Bunlar için gerekli teknikler aşağıda detaylı olarak anlatılmaktadır.

### Gen Klonlaması

Bir hücrenin genetik materyali (DNA'sı) nükleotid (adenin, timin, guanin ve sitozin) zincirlerinden oluştuğu için, çeşitli enzimler (EcoRI, BamHI, Bgl II, Neo I gibi) kullanılarak bu zincirleri farklı yerlerinden ve istenilen uzunlukta kesmek mümkündür ve bu enzimler restriksiyon endonükleaz enzimleri olarak bilinmektedir. Ayrıca yine farklı enzimler kullanarak (ligaz, polimeraz, kinaz, transkriptaz gibi) kesilen DNA parçaları birbirine eklenilebilir ki, bu enzimler de değiştirici (modifying) enzimler olarak bilinmektedirler. Kesilmiş bir DNA parçacığının yabancı DNA parçacığı ile birleştirilmesi sonucu ortaya çıkan DNA'ya rekombinant DNA adı verilmektedir. Yani, nasıl bir terzi makasını ve diğış makinesini kesim ve ekleme için kullanıyorsa, bir moleküler biyolog da enzimlerini öyle kullanabilmektedir. Yine rekombinant DNA parçacığı öyle bir ayarlanabilir ki, bu parçacık plazmid veya kozmid gibi bir vektör içerisine yerleştirilebilir ve daha sonra bir bakterisi suşu içerisine aktararak bakterie-



Şekil 1. Bir DNA zincirinden belirli bir karakterin ortaya çıkmasında görülen evreler.

nin kromozomundan bağımsız olarak çoğaltılabilir. İşte, belirgin bir DNA parçacığının kesilerek bir vektör içerisine konulması ve daha sonra bakterie içerisine çoğaltılması işlemleri gen klonlaması olarak bilinir (Şekil 2).

Gen klonlama tekniği kullanılarak herhangi bir organizmanın bütün genomu klonlanabilir ki, bu da gen kütüphaneleri veya gen bankaları olarak bilinmektedir. Gen kütüphanelerini elde etmede iki çeşit strateji izlenilmektedir. Birincisinde, organizmanın toplam DNA'sı (genomik, mitokondriyal ve kloroplast DNA'ları) izole edilerek enzimler vasıtasıyla kesilir ve bütün parçacıklar yukarıda anlatıldığı gibi bir plazmid, faj ve kozmid vektörüne klonlanır. Böyle bir kütüphane genomik kütüphane olarak bilinir. İkinci stratejide ise, organizmadan toplam mRNA izole edilir ve bu RNA'dan enzimler (revers transkriptaz) vasıtasıyla DNA kopyaları elde edilir. Elde edilen DNA'lar yine vektörlere klonlanır ki, bu tip kütüphaneler de cRNA (complimentary DNA) kütüphaneleri olarak adlandırılırlar. (Hemen hatırlatalım, bir organizmanın toplam genomik DNA'sının tamamı mRNA üretmez. mRNA üretmeyen DNA'lar ancak gerektiği durumlarda çalışırlar. Dolayısıyla cDNA kütüphaneleri tüm genomu temsil etmez. Ayrıca bitki

genomik DNA'larında intron diye bilinen ve mRNA'ya dönüşmeyen kısımlar vardır, bunlar da cRNA'da yer almaz).

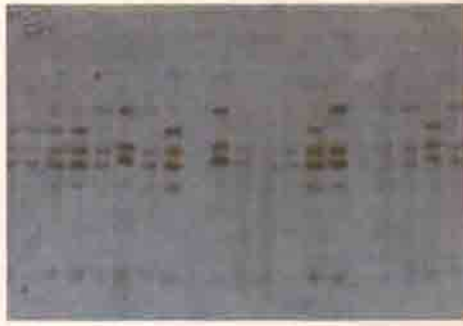
Yukarıdaki bilgileri göz önüne alarak, bu tekniğin bir bitki islahçısına sağlayacağı faydalar şu şekilde sıralanabilir; 1) islahçı bitkisinin gelişme dönemlerine göre genlerin çalışmasını takip edebilir. Örneğin, bitkinin, fide, yeşil aksam, çiçeklenme veya meyve verme sırasında bu organlardan elde edilen cDNA kütüphanesini kullanarak, ortaya çıkan yeni mesajları (mRNA'ları) takip edebilir ve bu mesajları kodlayan DNA'nın kopya sayısını ve gen ürününün (proteinin) büyüklüğünü öğrenebilir; 2) spesifik genleri izole etmek için yine bu gen kütüphanelerinden faydalanabilir. Örneğin, bir islahçı, bitkisinde yaşlanmayı durdurmak istiyorsa, bitkisinin yaşlanmaya ve sararmaya başlayan alt yapraklarından elde edilen cDNA kütüphanesini kullanarak ortaya çıkan yeni mesajları (spesifik cDNA) bulur. Bu cDNA'lardan yararlanarak antisens RNA teknolojisini (aşağıda açıklanmıştır) kullanarak bu genleri belirli bir süre susturur ve sonuçta bitkisinde yaşlanma belirli bir süre geciktirilebilir. Dolayısıyla, bitkinin daha fazla fotosentez yapması, ve tohumlarının daha dolgun olması sağlanabilir; 3) izole etmiş olduğu spesifik cDNA kolonunu kullanarak genomik DNA kütüphanesini tarar ve bu kütüphaneden de o cDNA'yı kodlayan geni tespit eder. Ayrıca, o genin yapısını, intron sayısını, promotörünün çalışma koşullarını bularak, takip ettiği fenotipik karakterin ortaya çıkmasını anlamaya çalışır; 4) kütüphanesini teşkil eden klonları uluslararası araştırma istasyonları ile değiştirerek, kendi bitkisine taksonomik olarak yakınlık gösteren bitkilerdeki genetik durumu da yakından takip edebilir; 5) kütüphanesinde bulunan rekombinant DNA'ları, bitkisinin genetik haritasını çıkarmada kullanabilir.

### Genlerin Teşhisi ve İzolasyonu

Bir bitki islahçısı, normal programında bitkisinde ortaya çıkan fenotipik karakterleri bilebilir ve o karakterlerin hangi çevre şartlarından ne şekilde etkilendiğini tespit edebilir. Örneğin, tohumun ebadını, aşırı kuraklık ve sıcaklıklara karşı bitkisinin reaksiyonunu, herhangi bir hastalık etmeni veya zararlıya karşı bitkide ortaya çıkan değişimleri gözleyebilir ve hatta bunlarla ilgili kantitatif veriler elde edebilir.



Resim 1a. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) nin tespiti. Farklı bitki türlerinde ve hatta aynı türün çeşitleri arasında genomik seviyede, DNA'nın nükleotid dizilişlerinde farklılık (polimorfizm) görülmektedir. Bu farklılıklar çeşitli restriksiyon enzimleri kullanılarak ortaya çıkarılabilir ve bunun için de önce bitkilerin DNA'ları izole edilerek çeşitli restriksiyon enzimleriyle kesilirler. Kesilen bu DNA'lar daha sonra gel elektroforezde ayrıştırılarak, standart Southern blot tekniği kullanılarak naylon membranlara aktarılır. DNA'ları taşıyan bu membranlar, genom haritası üzerinde yerleri bilinen ve prob olarak da adlandırılan (RFLP probu), herhangi bir yolla işaretlenmiş (32 P, biyotin, vb) DNA parçacıkları ile hibridize edilirler (Prob DNA'nın membran üzerindeki genomik DNA ile eşleşmesi). Hibridizasyon yerleri çeşitli yollarla (otoradyografi veya kemoluminescence gibi) tespit edilerek, ortaya çıkan bantlardaki uzunluk farkına (polimorfizm) bakılır. Burada, aynı bitki türünün iki farklı çeşidi, 10 farklı restriksiyon enzimiyle kesilerek, 32 P ile işaretli 1C7L probu ile hibridize edilmiştir. Görüldüğü gibi, kullanılan enzimlerden 9 tanesi bu prob ile polimorfizm vermiştir.



proben birliye bağlantı (genetik linkage- fenotipe genotipin uyumluluğunun en fazla olması) kurulur. Bağlantının olup olmadığının tespitinde ise rekombinant hatlar büyük rol oynarlar. Eğer fenotip, homozigot A veya B olarak görülüyorsa ve moleküler veri de bunu heterozigot (her iki bant da göstermesi) olarak gösteriyorsa, aranan gen ile kullanılan prob arasında bir rekombinasyon olayı var demektir. Rekombinasyonların sayısı arttıkça takip edilen genenden uzaklaşırlar, azaldıkça gene yaklaşırlar. Eğer fenotipik verilerle moleküler aynı ise, aranan gen ya prob olarak kullanılan DNA'dır (prob DNA ile gen birlikte açılım gösteriyor) veya o probun çok yakınında bulunmaktadır. Burada, iki ebeveyn bitki arasında görülen polimorfizmi kullanarak, 20 adet F3 hattındaki RFLP açılımı görülmüştür. A ve B iki ebeveyn bitki; polimorfizm oklarla gösterilmiş olup, en üstteki bant ile onun hemen altındaki banta arasındadır. Üstteki bant A bitkisinden gelirken onun altındaki bant B bitkisinden gelmektedir. Her iki bantın görüldüğü hatlar heterozigottur.

Yine ıslahçı, bitkisini bir başka bitki ile (genelde o karakteri taşımayan bir bitki ile) melezleyerek Mendel açılımlarına bakarak karakteri kodlayan gen hakkında bilgi (gen sayısı) edinebilir. Ancak, bu çalışmalar ıslahçıya hiçbir zaman o geninin bitkinin hangi kromozomunda ve neresinde olduğunu bildirmedeği gibi, o karakteri kodlayan genin nükleotid zinciri ve karakteri oluşturan proteinin yapısı hakkında da bilgi vermez. İşte moleküler biyoloji bu bilgileri verme olanağı tanıdığı gibi, o geni izole etme, geni istenilen şekilde değiştirebilmek ve yeniden bitkiye aktarılabilir olanağına da tanımaktadır. Genlerin teşhisinde kullanılan yöntemler ise şu şekilde sıralanabilir.

**Genetik homoloji:** Çeşitli durumlarda, organizmalar farklı olduğu halde, belirgin karakterler birbirlerine benzer genler tarafından kodlanmaktadır. Bu benzerlik, genleri teşkil eden nükleotidlerin sıralanmasında görülmektedir ve bu da homoloji olarak bilinmektedir. Bu durum bitkiler için de söz konusudur. Genetik homojiden yararlanılarak, yeni genler tespit etmek mümkündür. Örneğin, domateslerde yaşlılık geni kullanılarak, diğer bitkilerde (tütün, patates, biber vb) benzer karakteri (yaşlanmayı) kodlayan genler izole edilebilir. Eğer bir ıslahçı bu tekniği kullanmak istiyorsa, kendi bitkisinin (örneğin biber) gen kütüphanesini diğer bitkiden (örneğin domates) daha önce izole edilmiş bir gene tarar. Genlerdeki benzerlik oranına göre (% 50- 100) kendi kütüphanesindeki geni tespit eder ve sonraki çalışmasıyla genlerin benzerlik oranlarını saptar ve fonksiyonlarına, protein yapısına bakar.

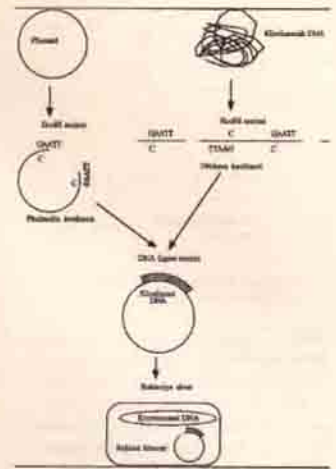
Bu teknik, ıslahçıya geniş bir olanak sağlamakta, hatta birçok durumlarda uluslararası araştırma istasyonları arasındaki gen alışverişini de beraberinde getirmektedir. Ancak ıslahçının bu tekniği kullanabilmesi için elinde bilinen bir genin olması zorunludur, aksi takdirde yeni bir

genin teşhisi için diğer yöntemlerin kullanılması gerekmektedir.

**Antibadi kullanımı:** Bazı durumlarda teşhisi istenilen genin ürünü bilinmemekte, fakat bu defa da genin yapısı, nükleotidlerin sıralanması bilinmemektedir. İşte böyle durumlarda antibadi kullanarak karakteri kodlayan geni izole etmek mümkündür. Bunun için eğer protein saf olarak mevcutsa, herhangi bir deney hayvanına (tavşan, fare vb) enjekte edilir ve hayvanın kanında oluşan antibadiler alınır. Diğer taraftan üzerinde çalışılan bitkinin gen kütüphanesi ekspresyon vektörlerinde (bu vektörler aynı plazmid veya kozmid vektörleri gibi olup, onlardan farkları, klonlanan genin bakteriyel hücrelerinde ekspresyon olması yani mRNA'ya dönüşüp protein ortaya çıkması) hazırlanır. Tüm kütüphane (ekspresyonu sağlandıktan sonra) daha sonra naylon bir membran üzerine sabitleştirilerek antibadi ile muamele edilir. Bu antibadilere (ikincil bir antibadi veririr (genelde bir başka hayvandan; örneğin, keçi, ilk antibadinin verilmesi ile elde edilir). Bu ikincil antibadiler belirli bir enzimle konjuge edilmiş, bir başka deyişle, antibadilere enzimler bağlanmıştır. Enzimin substratı (etki ettiği madde) verildiği zaman, membran üzerinde ilk antibadinin bağlandığı bakteri koloni-

sinin yerinde bir renk oluşumu gözlenir ki, bu da istenilen genin tespiti demektir. Daha sonra detaylı çalışmalar ile yine genin yapısı hakkında bilgi edinilir. Bu tekniğin kullanılabilmesi için en önemli koşul gen ürününün (proteinin) bilinmesidir. Bitki ıslahçıları çok az durumda (örneğin yumrulara depo proteinleri) genetik ürününü bilebilmektedir. Dolayısıyla bu teknik istenileni verememektedir.

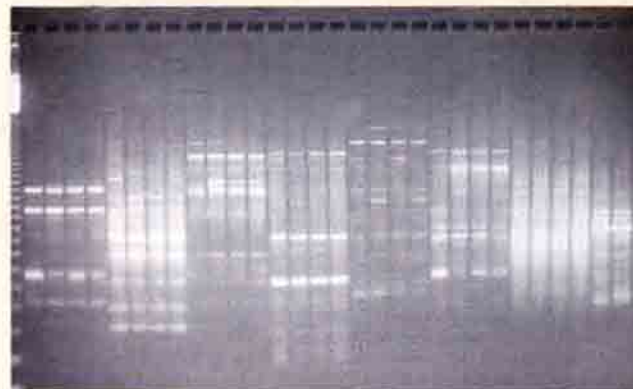
**Mutasyon:** Birçok durumda bitki ıslahçıları takip ettikleri karakteri kodlayan genlerin yapısını bilemedikleri gibi, bu genlerin ürünleri olan proteinler hakkında da yeterli bilgiye sahip olamamaktadırlar. Örneğin, bitki patojenlerine dayanıklılık sağlayan genlerin yapısı son iki yıla kadar bilinmemekteydi. Hatta, bu genlerin ne zaman (patojen saldırdıktan önce mi yoksa sonra mı?) ve nerede (enfeksiyon noktasında mı yoksa etraftaki hücrelerde mi?) ekspresyon olduğu da tam olarak açıklığa kavuşmamıştı. Ayrıca gen ürünü, protein, hakkında da yeterli bilgi bulunmamaktaydı. Böyle durumlarda, karakteri kodlayan geni tespit etmek için, bitki herhangi bir mutajen (mutasyon oluşturan, UV ışığı, X-ışınları veya nötron ile bombardıman etme gibi veya çeşitli kimyasalları kullanma) ile muamele edilerek mutan tipler (karakter



Şekil 2. Gen klonlama işlemi

iermeyen) elde edilebilir. Daha sonra bu mutanlara anaç bitkinin tüm genetik kütüphanesi aktarılarak (transformasyon tekniği kullanılarak) mutan bitkiye yeniden aynı karakter kazandırılabilir (complementary mutation). Bu teknik, bakteri genetiğinde çok kullanılan ve kısa zamanda sonuç verebilen bir teknik olmasına rağmen, bitki genetik çalışmalarında istenilen sonucu verememiştir. Her ne kadar ilk önceleri teorik olarak ideal görünmüş ise de, tütün ve *Arabidopsis* bitkilerinde yapılan çalışmalar bu tekniğin çok uzun bir zaman gerektirdiğini (binlerce klonun bitkiye transferi gerekmekte) ve her bitki için uygulanamayacağını (bitkilerin genom büyüklüğü çok farklılık göstermekte) ortaya koymuştur.

Herhangi bir mutajen ile muamele yerine alternatif mutasyon teknikler de mevcuttur ve bitki mutasyon çalışmalarında da başarı ile kullanılmaktadır. Bunlar aşağıdaki gibi sıralanabilir. 1) transpozon tekniği: Bazı genler kromozomlar üzerinde buldukları yerden bir başka yere hareket edebilir ve sığrama yeteneğine sahiptirler. Böyle genler yeni yerlerindeki genetik materyali-DNA zincirini- inaktif etmekte ve bunun sonucunda da fenotipe belirgin bir değişiklik meydana getirmektedir (mutasyon olayı). Böyle



mede çok faydalı olduğu gibi, yüzlerce farklı primer çok kısa sürede taranarak, kısa yoldan sonuca ulaşır. Resimde 8 farklı primer kullanılarak 4 farklı çeşitte DNA bantlarının oluşumu araştırılmış ve yine çeşitler arasındaki polimorfizm aranmıştır.



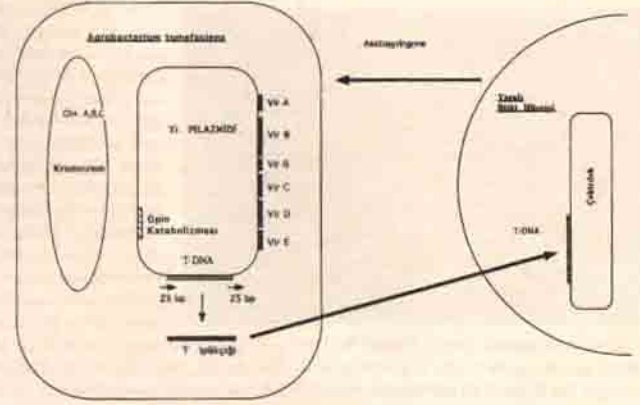
**Şekil 3. Transpozon (Ac) tekniği kullanılarak hastalıklara dayanıklılık sağlayan tek, dominant bir genin mutasyonu ve fenotipe bakarak mutantların seçimi. Ac, mısır bitkisinden elde edilen transpozon; R, homozigot dayanıklı (resistant) alel; r, homozigot hassas alel.**

genler, hareket edebilen (transposable) gen olarak bilinmekte, mısır ve aslanagözü gibi bitkilerde bulunduğu gibi bazı bakterilerde de mevcuttur. Söz konusu hareket eden genler klonlaşmış halde birçok laboratuvarında bulunmakta ve kullanılmaktadır. Bu tekniğin uygulanması ise şu şekilde olmaktadır; teşhisi istenilen genin fenotipi iyice belirlendikten sonra homozigot olan bitkiye transpozan geni aktarılır. Elde edilen transgenik, gen aktarılmış, bitki o fenotipe (örneğin hastalığa dayanıklılık) sahip olmayan bir başka kültür (homozigot hassas) ile melezlenir ve F1 generasyonu elde edilir. Bu F1'lerden binlercesi taranarak fenotipteki değişmeye (dayanıklılık reaksiyonu yerine hassaslık reaksiyonu) bakılır (melezlemede mayoz döneminde transpozan geni bulunduğu yerden sıçrayarak birçok geni inaktif edeceğinden yeni mutantlar ortaya çıkacaktır). Bu karşıt melezleme işlemi sadece fenotipteki mutasyonu ortaya çıkarır (Şekil 3).

Bir diğer yol ise, transpozan geni aktarılan homozigot bitki kendine melezlenir ve bu defa da elde edilen döller test edilir. Ancak, burada sadece takip edilen fenotipteki mutasyon değil, aynı zamanda diğer mutasyonlar da ortaya çıkacağından işleri zorlaştırmaktadır. Transpozan sonucu elde edilen mutasyonlardan, aranan gen tespit edilip, klonlanabilir. Bunu yapmak için de, klonla-

ma tekniği veya PCR tekniği kullanılır. Klonlamak için, mutant bitkinin genomik DNA'sı transpozan geninin dışından olacak şekilde enzimlerle parçacıkların uçları liganz enzimi kullanılarak birbirlerine bağlanır. Daha sonra bunlar *E. coli* bakterisine aktarılır ve antibiyotikli ortamda seçilir. Transpozan geninin yanında herhangi bir antibiyotige (kanamisin gibi) dayanıklı bir gen de bitkiye verildiğinden sadece ve sadece bu klonu taşıyan bakteri hücreleri o ortamda yaşayabilir. Elde edilen klonlardan, transpozan geninin etrafındaki DNA parçacığı (bitki genomu transpozan geninin dışında kesildiği için genomun o kısmından ilave olarak bilinmeyen bir DNA parçacığı da izole edilir) kesilerek izole edilir. Bu DNA parçası kullanılarak ana bitkinin genomik kütüphanesi taranarak fenotipi kodlayan gen izole edilmiş olur. Bu teknik bakteri genetiğinde rutin halde kullanılmaktadır. Bitkilerde ise, mısır bitkisinde *Coellobolus carbo-nium*, domates bitkisinde *Gladosporium fulvum* ve keten bitkisinde *Melampsora lini* funguslarına karşı dayanıklılık sağlayan genler başarı ile izole edilmiştir.

b) T-DNA mutasyonu. Bitki genlerinin teşhisinde kullanılan mutasyon çalışmaları izlenen bir başka yöntem ise, *Agrobacterium tumefaciens*'in T-DNA'sının kullanılmasıdır. Herhangi bir bitkinin *Agrobacterium tumefaciens* ile transformasyonu (gen nakli) yapılmış ise, bakterinin bitkiye aktarmış olduğu T-DNA (transfer-DNA)'nin girmiş olduğu genomik bölgedeki genler inaktif olmaktadır (Şekil 4), bunun sonucunda da tipki transpozan tekniğinde olduğu gibi mutasyonlar (insertional mutagenesis) ortaya çıkmaktadır. Eğer bu mutasyonlar, üzerinde çalışılan bitki karakterde (fenotipte) ortaya çıkmış ise, bitki içerisine aktarılan T-DNA kullanılarak bu fenotipi kodlayan gen kolaylıkla izole edilebilmektedir. Bu tip bir mutasyon çalışması, *Arabidopsis* bitkisinde başarı ile kullanılmaktadır ve bu zamana kadar yüzlerce genin teşhisi bu yolla yapılmıştır. Bunun önemli iki nede-



**Şekil 4. Agrobacterium kullanarak yapılan bitki genetik transformasyon çalışmalarında T-DNA'nın bitkiye geçmesi. Gen aktarım aşamaları; 1- bakteri, kromosomal genleri (chv A, B, C) vasıtasıyla yaralı bitkiyle temas haline gelir; 2- yaralı bitkiden dışarıya çıkan fenolik bileşikler, özellikle asetosyringone, bakteri içerisine girer ve virA'yı indükler; 3-indüklenen virA ikinci bir geni, virG'yi indükler; 4-indüklenen virG, virA ve virG de dahil olmak üzere diğer bütün vir genlerini indükler; 5-virD gen ürünü, virC gen ürününün yardımıyla T-DNA'yı sağ ve sol sınır bölgelerden (25bp) keser ve sonuçta tek iplikçikli T-DNA molekülü oluşur; 6-ortaya çıkan T-DNA iplikçığı virE proteini ile sınırlı; 7-virE proteinleri bakteriyel hücrenin duvarlarında porlar oluşturur; 8-T-DNA bakteri hücrelerinden dışarı çıkarak bitki hücrelerine atılır ve çekirdek içerisindeki kromozomal DNA'ya entegre olur. Kromozom üzerinde T-DNA'nın girmiş olduğu yerlerdeki genler inaktif hale geçer ve bu genlerin çalışması engellenerek, sonuçta fenotipik mutasyonlar ortaya çıkar.**

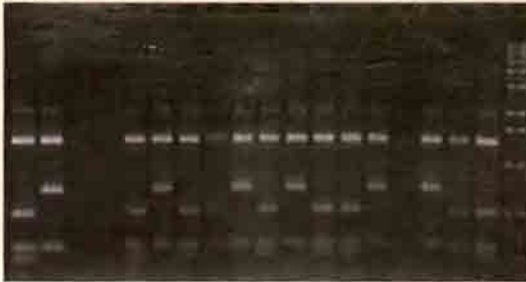
ni ise; a) *A. thaliana*'nın *Agrobacterium* ile kolaylıkla transform edilebilmesi, ve b) bu bitkinin genomunun çok küçük olmasından dolayı T-DNA'nın istenilen bir gen içerisine entegre olma ihtimalinin daha yüksek olması. T-DNA sistemi her ne kadar transpozan sistemine benziyor ise de, T-DNA ile aktarılan gen birki genomu içerisine girdikten sonra yerinden bir daha hareket etmemekte ve stabil halde yerinde kalmaktadır.

**Subtraktif hibridizasyon:** Bu tekniğin esası daha çok DNA kinetiğine dayanmaktadır. Bir birki örneğinin genomunda bulunup da diğer örneğindeki bulunmayan bir DNA sekansını zenginleştirmek için kullanılır. Başlangıç materyali, cDNA olduğu gibi (dokular arasındaki farklılıktan dolayı ortaya çıkan farklı mesajları seçmek için) genomik DNA da (bir genomda bulunup diğer genomda bulunmayan sekansları seçmek için) olabilir. Bu yaklaşımda, iki farklı DNA örnekleri birbirleri ile karıştırılır ve önce tek ip-

likçikli hale getirilir (denatürasyon) daha sonra da yeniden birleşmeleri için bekletilir. Bu zaman esnasında, her iki örnekte bulunan sekanslar eşleşerek çift iplikçikli hale dönmüş olacaktır. Sadece bir örnekte bulunan DNA parçacıkları, genelde eşleşecek bir sekans olmadığı için tek iplikçikli halinde kalacaklardır. Çift iplikçikli hale gelmiş, istenmeyen DNA parçacıklarının, çeşitli metodlar ile ayırmak mümkündür. Denatürasyon ve ayırma işlemleri defalarca tekrarlanarak, ortam arandan (bir örnekte olup diğerinde bulunmayan) DNA sekansı yönünden zenginleştirilir. Daha sonra bu DNA sekansları klonlanır ve başlangıç materyali ile test edilerek elde edilen genin doğruluğu ispatlanır.

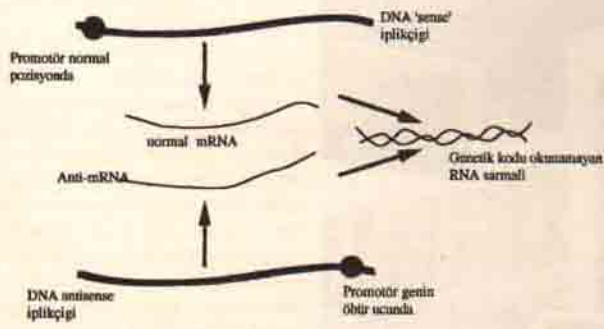
Daha az zaman ve iş gücü gerektirdiğinden, bu teknik diğer yöntemlere göre daha avantajlıdır. Bu tekniğin kullanılması ise, günümüze kadar birçok gen izole edilmiştir. Bunlara, anterlerde, doku yaşlanmasında, meristemlerde ve depo proteollerinde rol alan genler örnek verilebilir. Bazı durumlarda gen ve gen ürününün yapısı bilinmediği için (örneğin, hastalıklara dayanıklılık geni) bu teknik yine de yeterli olmamaktadır.

**Genetik Haritalama:** Bilindiği gibi, iki farklı birey melezlenirse, bu melezlemeden yeni bir F1 bireyi meydana gelir ki, bu birey anne ve babadan gelen mozaik bir genoma sahiptir. İşte genetik haritalama, bu bireylerdeki kalıtımın derecesini, bir başka deyişle genom üzerinde bulunan iki farklı noktanın birlikte yeni bir bireye aktarılma ihtimalini hesaplar. Bunlara ilaveten genetik



**Resim 3. CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) analizi. Bu teknik, RFLP kadar güvenlik ve RAPD kadar hızlı bir tekniktir. Esası genelde PCR tekniğine dayanmaktadır, fakat burada primerler 19-24 nükleotidden oluşur. Amplifikasyon edilen genomik DNA lardan genelde tek bir DNA bandı elde edilir ve bunlar arasında herhangi bir polimorfizm (bantlar arasındaki uzunluk farkı) yoktur. Elde edilen bu DNA'lar önce restriksiyon enzimleriyle kesilir (RFLP de olduğu gibi) ve daha sonra gel elektroforezde ayrıştırılır. Her ne kadar RFLP için kullanılan enzimler kullanılıyorsa da, PCR sonucu elde edilen DNA'yı kesmek, doğrudan bitkiden izole edilen DNA'yı kesmekten daha kolaydır. Dolayısıyla bu yolla bir polimorfizm bulmak daha kolaydır.**

ha çabuktur. Bulunan polimorfizm yine RAPD tekniğinde olduğu gibi, haritalamada kullanılır. Resimde CPKS markörleri kullanılarak saf hatların analizi görülmektedir: M: 1kb DNA ladder-DNA bantlarının uzunluğunun tespit etmede kullanılır, 1 ve 2: ebeveyn olarak kullanılan iki farklı bitkiden elde edilen DNA örnekleri, diğerleri ise bu ebeveynlerin melezlenmesi ile elde edilen saf hatlardan üretilen DNA örnekleri. PCR ile elde edilen DNA lar EcoR I restriksiyon enzimi ile kesilmiştir.



Şekil 5. Antisens tekniği kullanılarak ortamda bulunan mRNA'nın susturulması

haritalama, eşey hücrelerinden gelen, fakat somatik hücrelerde görülen iki farklı genomu (anne ve babanın) ayırmaya yardım eder.

Büyük oranda ekonomik desteğe sahip ve uluslararası düzeyde çalışan insan genom projesindeki teknolojik gelişmelerden yararlanılarak, bitki ıslah çalışmalarında da bir bitkinin genomunun haritası artık çıkarılabilmektedir. Hatta, genom haritalamaları bitkilerde insanlardaki çalışmalardan daha kolay olmaktadır. Çünkü, bitkilerde defalarca ve farklı çeşitler arasında melezlemenin yapılması, F<sub>9</sub>'lara kadar giderek saf hatlar elde edilmesi büyük bir avantajdır. Dolayısıyla ıslahçı, genom haritasından yararlanarak birkinin fenotipik özelliklerinden genotipik özelliklere harita sayesinde geçebilmekte ve karakteri kodlayan genin yerini bilmektedir. Ayrıca, melezleme çalışmalarında bu genin veya genlerin yeni bireylere aktarılıp aktarılmadığını takip etmede daha kısa sürede sonuç alabilmektedir. Haritalama usulü gen teşhisi ve izolasyonu için şu basamakları takip etmek gerekmektedir; 1- melezleme yöntemiyle, Mendel açılımından yararlanılarak, bilinen fenotipin kaç tane gen tarafından kodlandığı tespit edilir; 2- bu genin genomik harita üzerindeki yeri öncelikle morfolojik markırlar kullanılarak tespit edilir. Burada örnek olarak, *Arabidopsis* bitkisinde tüylülük genini verebiliriz. Bu gen 3 nolu kromozonda orta yerdedir. Eğer ıslahçı üzerinde çalıştığı genin (diyelim ki hastalıklara dayanıklılık geni) yerini tespit etmek için tüyllü olan bitki ile tüysüz bitkiyi melezlediğinde, F<sub>2</sub> ve F<sub>3</sub> de dayanıklılık geninin açılımına baktığında, eğer bu gen tüylülük karakteri ile birlikte açılım gösteriyorsa, ıslahçı aradığı genin doğrudan 3 nolu kromozomda olduğunu söyleyebilecektir. Bunun gibi diğer kromozomlarda da morfolojik markırlar bulunmaktadır; onları da aynı şekilde kullanabiliriz; 3- daha sonra bu genin yeri RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) Resim 1a ve b), RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) (Resim 2), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) (Resim 3),

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), STS (Site Tagged Sequences) ve Microsatellite gibi moleküller teknikler kullanılarak daha detaylıca tespit edilir. Ayrıca, harita üzerindeki diğer markırlar ile sıkı bir bağlantısı kurulur (genetik linkage); 4- bu noktada ıslahçı, çalışmalarını ister geriye melezlemeyle devam ettirir ve karakteri tamamıyla istediği bitkiye aktarır ve isterse moleküler düzeyde devam ettirerek genini izole eder. Bunun için de genin bulunduğu bölgede, lokusta, genetik uzaklık (markır ile gen arasındaki rekombinasyon sayısı) ile fiziksel uzaklık (markır ile gen arasındaki kb olarak DNA uzunluğu) arasındaki ilişki saptanır; 5- gene en yakın markırdan başlayarak, genomik klonlar (kozmid, faj veya YAC-suni kromozon) kullanılarak, gene doğru kromozomda yürüme yapılır; 6- kromozom yürümesi ile elde edilen ve geni taşıdığı bilinen klon tespit edilince, bu klon resesif fenotipteki bitkiye, örneğin hastalığa hassas bitki aktarılır. Sonuçta da o karakteri kodlayan geni taşıyan klon tespit edilmiş olur. Daha sonraki rutin çalışmalar (sekans analizi, promotörün yapısı vs) ile gen hakkında bilgi edinilir.

Bu tekniğin diğer tekniklere göre avantajları şöyle sıralanabilir; a) her bir basamak ıslahçı için önemli veriler sağlar; b) yapılan işlemler takip edilerek ortaya çıkan problemler kolaylıkla tespit edilebilir; c) üzerinde çalışılan bitkinin genom analizi de yapılarak, genom yapısı ve organizasyonu gibi ek bilgiler elde edilebilir; d) bu teknik ayrıca gen ürününe veya gen ekspresyonuna bağımlı kalmayıp işleri tesadüfe bırakmaz; e) haritalamada kullanılan markırlar, diğer alanlarda da ıslahçıya yardımcı olur. Bunlar şu şekilde sıralanabilir; çeşit sağlığının tayini, geriye melezleme çalışmalarında takip edilen karakterin kalıtımının kısa sürede belirlenmesi, germplazm koleksiyonlarında yabancı tipler ile kültürü yapılan bitkiler arasındaki varyasyonun tespiti, önemli karakterlerin in vitro düzeyinde seçilmesi, hücre füzyonlarından elde edilen hibritlerin analizi, bitki popülasyonlarının demografik

hareketlerinin ölçümü ve türler içerisinde ve türler arasındaki evrimsel gelişmelerin takibi.

## Antisens Teknolojisi

Biyoteknolojinin bitki ıslahçısına yardım ettiği bir başka alan da antisens teknolojisidir. Bu tekniğin esaslı şu şekilde özetlenebilir; Normalde DNA çift sarmalının sadece bir iplikçigi transkripsiyon olayını yani messenger RNA (mRNA)'yı oluşturmaktadır ve bu iplikçige 'sense' iplikçigi denilmektedir. Bunu tamamlayan diğer iplikçik ise 'antisense' iplikçik olarak adlandırılır. Bir gendeki promotörün, genin diğer ucuna yerleştirilmesiyle mRNA transkripsiyonu antisens DNA iplikçiginden başlatılmaya zorlanır, yani anti-mRNA oluşturulur (Şekil 5). Eğer bu olay bir hücre içerisinde gerçekleşecek olursa, bu anti-mRNA, normal mRNA ile birleşir ve translasyonu (mRNA'nın proteine dönüşümü) gerçekleştiremeyen bir RNA çift sarmalı meydana getirir.

Bu bilgilerin ışığı altında, klonlaşmış bir genin antisensini hazırlanarak bitkiye aktarılır (transformasyon) ve transgenik bitkiler elde edilir. Bu bitkilerde, söz konusu genlerin etkilerinin azaltılması ve onların tamamıyla susturulmasına bakılır.

Bu teknik çeşitli kültür bitkilerinde başarıyla kullanılmıştır. Örneğin, domateslerde olgunlaşmadan sorumlu poligalakturonaz enziminin etkisi geciktirilerek muhafaza süresi uzatılmıştır. Bir süs bitkisi olan petunyada, çiçeklerdeki pigmentleri oluşturan enzimler etkilenerek, çiçek rengi kırmızıdan beyaza kadar değiştirilmiştir. Kolza bitkilerinde, yağ asitlerinin kompozisyonunu değiştirilerek yağların kalitesi iyileştirilmiştir. Yine kolza bitkilerinde yaşlanmayı geciktirerek tohumların daha dolgun olması sağlanmıştır.

Yukarıdaki açıklamalardan da anlaşılacağı gibi, biyoteknoloji bitki ıslahçısına çok büyük avantajlar sağlamaktadır. Burada hemen belirtelim ki, "ıslah" terimiyle, geleneksel anlamda bitkilerin melezleme yaparak aranılan karakterlerin takibi şeklinde değil, kültürü yapılan bitkilerin genetik düzeyde iyileştirilmesi için yapılan in vivo ve in vitro çalışmaları anlaşılmalıdır. Yine "ıslahçı" terimiyle, bu iyileştirme çalışmalarına katılan araştırmacı topluluğu (agronomist, fitopatolog, entomolog, doku kültürüçüsü, moleküler biyolog, vb) kastedilmektedir. Moleküler tekniklerin biriki ıslahına katkılarında dolayı, yepyeni bir alt bilim dalı doğmuştur ki, bu da moleküler destekli bitki ıslahı veya moleküler bitki ıslahı adı altında yerini almıştır.

Mahtout Tür

Yrd. Doç. Dr., Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antalya

## Lazerler ve Vaat Ettikleri

Lazer aygıtları ilk olarak 1960 yılından Maiman tarafından geliştirilmelerinden bu yana teknolojinin ilerlemesine paralel olarak gelişme göstermişler ve özellikle de tıp ve cerrahide oldukça yaygın kullanım alanı bulmuşlardır.

Son yıllarda lazerlerin tıbbin çeşitli dallarında olduğu kadar, dişhekimliğindeki kullanım alanları da oldukça yoğun ilgi çekmektedir. Her ne kadar yeni kullanım alanı bulan teknikler bütün sorunları kökten çözüyorlarmış gibi görünseler de, kullanım alanlarını doğru saptayabilmek için sağlam verilerle oturan araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ağız içi lazer uygulamaları henüz geleneksel yöntemlerin yerini tutabilecek aşamaya gelememiştir. Ancak 1960'lardan bu yana, özellikle de son yıllarda teknolojik açıdan gelişen aşamalar lazerlerin dişhekimliğinde, kullanım alanları konusunda, gelecek vaat ettiklerini göstermektedir. Çeşitli lazer tipleri yine bazı özel durumlarda ideal olarak sunulsa da, halen bistürinin yerini tutamamaktadırlar. Ülkemizde maalesef kompozit/beyaz dolguların sertleştirilmesi için kullanılan ışın aleti hekimler tarafından hastalara lazer aygıtı olarak gösterilmekte ve hastaların yanlış bilgilenebilmesine neden olmaktadır.

1960'da ilk dizayn edildiği günden bu yana 600 değişik alanda kullanıma sunulan lazerler, tıbbin birçok alanında olduğu gibi, dişhekimliğinin de ilgisini çekmiştir. 1960'lardan bu yana değişik lazer türleri, diş üzerindeki çürüğün uzaklaştırılması işleminde kullanılmaya çalışılmış, ancak bu konuda da geleneksel tedavi yöntemlerine üstün bir duruma gelinemiştir.

Tıp ve dişhekimliğindeki uygulamalarda, kullanımına göre lazerleri 2 genel sınıfa ayırabiliriz;

1- Soft lazerler: Aft gibi çeşitli ağız lezyonlarında uygulamak ağrıyı azaltmak ve iyileşmelerini hızlandırmak, iltihap ve ödemi azaltmak, iyileşmeyi ve doku rejenerasyonunu hızlandırmak, aşırı duyarlı dişlerdeki kaynaşmayı ortadan kaldırmak amacı ile kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan soft lazerler, helyum-neon (He-Ne), galyum-arsenik (Ga-As) ve gallium-alüminyum-arsenik lazerlerdir.

2- Cerrahi hard lazerler: Dişhekimliğinde kullanılan hard lazer türleri CO<sub>2</sub>, argon ve Nd:YAG lazerlerdir. Argon lazerlerinin dişhekimliğindeki kullanım alanları kısıtlıdır. Beyaz dolguların sertleştirilmesi işlemlerinde, koyu renk eldesinde, kanamalı lezyonların

#### Lazer Kullanımı Sırasında Alınması

#### Gerekli Tedbirler

Lazerin rutin kontrolü  
Yanıcı aletlerin uzaklaştırılması  
Yangın tehlikesi  
Gözün korunması  
Genel anestezik  
Doku zararını engellemesi  
Kontrollü dokuların korunması  
Güçlü aspirasyon, efektif maske kullanımı

#### Lazerin Avantajları

Geniş görüş alanı  
Kanamanın minimal olması HIV, mental retarded, cardiac problemi hastalar, hemorajik lezyonlar  
Operasyon zamanının az olması  
Sterilizasyon  
Minimal ağrı ve şişlik  
Postoperatif anesteziye ihtiyacı azalması  
Postoperatif minimal yara bütülmeleri ve skar oluşumu  
Nüks riskinin azalması  
Kontrollü dokuda minimal zarar  
Hastanın kabul edilebilirliği fazla olması

uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır. Dişhekimliğinde en çok kullanılan alanı bulan lazerler türleri CO<sub>2</sub> ve Nd:YAG lazerlerdir. FDA, 1990 yılında bu tür lazerlerin gingivektomi, frenektomi, çeşitli hiperplazik ve hemorajik lezyonların uzaklaştırılması işlemlerinde uygulanabilirliğini onaylamıştır. Bu tür lazerler çürük kaldırma işlemlerinde de kullanılırlar da, her iki lazer türünde de etki edilecek dokuların sınırlarının saptanamaması, etraf dokulara da zarar verilebilmesi nedeni ile uygulamaların henüz deneysel aşama da kalmasına neden olmaktadır. Bu lazerlerin ortamı steril etme özelliğinden yararlanılarak kanal tedavisi işlemlerinde, kanal içerisindeki (publisher) gerektirir. Bugün elektronik arşivler, aşağıda anlatıldığı gibi, bu sistemden editör kadrosunu ve basımını, elektronik dergiler de sadece basımını kaldırmışlardır.

Bu lazer türlerinin dışında Er:YAG, Ho:YAG ve Excimer lazerler de, özellikle kemik cerrahisinde kullanılmak üzere geliştirilmeye çalışılmaktadır. Daha önce de belirtildiği gibi lazerlerin yapabilecekleri konusunda 1990 yılında FDA'nın yayınladığı raporda insan sert dokularında çalışabilmek için henüz daha çok araştırmaya ihtiyaç olduğu, ancak yumuşak doku cerrahisindeki belirli işlemlerde, CO<sub>2</sub>, Nd:YAG ve argon lazerlerin kullanılabilirliği belirtilmiştir.

Lazerlerin kullanım alanlarından bahsettikten sonra bir kere daha lazer kullanımı sırasında dikkat edilmesi gereken birçok kural olduğu ve bu kuralara uyulmaması halinde geri dönüşümü olmayan kazalara, hasarlara neden olunabileceği unutulmamalıdır.

Istanbul Dişhekimleri Odası

#### Kaynakça

- Myers T.D. Lasers in Dentistry: JADA 1991, Jan; 47:50  
Pick R.M. and Colvard M.D. Current Status of Lasers in soft Tissue Dental Surgery. J Periodontal 1993, 64: 589-602  
Midda M and Renton-Harper P. Lasers in Dentistry, Brit Dent; 1991; 170: 343-346



## Elektronik Dergi ve Arşivler

Günümüzde 'yayımlamak' kelimesi yeni bir anlam kazandı. Yüzyıllardır yayımlamak bir aracı-yayıncı kadrosu ve basımevi olan bir kişi veya kuruluşu- kısaca yayımlayıcıyı (publisher) gerektirir. Bugün elektronik arşivler, aşağıda anlatıldığı gibi, bu sistemden editör kadrosunu ve basımını, elektronik dergiler de sadece basımını kaldırmışlardır.

### Elektronik Arşivler

Elektronik yayımlamanın gerçeğe dönüşebileceğinin ilk göstergesi fizik alanından geldi. Araştırma fizikçileri birbirleriyle yaklaşık 15 yıldır elektronik olarak haberleşiyor, makalelerini yayına göndermeden önce önyayınları paylaşıyorlar. 1991 yılının Ağustos ayında bir teorik fizikçi olan Paul Ginsparg, bu önyayınları Los Alamos Ulusal Laboratuvarı'ndaki bir konak bilgisayarda toplamaya başladı. Bu bilgisayar önyayınları depoluyor ve kullanıcıya önyayınları sadece başlığını ve özetini e-postalıyor. Kullanıcı da başlığa ve özetine bakarak önyayını okuyup okumama kararını veriyor.

Fizik alanında şu anda 17 disipline hizmet veren bu sisteme, 1995 yılı boyunca, 13 000'in üstünde önyayın İnternet üzerinden gönderilmiş. Her gün 60 ülkeden binlerce fizikçi Los Alamos'taki bilgisayardan e-posta mesajları alıyor ve istediğinde konak bilgisayardan dosya transferi yapabiliyor. Bir önyayın gönderildikten sonra okuyucular bu önyayın hakkında yazara yorumlarını iletiyor, bu yorumlar yazar ta-

rafından sabit olarak gözden geçiriliyor ve gerektiğinde önyayında değişiklik yapıyor.

Bu arşiv sisteminin bu kadar iyi işleyişinin en büyük sebebi, kuşkusuz kullanılan yüksek teknolojidir. Ginsparg'ın sistemi kurmadan önce, böyle bir düşüncenin hayata geçirilebilirliğini test etmek için yaptığı hesaplar bir elektronik arşiv (e-arşiv) sistemi kurmanın 1991 yılı için zor olmadığını, fakat birkaç sene öncesinin teknolojiyle imkânsız olduğunu gösteriyor. Bu sistemi olası kılan, masutüstü iş istasyonlarındaki ve disk içinde bilgi saklama yöntemlerindeki gelişmelerdir.

Ginsparg bir önyayınları şekillerle ortalama 50 kilobitten oluştuğunu varsaymış. Bu varsayımına göre 2 000 dolardan ucuz, yüksek kalitede 1 gigabitlik bir disk sürücününün 20 000 önyayınlık kapasitesi vardır, bu da her önyayın yaklaşık 10 sentlik bir harcamayla depolanabileceğini gösterir.

Bu düşük bütçeli e-arşiv sisteminin en büyük avantajı sahip olduğu hızdır. Gönderilen önyayınlar birkaç saniye içinde arşivdeki yerini alırken, kağıt üzerine basılan dergilerde makale gönderme-yayım (gön-vay) süresi en az 3 aydır. Bu yüzden bilim adamları e-arşiv sistemini kullanarak kendi alanlarındaki en son gelişmelerden haberdar olurlar.

Fakat bazı dergi yayımlayıcıları (çoğunlukla tıp alanından), haftada şu an için 300 önyayın yayımlayan bu arşiv sisteminin, bir çalışmanın değerlendirilmesinin taraflı ve/veya yanlış olması ihtimalini artırdığını söylüyorlar. E-arşiv sisteminde yazar kendisi gelen yorumları değerlendirildiği ve gerekli gördüğünde kendi önyayınında değişiklik

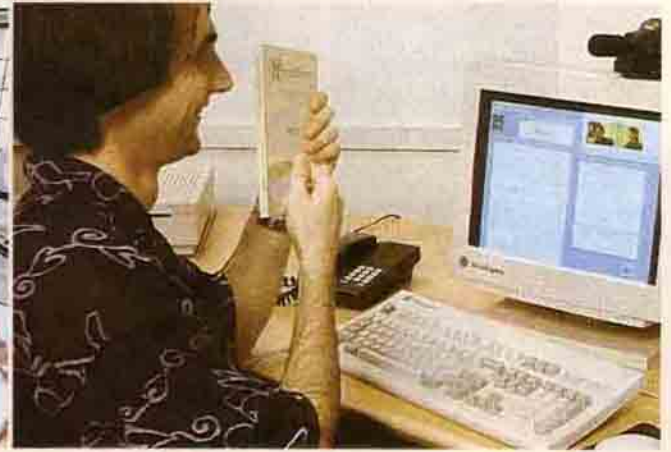
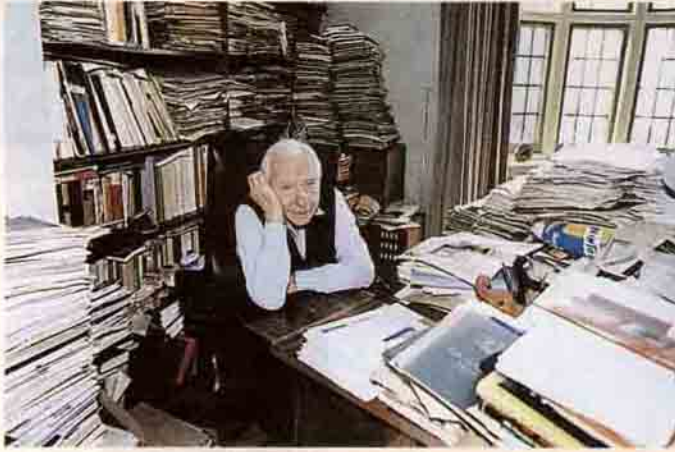
yaptığı için, bu düşünceye sahip kişilerin sayısı hiç de az değil.

E-arşiv sisteminin maruz kaldığı diğer bir eleştiri ise, bu sistemin her bilim dalında, fizikte olduğu gibi iyi işlemeceğidir. Özellikle tıp doktorları tıbbın fizik olmadığını; tarafsız hakemler tarafından değerlendirilmeyen fizik önyayınlarının kamu yararına hemen bir etkisi olmamasına rağmen, benzer bir uygulamanın, tıp alanında çoğu tıp doktorunun kabul etmeyeceği sonuçlar doğurabileceği söylüyorlar.

Fakat gelen tüm eleştirilere rağmen Los Alamos'taki e-arşiv sistemi, içerdiği 17 disiplinde çok büyük bir etkiye sahip. Bu yüzden diğer bilim alanlarında da e-arşiv kurma çalışmaları var. Örneğin, Southampton Bilişim Bilimler Merkezi müdürü Steven Harnard'a 1996 yılının başında, hükümet fonlarını kullanan Britanya Birleşik Bilgi Sistem Komitesi'nden 340 000 dolarlık ödenek çıkartıldı. Harnard bu ödenegi kullanarak Southampton'da biyoloji, tıp ve sosyal bilimleri içeren bir e-arşiv sistemi kuracak. Eğer bu arşiv sistemi de iyi işlerse, Harnard'ın dediği gibi, e-arşiv sistemlerinin her bilim alanında işleyebileceği kanıtlanmış olacak. Çoğu bilim adamının henüz kesin yargıya varmadığı e-arşiv sistemlerinin gelecekteki kaderini de belki de Southampton'da kurulan e-arşiv sisteminin işleyişi belirleyecek.

### Elektronik Dergiler

1995 yılının sonu itibarı ile İnternet üzerinde 100'ün üstünde hakeme değerlendirilmeli bilim ve teknik konulu dergi vardı. Bunların bir kısmı On-Line Journal of Plastic and Reconstructive Surgery ve Psychology gibi sadece elektronik diğer bir kısmı New Astronomy gibi yalnız arşiv için basılan kağıt versiyonu olan elektronik dergiler iken, halen kağıt üzerine basılan dergilerin elektronik versiyonu olanlar çoğunluktadır. Bu tip elektronik dergilerin de bir bölümü Applied Physics Letters ve the Journal of Biological Chemistry gibi kağıt versiyonlarının bütün makalelerini yayımlarken, diğer bölümü Science, Nature, BioTechniques ve Bilim ve Teknik gibi kağıt versiyonlarının içeriğini, makale özetlerini ve seçilmiş makaleleri yayımlar. Bu dört tip elektronik derginin sayıları hızla artmaktadır. Örneğin Elsevier Science yakın bir zamanda, yayımladığı 1 100 bilimsel derginin tamamının elektronik medyada yer alacağını duyururken, New Astronomy gibi tamamen elektronik yeni dergiler de çıkaracağını açıkladı. Diğer bir yayınevi John Wiley&Sons yayınladığı 326 derginin elektronikleşmesi için plan yapıyor. Öteki yayınevlerinin de yap-



tuğu açıklamalar göz önünde bulundurulursa, 1997 yılı içinde elektronik dergi (e-dergi) sayısının 2000'i geçmesi bekleniyor ki, sadece bu sayı e-dergilerin önümüzdeki yılda bilimsel medyada önemli rol oynayacağına habercisi.

**Yayın Hızı :** Yayınları e-dergilerin nasıl donatılacağı üzerinde tartışırken, tartışmadıkları tek konu dergilerinin "hız"a sahip olması gerektiğidir. Gön-yay süresini kısaltmak, e-dergilerin kağıt dergilere karşı en büyük üstünlüklerinden birisidir.

Gön-yay süresinin kısalmasını hem yazar hem de okuyucu ister. E-dergiler her ne kadar bu süreyi kağıt dergilere oranla kısaltmışlarsa da esas amaç bu süreyi kısaltılabileceği kadar kısaltmaktadır. Çünkü e-dergilerin diğer rakipleri bu süreyi birkaç saniyeye indiren e-arşivlerdir. Her e-dergi basım ve postalamaya basamaklarını yok ettiği için gön-yay süresini birkaç hafta kısaltmıştır. Makaleleri bir ciltte toplamak yerine her makaleyi kabulünden hemen sonra yayınlamak, bu süreyi birkaç hafta daha kısaltır. *Astrophysical Journal Letters* bu stratejiyle gön-yay süresini 20 haftadan 17 haftaya indirmiştir.

Bir makalenin yayımı, ancak gön-yay arasındaki tüm basamakları elektroniklerleştirmekle en etkili şekilde çabuklaştırılabilir. Burada bahsedilen makalenin gönderilmesi, hakemlerin değerlendirmesi, editörün yorumu, yazarın son kopyayı düzeltmesi ve makalenin yayımına kadar her basamağın elektronikleşmesidir. Amerikan Fizik Topluluğu (APS) bu uygulamayı e-dergileri için, hakemlerine gerekli programları göndererek, hayata geçirmiş. İlginçtir, hakemlerin makaleyi elektronik olarak almaları değerlendirmeye mekanik olarak hızlandırmasının yanında hakemlerin de hızlı değerlendirmesine yol açmış. APS bu şekilde gön-yay süresini 3 aydan 1 aya kadar indirmiş bulunuyor.

En fazla prestij ve okuyucuya sahip kağıt dergiler çoğunlukla Amerika veya Avrupa kökenlidir. Bu dergiler ya ait oldukları ülkede

ya da işçi ücretlerinin ucuz olduğu Güneydoğu Asya ülkelerinde basılır. Türkiye'deki bir okuyucu için her iki durumda da gön-yay süresine bir de posta süresi eklenir. Bu yüzden küçümsenemeyecek sayıda yabancı dergi Türkiye'ye ya ait olduğu ayın sonunda ya da bir sonraki ayın başında gelir. Bu gecikme bazen abone olunan derginin tüm önemini yitirmesine yol açar. Örneğin ayın gök olaylarını inceleyen bir astronomi dergisi ait olduğu ayda gelmezse önemini kaybeder. Diğer yandan e-dergiler, nerede hazırlanırsa hazırlansın, elektronik ortamda birkaç saniyede okuyucuya ulaşır.

### Elektronik Üstünlükler

**Görüntü ve Ses:** İnternet tabii ki, sahip olduğu hızdan çok daha fazla şey sunuyor. Çoğu e-dergi bilgisayar ortamında görüntü ve ses avantajını da kullanıyor. Örneğin, *New Astronomy* ve *Journal of Image Guided Surgery* gibi dergiler ses ve görüntü simülasyonlu makalelere yer veriyor.

**Tarama İşlemleri :** Çoğu e-dergide istenilen ciltlerde anahtar kelime taraması yapılabiliyor. Örneğin, *Science* dergisinde, yazılan anahtar kelimeler anlamları baz alınarak taranıyor ve tarama sonuçları 100 ile 1000 arasında bir puanla veriliyor. Yazılan anahtar kelimeyle yüksek derecede bağlantılı makaleler (800-1000 puana sahip), bu kelimeyi içermeseler bile araştırma sonucunda yüksek puanla gözüküyor.

**Otomatik Duyurma:** Bu sistemle okuyucular kendilerini ilgilendiren konu ve yazarları e-dergilere bildiriyor ve e-dergilerde istenilen makaleler yayınlanırsa okuyuculara e-posta ile duyuruyor.

**İlgili Makalelere ve Bilgi Bankalarına Bağlanma:** On-Line Computer Library Center (OCLC) tarafından yayınlanan e-dergilerde, okunan makale ile ilgili tüm makalelere göz atılabiliyor. Küçümsenemeyecek sayıda e-dergi de kendi alanlarındaki bilgi bankalarına bağlanmış durumda. Örneğin *Gene-ComBIS*, *Elsevier Science*'a ait

olan *Excerpta Medica* bilgi bankasına ve nükleotid ve protein dizilerinin saklandığı Avrupa Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nın (EMBL) bilgi bankalarına bağlanmış durumda. Bu dergide yer alan makalelerdeki gen dizilerinin üstüne fare ile tıklayınca, dergi sizi direkt olarak EMBL'in bilgi bankalarına bağlıyor.

### Ücret Politikası

E-dergilerde henüz tam olarak çözülmemiş mali sorunlar var. Bunun başında dergi ücretlerinin ne kadar olacağı değil, bu paranın nasıl alınacağı gelir. Çoğu e-dergi şu an için ücretsiz olmasına karşın bütün yayımlayıcılar e-dergilerini site lisanslarıyla ücretli hale getirmeyi planlıyor. Tamamen ve öncelikli elektronik dergiler için tek ücret söz konusu iken, kağıt versiyonu olan dergiler için iki alternatif vardır: Ya elektronik versiyonunu kağıt dergi abonelerine ücretsiz sunmak (tek tip abonelik) ya da hem elektronik hem kağıt dergi aboneliği için biraz daha fazla ücret almak. Örneğin *Applied Physics Letters*, kağıt dergi abonelerini %10'luk fiyat artışıyla derginin elektronik versiyonuna da abone ediyor. Fakat bu dergi gibi çoğu e-dergi, kağıt abonelerini kaybetmemek için sadece elektronik aboneliğe izin vermiyor. Bunun yanında öncelikli elektronik bir dergi olan *New Astronomy* okuyucusuna senelik yaklaşık 400 dolar tutan elektronik ve kağıt dergi aboneliği sunuyor.

Henüz yolun başındayken site lisansları kiralamak kabul edilebilir bir çözüm olmasına rağmen, yakın gelecekte bu çözüm geçerliliğini yitirecek. Gelecekte birçok dergi ve bilgi bankası birbirine bağlanacak ve bu bağ, kullanıcıyı hangi derginin site lisansına sahip olursa olsun tüm dergi ve bilgi bankalarına erişebilir kılacak. Bu yüzden site lisans sisteminin çok uzun ömürlü olamayacağı düşünüyor.

E-dergilerdeki mali sorunlar henüz tam olarak çözülmemiş olsa da, her yayımlayıcının ortak görüşü, bu problemin her zaman diliminde

bu veya şu şekilde çözüleceğidir. Aslında bu mali sorunları da abartmamak gerekir. İnternet kurulduğundan beri sorunlarını beraberinde getirmiş ve bu sorunlar kısa zamanda çözülmüş tür.

Şu bir gerçek ki, bilimsel yayın dünyası günümüzde kağıt dergilerin hakimiyetinde. Bugüne kadar bu hakimiyeti bir tek fizik alanında e-arşivler bozdu. Bu yüzden çoğu bilim adamının e-arşivlerden büyük bir beklentisi var. Kağıt dergileri tamamen ortadan kaldırmaları da, e-arşivlerin gelecekte en az birkaç alanda söz sahibi olacağı bekleniyor.

Diğer taraftan e-dergilerin de ellerindeki en büyük silah, e-arşivlere ve kağıt dergilere karşı sahip oldukları belirgin üstünlüklerdir. Her geçen ay sayıları hızla artan bu dergilerin, kendi alanlarında etkilerinin ve okuyucu sayılarının belirgin bir şekilde artacağı düşünülüyor.

Katedilen elektronik gelişmelere rağmen, gelecekte kağıt dergilerin ortadan kalkacağını, e-arşiv sisteminin öncülü *Ginsparg* ve *Harvard* hariç, kimse savunmuyor. Elektronik dergi hareketinin öncülerinden APS'nin şef-editörü Benjamin Bederson'un dediği gibi ne insanların ekran üzerinde dergi okumaktan hoşlanacağı ne de elektronik medyanın kağıt dergilerinin yerini alacağı tam olarak açıktır.

Önümüzdeki yıllarda bilimsel yayın alanında üçlü bir yarışma olacağı bekleniyor, bu yarışmanın galibinin de (eğer olursa) yakın gelecekte belirlenemeyeceğini düşünüyorum.

Serkan Alkan

*H.P. Foa-Edebiyat Fakültesi  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul*

- Kaynaklar**  
 Taubes G. "Science Journals Go Wired", *Science*, Cilt 271, Sayfa 764-766, 9 Şubat 1996.  
 Taubes G. "Electronic Preprints Point the Way to Author Empowerment", *Science*, Cilt 271, Sayfa 767-768, 9 Şubat 1996.  
 Taubes G. "Publication by Electronic Mail Takes Physics by Storm", *Science*, Cilt 259, Sayfa 1246-1248, 26 Şubat 1993.  
 Kinsler J., Angell, M. "The Internet and the Journal", *New England Journal of Medicine*, Cilt 332, Sayfa 1709-1710, 22 Haziran 1995.  
<http://www.elsevier.nl>, <http://www.aas.org>  
<http://www.springer.de>, <http://www.wiley.com>