

ÖZET

cry1Ac VE *cry2A* GENLERİNE SAHİP BÖCEĞE DAYANIKLI TÛTÛN HATLARININ GELİŐTİRİLMESİ

DİNÇ, Tolga

Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Genetik Mühendisliđi Anabilim Dalı

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Allah BAKHSH

Eylül 2016, 57 sayfa

Türkiye, Őark tütünü piyasasında dünyada önemli bir yere sahiptir. Tütün üretimini sınırlandıran en büyük sebeplerden biri de zararlı böceklerdir. Bu tez çalışmasında, gen piramit stratejisi kullanarak *cry1Ac* ve *cry2A* isimli iki adet böcek dirençlilik sağlayan genlerin *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla, Basma ve Nail Türk tütün hatlarına aktarılarak böceklere karşı dayanıklı tütün hatları geliştirilmiştir. Çalışmada, gen aktarım amacıyla kullanılan pK2AC plazmidi, 35S promotörü, T-DNA bölgesinde ayrıca *npt-II* ve GUS-INT genlerinin de içermektedir. Elde edilen analizler sonucunda, Basma hattına ait 22 adet ve Nail hattına ait ise 3 adet bitkisinde hem GUS pozitif ekspresyonu hemde genomik PCR ile *cry1Ac*, *cry2A* ve *npt-II* genlerinin bitki genomlarında entegrasyonu teyit edilmiştir. ELISA testi de transgenik bitkilerin *cry1Ac* proteinini 0,017-0,607 µg/g konsantrasyonları arasında sentezlediğini göstermiştir. Transgenik hatlarında, yapılan biyoanaliz testleri sonucunda elde edilen transgenik hatların patates güvesi (*Phthorimea operculella*) karşı dirençli olduğu görülmüştür. Hatların her ikisine ait bitkilerde T₁ nesilde de kanamisin içeren MS ortamında antibiyotiğe karşı direnç göstererek yabancı genin başarıyla bir sonraki nesle aktarılabilindiğini göstermiştir. Transgenin varlığını sürdüren transgenik tütün hatları bir tütün ıslahı programı için mükemmel gen kaynakları olabilirler.

Anahtar kelimeler: Böceklere karşı dirençlilik, Őark tütünü, genetik transformasyon, transgenik hatlar, bitki ıslah programları

SUMMARY

DEVELOPMENT OF INSECT RESISTANT TOBACCO LINES EXPRESSING *cry1Ac* AND *cry2A* GENES

DİNÇ, Tolga

Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Agricultural Genetic Engineering

Supervisor : Assistant Prof. Dr. Allah BAKHSH

September 2016, 57 pages

Turkey, has an important place in the world trade of oriental tobacco. One of the main constraints in agricultural production of tobacco is huge damages incurred by insects. The study aimed to transform two tobacco lines Basma and Nail to encode insect resistance using pyramid gene transfer strategy. The plasmid pK2AC contained both genes under control of 35S promoter; that also harbored GUS-INT with in T-DNA region for earlier screening of putative transformants. Consequently, the genomic PCR results confirmed integration of *cry1Ac*, *cry2A* and *nptII* genes in 22 plants from line Basma and 3 plants from Nail. ELISA results showed variation in expression of *cry1Ac* protein among transgenic plants varying from 0,017 µg/g of fresh tissue weight to 0,607. Bioassay results with potato tuber moth (*Phthorimea operculella*) showed significant mortality of targeted pest on primary transformants. Furthermore, T₁ transgenic progeny also confirmed resistance on MS selection medium containing kanamycin. These transgenic lines can serve as an excellent source of germplasm for an efficient tobacco breeding programme.

Keywords: Insect resistance, Oriental tobacco, genetic transformation, transgenic lines, plant breeding programmes