

Genetiği Değiştirilmiş Doğal Bitkiler: Yatay Gen Transferi

İskender Tiryaki^{1*} 

ÖZET

Günümüzde genom dizileme ve biyoinformatik alanında elde edilen başarılar daha önce tek hücreli organizmalar ile sınırlı olduğu düşünülen yatay gen transferlerinin (YGT), bitkiler dahil çok sayıda gelişmiş organizmada da yaygın bir şekilde var olduğunun anlaşılması genetiği değiştirilmiş organizma (GDO)'lar kapsamında yapılan tartışmalara farklı bir bakış açısı sunmaktadır. Özellikle biyoteknoloji alanında ortaya konan genom düzeltme ve nanobiyoteknoloji gibi yeni metodolojik yaklaşımlar ile yakın gelecekte bunlara ait tarımsal ürünlerin GDO özelinde yapılan tartışmalardaki yeri ve bu ürünlerin doğal ürün kategorisinde değerlendirilip değerlendirilmeyeceği büyük bir merak konusudur. Alglerden yüksek bitkilere kadar farklı organizmalar arasında DNA, RNA ve organel genomu gibi değişik boyutlarda ortaya çıkan genetik materyal transferlerinin bitki ıslahı açısından ele alınması ve ortaya çıkan yeni bilgiler ışığında bitkilerde dayanıklılık mekanizmalarının geliştirilmesi kendi içerisinde önemli bir potansiyel barındırmaktadır. Ancak güncel metodolojik yaklaşımlar kullanılarak yakın gelecekte ortaya çıkacak ürünlerin de GDO kapsamındaki tartışmalara dahil edilmesi hem ilgili teknolojilerin gelişmesine hem de ürünlerinin potansiyel kullanımlarının sınırlandırılmasına neden olabilecektir. Bu nedenle genetik modifikasyonlar ile GDO kavramlarının farklı bir bakış açısı ile ele alınarak yeniden değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu çalışmanın amacı bitkilerde doğal olarak meydana gelen YGT ve genetik modifikasyon kavramını GDO bakış açısı ile yeniden ele almak ve ilgili alanda yetersizliği ve eksikliği olduğu düşünülen tanımlayıcı bir GDO terminolojisini ortaya koymaktır. Bu nedenle ayrıştırıcı ve daha tanımlayıcı olması için GDO teriminin Evrimsel GDO, (eGDO), Tarımsal GDO (tGDO) ve Biyoteknolojik GDO, (bGDO) şeklinde sınıflandırılması ilgili alanda yapılan tartışmalara önemli katkılar sunacaktır.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş

28 Nisan 2021

Kabul

07 Haziran 2021

ANAHTAR KELİMELER

GDO,
Genetik
modifikasyon,
bitki,
terminoloji

¹ Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Canakkale Onsekiz Mart University, Terzioğlu Campus, 17000 Canakkale/TURKEY

Correspondence Author: tiryaki46@yahoo.com

Genetically Modified Natural Plants: Horizontal Gene Transformation

ABSTRACT

Current achievements on genome sequencing and bioinformatics revealed that horizontal gene transformation (HGT) is not limited to single cellular organisms and is very common in several developed organisms as well, including plants which brought a new perspective on debate about genetically modified organisms (GMOs). There is a big curiosity whether or not agricultural products of new methodological approaches such as genome editing and nanobiotechnology will be classified as natural products or as GMOs. Transduction of genetic materials such as DNA, RNA or organelle genomes among various organisms brings its own potential to develop resistant/tolerant mechanisms under the light of new knowledges when it is considered with plant breeding perspectives. However, including the products of new methodological approaches into GMO discussions will limit both development of related technologies and the potential use of their products. Therefore, concepts of genetic modifications and GMOs need to be reevaluated with a new perspective. The aims of this study are to evaluate the concepts of HGT and GMOs with plant perspective and to provide a more descriptive terminology for GMOs which are currently insufficient to reveal all type of genetic modifications. To be parser and more descriptive, GMOs term can be classified as Evolutionary GMOs (eGMOs), Agricultural GMOs (aGMOs) and Biotechnological GMOs (bGMOs). This new classification can make a significant contribution to GMOs dilemma.

ARTICLE HISTORY

Received
28 April 2021
Accepted
07 June 2021

KEY WORDS

GMO,
genetic modification,
plant,
terminology

Giriş

Ülkemiz dahil tüm dünya genelinde genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) kapsamında yapılan tartışmalarda bilimsel içerikleri birbirlerinden çok farklı olan doğal bitki, atasal bitki, genetiği korunmuş bitki ve organik bitki gibi ifadelerin aynı kavramlar gibi ele alınıp tartışıldığı görülmektedir. Bu tartışmaların odak noktasında ise hali hazırda tarımı yapılan hibrit bitkiler dahil tüm kültür bitkilerinin genetiğinin değiştirildiği, bu bitkilerin insan ve hayvan sağlığı ile doğal vejetasyonun korunması adına bazı riskler taşıdıkları belirtilmekte [1-5] ve bunun çözümüne yönelik olarak da genetiği değişmemiş olduğu düşünülen yabani bitkiler ya da atasal tohumlardan elde edilen bitkilerin tüketilmesi gerektiği ifade edilmektedir [6-8]. Bu tartışmalara yakın zamanda uygulanmaya başlanan genom düzeltme [9, 10] ve nanobiyoteknoloji [11-13] gibi yeni metodolojik yaklaşımlar ile bunların ürünlerinin de dahil edilmesi yukarıda belirtilen tartışma konusunu daha da karmaşık hale getirmektedir. Söz konusu tartışmalarda hem genetik değişikliğin kendisinin ve hem de bu değişikliklerin kimin tarafından yapıldığının çok önemli olduğu görülmektedir. Özellikle genetik değişikliğin kendisinin önemli olduğu durumlarda bitkiler ile virüs, bakteri, fungus, parazit bitki ve böcekler arasında, insan müdahalesi olmadan gerçekleşen yatay ya da diğer ifade ile lateral gen transferlerinin nasıl değerlendirilmesi gerektiği büyük bir merak konusudur. Bitki ıslahı açısından değerlendirildiğinde biyoteknoloji, nanobiyoteknoloji ya da genom düzeltme

yöntemlerine ait bitki ve bu bitkilere ait ürünlerin hem terminolojik hem de içerik bakımından sadece GDO üzerinden değerlendirilmesinin yeterli olmadığı/olmayacağı, konunun yasal düzenlemeler dahil güncel bir bakış açısı ile yeniden ele alınması ve değerlendirilmesi gerektiği şüphe götürmeyen bir gerçektir. Bu çalışma bitkilerin evrimleşme sürecinde doğal olarak kendiliğinden meydana gelen kalıtsal genetik değişiklikler ile canlı organizmalar arasında meydana gelen genetik materyal alış-verişleri, özelde GDO genelde ise tüm tarımsal biyoteknolojik ürünler kapsamında yapılan tartışmalara ve ilgili alanda kullanılan terminolojiye farklı bir bakış açısı getirmek amacıyla hazırlanmıştır.

Bitkilerde Doğal Yollarla Meydana Gelen Dikey ve Yatay Gen Transferleri

Dikey gen transferi (DGT) eşeyssel üreme yoluyla bir jenerasyondan diğerine (örneğin, ebeveynlerden yavru döllere) meydana gelen gen, gamet hücreleri düşünüldüğü zaman genom(ların) geçişleri olarak tanımlanırken yatay gen transferi (YGT) evrimsel süreç içerisinde filogenetik olarak birbirinden uzak canlı türleri arasında ya da sitoplazmik organeller arasında meydana gelen gen ya da genetik materyal transferlerini ifade etmek için kullanılmaktadır [14, 15]. Bitki ıslahı açısından bakıldığında DGT'nin ağırlıklı olarak aynı bitki türü içerisinde yer alan bitki çeşitleri, hat ya da genotipleri arasında, daha düşük oranlarda ise türler arası hatta cinsler arasında (wide crosses) doğal ya da farklı araçlar yoluyla meydana gelen melezlemeleri kapsadığı görülmektedir [16]. Nitekim patojenlere karşı dayanıklı bir bitki çeşidinde dayanıklılık genini hedef bitki çeşidine aktarmak için yapılan melezleme ve devamında uygulanan geriye melezleme çalışmaları tür içi melezlemelerin pratikte uygulanan en yaygın örneğini oluşturmaktadır [17-20]. Diğer taraftan türler arası meydana gelen DGT'ne ise kolza türleri arasında hem doğal hem de insan eliyle gerçekleş(tiril)en melezlemeler [21], cinsler arasında meydana gelen DGT'ne ise özellikle son yıllarda dayanıklılık genlerinin buğday genomuna transferi amacıyla yapılan melezleme çalışmaları örnek olarak gösterilebilir [22, 23]. Bu açıdan değerlendirildiğinde ister doğal ister insan eliyle yapılsın tüm melezleme ürünlerinin aslında bir gen transferi ya da diğer bir ifade ile genetik modifikasyon uygulaması olduğu açıktır. Hatta söz konusu melezlemelerin bir sonucu olarak genler arasındaki bağıllık (linkage) durumları göz önüne alındığında dikey gen transferi kavramında adı geçen "gen" ifadesinin boyut değiştirerek daha büyük DNA parçalarını ve hatta bir adım öteye

giderek kromozom ya da genom boyutunda meydana gelebilen genetik modifikasyonlara neden olabileceği bilimsel bir gerçektir [24]. Örneğin, klasik ıslah uygulamalarında genom katlanma çalışmaları sonucu oluşturulan allo- ve auto-poliplloid bitkiler [25-27] ile kromozom ve bu kromozomlar üzerinde yer alan genlerin genom içerisindeki fonksiyonlarının anlaşılmasına yönelik olarak ortaya konan yer değiştirilmiş kendilenmiş hatlar [28-31] ya da kromozom eliminasyon çalışmaları [32] bu uygulamalara örnek olarak gösterilebilir [33-35]. Diğer taraftan melezleme yoluyla sitoplazmik erkek kısır bitkiler geliştirmek amacıyla özellikle polen alıcısı hatlarda yapılan mitokondriyal organel transferlerinin de bu kapsamda değerlendirilmesi gerektiği açıktır [36, 37].

Gerek prokaryot ve gerekse ökaryotların evrimsel süreçleri göz önüne alındığında YGT'nin biyoçeşitliliğin oluşması ve mevcut canlıların değişen çevre şartları ile biyotik ve abiyotik stres faktörlerine uyum sağlayabilmeleri açısından çok önemli bir yer tuttuğu görülmektedir [38, 39]. Günümüzde artan sayıdaki ökaryot genomuna ait genom dizisinin varlığı, güncel genomik ve biyoinformatik yaklaşımlarla birlikte değerlendirildiğinde YGT'nin ortak yaşama alanlarında yaygın olarak birlikte bulunan canlı türleri arasında meydana gelme olasılığının uzak habitatlardaki canlı organizmalara göre çok daha yüksek olduğunu göstermektedir [40]. Bu nedenle, parazit (virüs, fungus, bakteri ve parazit bitkiler) ve bitki hücreleri arasında doğrudan meydana gelen temasın bitkilerde ortaya çıkan doğal gen transferlerinin oluşmasında önemli bir mekanizma olduğu kabul edilmektedir [14, 15, 41]. Örneğin, heterotrof ve tam parazit olan bitkiler emeç (haustoria) adı verilen yapılarla konaklarına bağlanmaları sadece ihtiyaç duydukları besin elementlerini değil aynı zamanda fonksiyonel genetik materyale ait ara ürünler (mRNA ve miRNAs) ile genetik materyalin kendisinin de transferine imkân sunduğu anlaşılmaktadır [42-45]. Gerek parazit bitkiler ile onların konakları arasında meydana gelen tek yönlü ilişkide gerekse baklagil bitkileri ile *Rhizobium* spp. bakterileri arasında meydana gelen simbiyotik yaşam formlarında ortaya çıkan YGT'nin temelinde hem konak hem de organizma arasında ortaya çıkan esansiyel besin ihtiyaçlarının giderilmesinin belirleyici olduğu [46, 47] ve evrimsel süreçte bu ihtiyaçların uzun vadede garanti altına alınmasını sağlayabilmek amacıyla karşılıklı olarak konak ve parazitler arasında doğal gen ya da genetik materyal transformasyonlarının meydana geldiği anlaşılmaktadır [48]. Nitekim yapılan birçok çalışma canavar otu ve küsküt gibi tam parazit bitkilerde mRNA gibi transkripsiyon ürünlerinin geçiş yaptığını ve bu durumun

yatay gen transferinin ara bir formu olabileceğine işaret etmektedir [44, 49, 50]. Daha sonra yapılan çalışmalar ise söz konusu genetik materyal geçişlerinin transkriptom ürünlerinden daha ziyade doğrudan genomik DNA parçaları olduğunu göstermiştir [43]. Hatta ökse otu gibi parazit bitkilerde bu genetik materyal geçişlerinin mitokondriyal transferi boyutunda olduğu belirlenmiştir [51, 52]. Bu bitkilerde YGT'ne konu olan genetik materyalin özellikleri ve çeşitliliği incelendiğinde, transfer olan genlerin aynı gen ailesinden geldikleri ve söz konusu gen geçişlerinin tesadüfi olmaktan daha ziyade canlının değişen çevre şartlarına adaptasyonuna yönelik dinamik modifikasyonlar ve uyarlamalar olduğu anlaşılmaktadır [14].

Ortak yaşam alanları temelinde parazit bitkiler dışında, bitkiler ile doğrudan ilişkili olan patojen bakteriler arasında meydana gelen YGT'nin en iyi örneklerden birini *Agrobacterium* spp. ile bitkiler arasında meydana gelen doğal gen transferleri gösterilebilir. Toprak bakterileri olan *Agrobacterium tumefaciens* ve *Agrobacterium rhizogenes* türlerinin patojen ırkları kendilerinin sentezleyemedikleri, ancak ihtiyaç duydukları karbon ve azotça zengin bileşikler (opinler) bitki hücrelerinde sentezletirmek ve sonrasında sentezlenen bu bileşikler kendi ihtiyaçları doğrultusunda kullanabilmek amacıyla plasmid DNA'larında yer alan çok sayıda geni (onkogenler) bitki hücresine aktararak bitki genomuna entegre etmektedir [53, 54]. Bu tür doğal gen transferlerinin varlığı başta tütün (*Nicotiana* spp.) ve nevrus otu (*Linaria vulgaris*) olmak üzere doğrudan insan gıdası olarak tüketilmeyen birçok bitki türünde doğal olarak meydana gelen genetik mühendisliğine örnek olarak gösterilmektedir [54-56]. Nitekim bitkilerde ilgili gen transferinin nasıl gerçekleştiğinin anlaşılması, günümüzde genetik mühendisliği yolu ile arzu edilen gen(ler)in hedef bitkiye transfer edilerek transgenik ya da diğer bir ifade ile genetiği değiştirilmiş (GD) bitkilerin elde edilmesi imkanı doğmuştur [57]. Yakın zamanda yapılan metagenomik analizler ise *A. tumefaciens* ve *A. rhizogenes* türlerine ait iki farklı transfer DNA (T-DNA) dizi homologunun (*IbT-DNA1* ve *IbT-DNA2*) kültürü yapılan tatlı patates bitkisinde (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) hem var olduğunu hem de farklı bitki dokularında işlevsel olduğunu göstermiştir [58]. Bu bulgular günümüzde insanlar tarafından doğrudan tüketilen ve doğal olarak kabul edilen diğer birçok bitki türünde de doğal genetik mühendisliği ürünlerinin bulunabileceğini ve bu durumun GDO kavramına farklı bir bakış açısı sunacağı değerlendirilebilir. Karşılıklı etkileşim halinde olan ve ortak yaşam alanlarını paylaşan organizmalar arasında meydana gelen YGT'nin

diğer örneklerini ise nematodlar ile toprak bakterileri arasında [59-62] ve insan mide florasında yer alan mikroorganizmaların kendi aralarında ortaya çıkan YGT'leri gösterilebilir [62]. Tüm bu sonuçlar yatay gen transferinin olabilmesi için ilgili organizmalar arasında fiziksel temasın bir gereklilik olduğunu, YGT'nin heterotrofik bitkilerde ototrofik bitkilere göre çok daha yüksek oranlarda gerçekleştiğini ve bu bitkilerin konaklarına ait çok sayıda geni paylaşabildiklerini göstermektedir [63].

Diğer taraftan hem meyve hem de sebze türleri arasında çok uzun süreden beri geleneksel olarak yapılan aşılama uygulamaları bitkiden bitkiye doğal yollarla gerçekleşen ve hücrel teması gerektiren YGT'nin diğer bir örneğini oluşturmaktadır. Temelinde dayanıklı uzak akraba türler ile ticari çeşitler arasında gerçekleştirilen bu uygulamalarda doğrudan hücrel temasın bir sonucu olarak genomik, organel DNA parçaları ya da transkripsiyon ürünlerinin (mRNA, RNAi) hücreler arasındaki mikroskobik boşluklar (plasmodesmata channel) ve mikrokesecekler yolu ile karşılıklı paylaşıldığı belirlenmiştir [64, 65]. Ancak güncel literatür bilgileri özellikle söz konusu YGT'ne yönelik geçişlerin sadece aşı bölgesindeki hücreler ile sınırlı olduğunu, bu taşınımların apikal meristem hücrelerine ve dolayısıyla çiçek tomurcuklarındaki generatif hücrelere ulaşmadığı ve bu nedenle sonraki döllere aktarılmadıklarını göstermiştir [66]. Aşı noktasındaki hücreler arasında meydana gelen genetik materyal transferleri sonucu ortaya çıkan kimerik genlerin ne kadar süreli ve hangi seviyede işlevsel oldukları, aktarılan genetik materyalin lokal hücre genomlarına entegre olup olmadıkları hali hazırda cevaplanması gereken sorular arasında yer almaktadır.

YGT ile Aktarılan Genetik Materyalin İşlevselliği

YGT ile aktarılan çoğu genetik materyalin işlevsel (fonksiyoner) olmadığı belirtilmekle birlikte, işlevsel olan genlerin ise kendi içerisinde iki ana grup altında değerlendirilebileceği rapor edilmiştir [48]. Bunlardan birincisi alıcı organizmada daha önce var olmayan ve aktarılan gen ile yeni bir fonksiyon kazanılmasını sağlayan genler (innovative transfers)'dir. Diğeri ise alıcı organizmada mevcut bir genin fonksiyonunu üstlenen veya genomda daha önce var olan ancak fonksiyonunu kaybeden bir genin işlevini yerine getiren ve böylece hücre içindeki devamlılığın sağlanmasına imkan sunan sürdürücü (maintenance transfer) genler [48]. Yenilikçi gen fonksiyonu kazanan genlerin genelde alıcı organizmanın biyotik ya da abiyotik stres şartlarından korunma ve adaptasyon kabiliyetlerinin artırılmasında etkili olduğu belirlenmiştir [48]. Bu nedenle,

YGT ile yapılan ve işlevsel olan birçok genin bu kapsamda yer alan genler olduğu görülmektedir [48, 67]. Yapılan çalışmalar YGT ile aktarılan yabancı DNA'nın hedef genom içerisine doğrudan entegre olmadığı, bir seleksiyona ya da kontrole tabi tutulduktan sonra RNA seviyesinde transkripsiyona uğrayarak işlevsellik kazandığı yönündedir [48]. Bunun en güzel örneğini küsküt genomuna YGT ile aktarılan genlerin yabancı DNA gibi algılanarak siRNAs mekanizması ile sessizleştirilmeleri gösterilebilir [68]. Diğer taraftan protein kodlayan genlerin transkripsiyon ve devamında translasyonu sonucunda genom seviyesinde bir işlevsellik kazandıkları ve kazanılan işlevselliğin organizmanın hayatta kalması bakımından bir avantaj sağladığı anlaşılmaktadır. Nitekim yüksek otlak ayrığı (*Thinopyrum elongatum*) genomuna funguslardan YGT ile aktarılan *Fb7* (*Fusarium* başak yanıklığı 7) geninin kodladığı glutathione S-transferaz (GST) enzimi sayesinde bu bitkiler *Fusarium* patojenleri tarafından üretilen trichothecene toksinlerinin zararlı etkilerinden (detoksifikasyon) korunarak patojene karşı tolerant hale gelebildikleri belirlenmiştir [69]. Buğday üretiminde büyük kayıplara neden olan bu patojene karşı ekmeklik buğdaya aktarılan aynı genin buğdayda da aynı patojene karşı toleranslık sağladığı gösterilmiştir [69]. Bunun tam tersi bir durum ise çok yakın zamanda tütün beyaz sineğinde (*Bemisia tabaci*) gösterilmiştir. Tütün beyaz sineğinin genomunda bulunan bitki spesifik *BtPMT1* (*Bemisia tabaci* fenolik glukozit melonyl transferaz 1) geninin kodladığı fenolik glikozit melonyl transferaz enzimi sayesinde, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve tütün beyaz sineğine toksik olan fenolik glikozitlerin zararlı etkisinden korunabildikleri tespit edilmiştir [70]. Aynı çalışmada *BtPMT1* geninin ters transkripsiyonuna ait dizinin domates bitkisine aktarılması sonucunda elde edilen transgenik domates ile beslenen böceklerde *BtPMT1* genin sessizleştiği ve bunun sonucu olarak böceklerde fenolik glikozitlere dayanıklılığın kalktığı ve böceklerde %100'lere varan ölümlerin meydana geldiği gösterilmiştir [70]. Bu bilgi ve bulgular YGT'leri ile parazit organizmalardan bitki genomlarına ya da bitki genomlarından parazit organizmalara doğal yollarla aktarılan işlevsel genlerin bitki ıslahı programlarında yenilikçi yaklaşımlarla ele alınarak dayanıklılık ıslahı açısından etkili bir şekilde kullanılabileceğine işaret etmektedir. Günümüzde bitki dahil çok sayıda organizmaya ait genom dizi bilgisi kullanılarak yapılacak biyoinformatik analizler çok sayıda yeni işlevsel genin belirlenmesini ve bu genlerin bitki ıslahı açısından doğrudan kullanımlarına imkân sunacaktır.

Diğer taraftan YGT ile aktarılan genetik materyal hedef organizma genomuna entegre olamaz ise bu durumda söz konusu DNA ya konak hücrenin genetik kontrol mekanizmaları ile yabancı genetik materyal olarak algılanarak parçalanmakta ve böylece zararsız hale getirilmekte ya da mutasyona neden olan bir DNA dizisi olarak genoma entegre olmaktadır [48, 71]. Bu tip bir entegrasyona örnek olarak neredeyse tüm canlı genomlarında yaygın olarak bulunan ancak oransal olarak ökaryot genomlarının büyük bir bölümünü oluşturan hareketli (transposable) DNA elementleri (TEs) gösterilebilir [72, 73]. Bu nedenle, TEs ökaryot genomlarının hem yapısal hem de fonksiyonel modifikasyonlarında büyük önem taşırlar. Ancak daha ziyade epigenetik düzenlemelerle ve dikey gen geçişi ile ilişkili olan TEs, yatay gen geçişlerine konu olan işlevsel genlerdeki gibi konağına avantaj sağlayabilecek önemli bir görev üstlenmedikleri belirlenmiştir [72].

Prokaryotlardan ökaryotlara doğru olan YGT'lerinde aktarılan genetik materyalin işlevsellik kazanması daha kompleks ve anlaşılması daha güç bir durumdur. Zira prokaryotlara ait genlerin transkripsiyon ve translasyon mekanizmaları ökaryotlara göre önemli farklılıklar göstermektedir [74]. Prokaryotlardan ökaryotlara doğru kalıtsal olarak meydana gelebilecek başarılı bir YGT'nde aktarılan genin işlevsel olabilmesi için ökaryot gen yapılarında yer alan intron-ekzon ve GC içerikleri yanında aynı zamanda ökaryotik promotor ve terminatör gen bölgelerinin de entegrasyonu gerekmektedir [48, 75]. Bu nedenle, YTG ile transfer edilen DNA parçasında intronların olması onların ökaryot genomlarında işlevsellik kazanmasında etkili olabileceğine işaret etmektedir [40, 76, 77]. Nitekim YGT ile aktarılan ve işlevsel olan birçok gende intronların varlığı yaygın olarak görülen bir durumdur [75]. Ancak bu intronların bazılarının genin kendisinden daha ziyade genin işleyişini kontrol eden 5'-UTR ya da 3'-UTR gen bölgelerinde lokalize olduğu belirlenmiştir [78]. Tüm bunlar YGT ile aktarılan genetik materyalin gen özelliğinde aktive edilmesinin engellenmesi ya da işlevsel olmasında belirleyici olmaktadır. Ayrıca YGT ile aktarılan genlerin hedef genoma entegrasyonlarının tesadüfi olmadığı, genellikle daha az korunaklı ve TEs'lerce zengin ya da daha az işlevsel gen bulunduran kromozom bölgelerine entegre oldukları gösterilmiştir [79].

YGT ile İşlevsel Genlerin Belirlenmesi

Her ne kadar güncel yaklaşımlar ile genetik materyal geçişlerinin tespit edilmesi geçmişe göre daha kolay olsa da hedef organizmanın dizi bilgilerinin elde edilmesi sırasında

meydana gelebilecek genetik materyal bulaşmalarının (kontaminasyonların) biyoinformatik analiz sonuçlarının hatalı bir şekilde yorumlanmasına neden olabileceği göz ardı edilmemesi gerekmektedir [80, 81]. Bu açıdan YGT sonucu transfer olan genetik materyale ait kaynağın doğru bir şekilde belirlenmesi oldukça önemlidir [82]. YGT'ne konu olan genetik materyalin belirlenmesinde iki temel problem ile karşılaşmaktadır. Bunların başında bakteri genomunun farklı organizmalardan köken alan çok sayıda DNA parçasına sahip olması gelmektedir [75]. Bu nedenle, YGT ile aktarılan gen aynı evrimsel süreç içerisinde diğer organizmalardan bakteri genomuna aktarılan ve dolayısı ile testin yapıldığı anda bakteriyel genomu olarak kabul edilen genetik materyalin tespit edilmesi sorunudur [80, 81]. İkinci sorun ise, filogenetik analizlerde kullanılan farklı yöntemsel yaklaşımlar, farklılaşmış gen kayıpları ve uygun olmayan taksonların bu amaçla seçilmesi genin kaynağının belirlenmesinde başka önemli sorunların yaşanmasına neden olabilmektedir [81]. Örneğin, *Escherichia coli* yatay gen geçişleri ve kayıplarının yaşandığı iyi bir model organizma olarak değerlendirilmektedir. Yaklaşık 5.000 adet protein kodlayan gene sahip olan bakterinin bütün tür ve suşları dikkate alındığında (pan-genome) bu organizmanın sahip olduğu gen sayısının 15.700'lere çıktığı, ancak bunların sadece %6'sının tüm *E. coli* ırklarında ortaklaşa paylaşıldığı rapor edilmiştir [38]. Yukarıda verilen örnekler genom dizilemesi ve biyoinformatik yaklaşımların etkin kullanılmaya başlandığı günümüzde YGT'ne konu olan genetik materyalin bitki ıslahı açısından ele alınarak ayrıca değerlendirilmesinin dayanıklılık ıslahı açısından çok önemli olabileceğine işaret etmektedir. Sonuçlar aynı zamanda YGT'ne konu olan ve bitki ıslahı açısından değerlendirmeye alınacak olan hedef genlerin belirlenmesinde çok dikkatli olunması gerektiğini de ortaya koymaktadır.

Genetik Modifikasyon, YGT ve GDO Terminolojisi

Terminolojik olarak “gen transferi” genetik materyalin bir yerden başka bir yere taşınması, bir organizmadan başka bir organizmaya doğrudan ya da farklı araçlar (vektörler) kullanılarak (canlı ya da cansız) aktarılması ve aktarılan genetik materyalin hedef canlı organizmanın genomuna kalıcı şekilde entegre olması anlamına gelmektedir. Genetik mühendisliğinde söz konusu genetik alış-veriş aracı olma laboratuvar şartlarında modern biyoteknolojik yaklaşımlar kullanılarak gerçekleştirilirken, klasik bitki ıslahı uygulamalarında genetik alış-veriş aracı olma tarla, sera ya da iklim odası/kabini gibi fiziki mekanlar kullanılarak melezleme ya da mutasyon gibi metodolojik

yaklaşımlar kullanarak gerçekleştirilmektedir. Özellikle klasik ıslah uygulamalarında hali hazırda kullanılabilir bir genetik materyal yoksa ya da arzu edilen bitki materyali mevcut değilse genetik tabanı birbirinden çok uzak olan bitkiler melezlenmekte ve devamında açılım gösteren F₂ jenerasyonlarında seleksiyon uygulamaları ile istenilen özelliğe sahip bitkiler belirlenmeye çalışılmaktadır [83-85]. Hatta bu uygulamalarda, melezlemede kullanılacak ebeveyn bitkiler bazen doğada uyumsuz oldukları ve normalde verimli döllere veremedikleri halde kontrollü şartlarda (*in vitro* tozlanma ve döllenme, embryo kurtarma, türler arası melezleme vb) melezlemeler yapılarak döl verebilir hale getirilebilmektedirler [86-88]. Ancak eğer melezlemeye girebilecek ebeveyn bitki materyali yoksa bu durumda fiziksel ya da kimyasal mutajenler kullanılarak hedef bitki genomunda tesadüfi kalıcı mutasyonlar oluşturulmakta ve bu mutantlar arasından arzu edilen özellikleri taşıyanlar mutant bitkiler tespit edilmeye çalışılmaktadır [89-91]. Yukarıda belirtilen gerek melezleme ve gerekse mutasyon uygulamaları sonucu elde edilen bitkilerin, hedef bitkinin DNA yapısında meydana gelen genetik değişiklikler esas alındığında “genetiği değiştirilmiş” bitki (GD bitki), yaygın olarak kullanılan diğer bir ifade ile GDO olarak tanımlanabileceği muhakkaktır. Ancak hedef bitkinin DNA yapısında meydana gelen genetik değişiklik ya da farklılıklar esas alınarak ortaya konan bu bilimsel gerçeğin GDO karşılığına, özellikle de klasik ıslah uygulamaları olan melezleme (örneğin, hibrit tohum) ve mutant bitkiler özelinde yapılan tartışmalara bir kaynak ya da dayanak noktası oluşturulmaması gerektiği, tam aksine yukarıda bilimsel esaslarla ortaya konan YGT ve DGT örneklerinde olduğu gibi günümüzde insanlar tarafından “doğal” ya da “genetiği değiştirilmiş” olduğu varsayılarak tüketilen birçok bitkinin aslında ne kadar “doğal” olduğunun sorgulanmasına ve bu yönüyle toplumun GDO algı ve bakışına yeni bir yaklaşım getiren bir durum tespiti olduğu tekrar vurgulanması gereken önemli bir konudur. Diğer taraftan eğer konu nihai ürün ya da canlı organizmanın “DNA yapısındaki değişiklik”ten daha ziyade değişikliğin elde edilmesinde kullanılan yöntemin kendisi (modern ya da klasik metotlar), genetik değişikliğin meydana getirildiği fiziki mekan (tarla, sera, laboratuvar) veya genetik değişikliğin oluşmasını sağlayan vektörün/aracının (virüs, fungus, bakteri, parazit bitki ve insan) özellikleri esas alınarak yapılacak bir değerlendirmede ise “GDO” kavramının bütün bu değişkenleri tek başına tanımlamak ve açıklamak için yeterli olmadığı, günümüzde konu ile yapılan bilimsel içerikten uzak tartışmalara kaynak teşkil ettiği ve etmeye devam edeceği görülmektedir. Bu nedenle,

GDO terminolojisinde kullanılacak genetik alış-verişe aracı olma ya da müdahale etmede kullanılan yöntemin, aracının nitelikleri ve meydana gelen genetik değişikliğin oluş mekanizmaları da dikkate alınarak birden fazla GDO tanımlamasının yapılması gerekliliği kendiliğinden ortaya çıkmaktadır. Yapılacak ayrıştırmada hedef organizmanın DNA yapısında meydana gelen değişikliğin “değiştirilmiş” ya da “değişmiş” olduğu da göz önüne alınarak ilgili alanda kullanılacak terminolojiyi buna göre uyarlamak daha da yerinde bir yaklaşım olacaktır. Zira nihai organizmanın DNA yapısındaki değişim “değişmiş” olarak kendiliğinden ortaya çıkabildiği gibi bu makale çerçevesinde ele alındığı üzere çoğu zaman insan ya da insanın dışındaki araçlar (virüs, fungus, parazit ya da böcekler) ile “değiştirilmiş” olarak da meydana gelebilmektedir. Yukarıda konu edilen bakış açısı ile güncel terminolojik kavramlar da göz önüne alındığında GDO terminolojisinin daha ayrıştırıcı ve daha tanımlayıcı olması bakımından Evrimsel GDO (eGDO), Tarımsal GDO (tGDO) ve Biyoteknolojik GDO (bGDO) şeklinde kullanılmasının daha yerinde olacağı değerlendirilmiştir. Her bir terminolojik ifadenin kapsam ve içeriği aşağıda ayrıca belirtilmiştir.

Evrimsel GDO (eGDO)

Geçmişten günümüze evrimsel süreç içerisinde kendiliğinden ortaya çıkan genetik modifikasyonları tanımlamak için kullanılacaktır. Yatay (horizontal) ya da lateral gen transferleri ile dikey (vertical) gen transferleri sonucu ortaya çıkan her türlü genetik modifikasyon ya da değişiklik eGDO kapsamında değerlendirilecektir. Bu kapsamda dikey gen transferi eşeyli üremenin bir sonucu olarak geçmişten günümüze genetik materyalin ebeveynden yavru döllere geçişi, tür içi ya da türler arası kendiliğinden (doğal) ortaya çıkan genetik modifikasyonları ifade ederken yatay gen transferi filogenetik olarak birbirlerinden uzak canlı organizmalar arasında aracısız ya da insan dışındaki canlı organizmalar aracılığı ile ortaya çıkan doğal genetik modifikasyonları tanımlamak için kullanılacaktır. Dikey gen transferleri genelde doğal bariyerler (tür içi vb) ile kontrol edilerek sınırlandırılırken, yatay gen transferlerinde böyle bir sınırlamanın olmadığı, çok farklı canlı türü arasında sadece oluş mekanizmaları bakımından değişebilecek genetik modifikasyonları içermektedir.

Tarımsal GDO (tGDO)

Tarımsal açıdan önemli olan bitki, hayvan, su ürünleri, böcek ya da mikroorganizmaların insan eliyle geliştirilmesi ya da kültüre alınması amacıyla klasik ya da geleneksel

yöntemler kullanılarak yapılan tüm gen transferi ya da genetik modifikasyonları ifade etmek için kullanılacaktır. Genetik modifikasyonun gerçekleştiği fiziksel mekanlardan (tarla, sera, laboratuvar vb.) bağımsız insan eliyle yapılan melezleme, mutasyon ve klonlama amacıyla yapılan doku kültürü uygulamalarının kendisi ve ürünleri bu çerçevede değerlendirilecektir. Bu kapsamda tGDO kavramı ve içeriği günümüzdeki GDO tartışmalarının üzerinde tarımsal açıdan önemli olan bitki, hayvan, su ürünleri, böcek ya da mikroorganizmaların DNA yapısında ıslahçılar tarafından oluşturulan genetik değişiklik ya da farklılıkları ifade etmek için kullanılacaktır.

Biyoteknolojik GDO (bGDO)

Genom düzeltme, nanobiyoteknoloji ve rekombinant DNA teknolojileri dahil laboratuvar ortamında modern biyoteknolojik metotlar kullanılarak elde edilen, insan dışındaki tüm genetik modifikasyonlar ve onların ürünlerini ifade etmek için kullanılacaktır. Doku kültürü uygulamaları ile elde edilecek somatik hibridizasyon ürünleri de bu kapsamda değerlendirilecektir.

Sonuç

Oluş şekli (metodolojisi) ve oluşmasına aracı olan vektör organizmadan (insan, virüs, bakteri, parazit bitki) bağımsız olarak kalıtım materyali olan DNA'da (tek bir nükleotit, gen, genler, kromozom, çekirdek genomu ya da organel genomları dahil) meydana gelen tüm modifikasyonların (ekleme, çıkarma, yer değiştirme ya da kopya sayısının artırılması) esasen kalıtsal bir genetik değişiklik ya da modifikasyon olduğu bilimsel bir gerçektir. Ancak transgenik bitkilerin elde edilmesinden itibaren günümüze kadar kullanılmaya devam edilen GDO kavramının genetik materyal üzerinde meydana gelen modifikasyonların kendisinden daha ziyade kullanılan metodolojik yaklaşımların ve insan aracılı olup olmadığı esasına dayandırılarak yapılması GDO kapsamında yapılan tartışmaları sonuçsuz bırakmaktadır. Bu tartışmalara günümüzde kullanılmaya başlanan genom düzeltme ve nanobiyoteknolojik ürünlerin de dahil edilmesi tartışmaları daha da içinden çıkılmaz bir hale sokmaktadır. Bu makale çerçevesinde terminolojik olarak ortaya konan eGDO, tGDO ve bGDO yaklaşımının GDO tartışmalarına farklı bir bakış açısı getirmesi ve genetik modifikasyon kavramının ayrıştırılarak tartışılmasına katkı sunması beklenmektedir.

Kısaltmalar

GDO: Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar; DGT: Dikey Gen Transferi; YGT: Yatay Gen Transferi; DNA: DeoxyriboNükleik Asit; mRNA: mesajcı RiboNükleik Asit; miRNAs: mikro RiboRükleik Asitler; T-DNA: Transfer-DNA; GD: Genetiği Değiştirilmiş; RNAi: RNA interferaz; siRNAs: küçük interferaz RNAs; *Fb7*: fusarium başak yanıklığı 7 geni; GST: Glutathione S-Transferaz; *BtPMT1*: *Bemisia tabaci* Fenolik Glukozit Melonyl Transferaz 1 geni; *IbT-DNA1* ve *IbT-DNA2*: *Ipomoea batatas*T-DNA1 ve *Ipomoea batatas*T-DNA2; TEs: taşınabilir elementler; UTR: ifade edilmeyen bölge; eGDO: Evrimsel GDO; tGDO: Tarımsal GDO; bGDO: Biyoteknolojik GDO

Kaynaklar

1. de Vendomois, J.S., et al., Debate on GMOs health risks after statistical findings in regulatory tests. *Int J Biol Sci*, 2010. 6(6): p. 590-8.
2. Keese, P., Risks from GMOs due to horizontal gene transfer. *Environ Biosafety Res*, 2008. 7(3): p. 123-49.
3. Steinhauser, K.G., Environmental risks of chemicals and genetically modified organisms: a comparison. Part I: Classification and characterisation of risks posed by chemicals and GMOs. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2001. 8(2): p. 120-6.
4. Firn, R.D. and C.G. Jones, Secondary metabolism and the risks of GMOs. *Nature*, 1999. 400(6739): p. 13-4.
5. Yoshimatsu, K., et al., [Current status in the commercialization and application of genetically modified plants and their effects on human and livestock health and phytoremediation]. *Yakugaku Zasshi*, 2012. 132(5): p. 629-74.
6. Duguma, H.T., Wild edible plant nutritional contribution and consumer perception in Ethiopia. *Int J Food Sci*, 2020. 2020: p. 2958623.
7. Magnusson, M.K., [Genetically modified plants; a threat to human health?]. *Laeknabladid*, 2012. 98(11): p. 577.
8. Key, S., J.K. Ma, and P.M. Drake, Genetically modified plants and human health. *J R Soc Med*, 2008. 101(6): p. 290-8.
9. Buyel, J.F., E. Stoger, and L. Bortesi, Targeted genome editing of plants and plant cells for biomanufacturing. *Transgenic Res*, 2021.
10. Bhat, M.A., et al., Mechanistic insights of CRISPR/Cas-mediated genome editing towards enhancing abiotic stress tolerance in plants. *Physiol Plant*, 2021.
11. Demirer, G.S., et al., Nanotechnology to advance CRISPR-Cas genetic engineering of plants. *Nat Nanotechnol*, 2021. 16(3): p. 243-250.
12. Kumari, P., S. Luqman, and A. Meena, Application of the combinatorial approaches of medicinal and aromatic plants with nanotechnology and its impacts on healthcare. *Daru*, 2019. 27(1): p. 475-489.
13. Ocoy, I., et al., Nanotechnology in plants. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2018. 164: p. 263-275.
14. Bock, R., The give-and-take of DNA: Horizontal gene transfer in plants. *Trends Plant Sci*, 2010. 15(1): p. 11-22.
15. Chen, R., et al., Adaptive innovation of green plants by horizontal gene transfer. *Biotechnol Adv*, 2021. 46: p. 107671.
16. Mavi, K., Biberlerde türler arası melezleme. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2020. 3(3): p. 386-706.
17. Bimpong, I.K., et al., Improving salt tolerance of lowland rice cultivar 'Rassi' through marker-aided backcross breeding in West Africa. *Plant Sci*, 2016. 242: p. 288-299.
18. Ellur, R.K., et al., Improvement of Basmati rice varieties for resistance to blast and bacterial blight diseases using marker assisted backcross breeding. *Plant Sci*, 2016. 242: p. 330-341.
19. Jugulam, M., et al., Transfer of dicamba tolerance from *Sinapis arvensis* to *Brassica napus* via embryo rescue and recurrent backcross breeding. *PLoS One*, 2015. 10(11): p. e0141418.
20. Vogel, K.E., Backcross breeding. *Methods Mol Biol*, 2009. 526: p. 161-9.
21. Wang, X., et al., Breeding histories and selection criteria for oilseed rape in Europe and China identified by genome wide pedigree dissection. *Sci Rep*, 2017. 7(1): p. 1916.
22. Li, H. and X. Wang, *Thinopyrum ponticum* and *Th. intermedium*: the promising source of resistance to fungal and viral diseases of wheat. *J Genet Genomics*, 2009. 36(9): p. 557-65.

23. Wulff, B.B. and M.J. Moscou, Strategies for transferring resistance into wheat: from wide crosses to GM cassettes. *Front Plant Sci*, 2014. 5: p. 692.
24. Jia, Y., et al., Indica and japonica crosses resulting in linkage block and recombination suppression on rice chromosome 12. *PLoS One*, 2012. 7(8): p. e43066.
25. Huang, G. and Y.X. Zhu, Plant polyploidy and evolution. *J Integr Plant Biol*, 2019. 61(1): p. 4-6.
26. Jiao, Y. and A.H. Paterson, Polyploidy-associated genome modifications during land plant evolution. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2014. 369(1648).
27. Sattler, M.C., C.R. Carvalho, and W.R. Clarindo, The polyploidy and its key role in plant breeding. *Planta*, 2016. 243(2): p. 281-96.
28. Reddy, K.R., et al., High-temperature and drought-resilience traits among interspecific chromosome substitution lines for genetic improvement of upland cotton. *Plants (Basel)*, 2020. 9(12).
29. Li, P.T., et al., Comparative transcriptome analysis of cotton fiber development of upland cotton (*Gossypium hirsutum*) and chromosome segment substitution lines from *G. hirsutum* x *G. barbadense*. *BMC Genomics*, 2017. 18(1): p. 705.
30. Wu, J., et al., Genetic effects of individual chromosomes in cotton cultivars detected by using chromosome substitution lines as genetic probes. *Genetica*, 2010. 138(11-12): p. 1171-9.
31. Saha, S., et al., Genetic dissection of chromosome substitution lines of cotton to discover novel *Gossypium barbadense* L. alleles for improvement of agronomic traits. *Theor Appl Genet*, 2010. 120(6): p. 1193-205.
32. Zhao, X., et al., Fertilization and uniparental chromosome elimination during crosses with maize haploid inducers. *Plant Physiol*, 2013. 163(2): p. 721-31.
33. Galbraith, D.W., et al., Analysis of nuclear DNA content and ploidy in higher plants. *Curr Protoc Cytom*, 2001. Chapter 7: p. Unit 7 6.
34. Suda, J. and P. Travnicek, Reliable DNA ploidy determination in dehydrated tissues of vascular plants by DAPI flow cytometry-new prospects for plant research. *Cytometry A*, 2006. 69(4): p. 273-80.
35. Zhang, Y., C. Zheng, and D. Sankoff, Pinning down ploidy in paleopolyploid plants. *BMC Genomics*, 2018. 19(Suppl 5): p. 287.
36. Melonek, J., et al., The genetic basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in wheat. *Nat Commun*, 2021. 12(1): p. 1036.
37. Zhang, B., et al., Transcriptome analysis implicates involvement of long noncoding RNAs in cytoplasmic male sterility and fertility restoration in cotton. *Int J Mol Sci*, 2019. 20(22).
38. Danchin, E.G., Lateral gene transfer in eukaryotes: tip of the iceberg or of the ice cube? *BMC Biol*, 2016. 14(1): p. 101.
39. Emamalipour, M., et al., Horizontal gene transfer: from evolutionary flexibility to disease progression. *Front Cell Dev Biol*, 2020. 8: p. 229.
40. Soucy, S.M., J. Huang, and J.P. Gogarten, Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat Rev Genet*, 2015. 16(8): p. 472-82.
41. Yue, J., X. Hu, and J. Huang, Horizontal gene transfer in the innovation and adaptation of land plants. *Plant Signal Behav*, 2013. 8(5): p. e24130.
42. Zhang, Y., et al., Parasitic plant dodder (*Cuscuta* spp.): A new natural *Agrobacterium*-to-plant horizontal gene transfer species. *Sci China Life Sci*, 2020. 63(2): p. 312-316.
43. Zhang, D., et al., Root parasitic plant *Orobancha aegyptiaca* and shoot parasitic plant *Cuscuta australis* obtained Brassicaceae-specific strictosidine synthase-like genes by horizontal gene transfer. *BMC Plant Biol*, 2014. 14: p. 19.
44. Yoshida, S., et al., Horizontal gene transfer by the parasitic plant *Striga hermonthica*. *Science*, 2010. 328(5982): p. 1128.
45. Ying, S.Y., D.C. Chang, and S.L. Lin, The microRNA (miRNA): overview of the RNA genes that modulate gene function. *Mol Biotechnol*, 2008. 38(3): p. 257-68.
46. Ling, J., et al., Plant nodulation inducers enhance horizontal gene transfer of *Azorhizobium caulinodans* symbiosis island. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016. 113(48): p. 13875-13880.
47. Li, X., et al., A novel strategy for detecting recent horizontal gene transfer and its application to *Rhizobium* strains. *Front Microbiol*, 2018. 9: p. 973.
48. Husnik, F. and J.P. McCutcheon, Functional horizontal gene transfer from bacteria to eukaryotes. *Nat Rev Microbiol*, 2018. 16(2): p. 67-79.
49. Kim, G., et al., Plant science. Genomic-scale exchange of mRNA between a parasitic plant and its hosts. *Science*, 2014. 345(6198): p. 808-11.

50. Westwood, J.H. and G. Kim, RNA mobility in parasitic plant - host interactions. *RNA Biol*, 2017. 14(4): p. 450-455.
51. Petersen, G., et al., Massive gene loss in mistletoe (*Viscum*, Viscaceae) mitochondria. *Sci Rep*, 2015. 5: p. 17588.
52. Zervas, A., G. Petersen, and O. Seberg, Mitochondrial genome evolution in parasitic plants. *BMC Evol Biol*, 2019. 19(1): p. 87.
53. Lacroix, B. and V. Citovsky, Pathways of DNA Transfer to plants from *Agrobacterium tumefaciens* and related bacterial species. *Annu Rev Phytopathol*, 2019. 57: p. 231-251.
54. Nester, E.W., *Agrobacterium*: nature's genetic engineer. *Front. Plant Sci.*, 2015 8: p. 730.
55. Matveeva, T.V., et al., Horizontal gene transfer from genus *Agrobacterium* to the plant *Linaria* in nature. *Mol Plant Microbe Interact*, 2012. 25(12): p. 1542-51.
56. Matveeva, T.V. and L.A. Lutova, Horizontal gene transfer from *Agrobacterium* to plants. *Front Plant Sci*, 2014. 5: p. 326.
57. Hwang, H.H., M. Yu, and E.M. Lai, *Agrobacterium*-mediated plant transformation: biology and applications. *Arabidopsis Book*, 2017. 15: p. e0186.
58. Kyndt, T., et al., The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: An example of a naturally transgenic food crop. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015. 112(18): p. 5844-9.
59. Danchin, E.G.J., et al., The transcriptomes of *Xiphinema index* and *Longidorus elongatus* suggest independent acquisition of some plant parasitism genes by horizontal gene transfer in early-branching nematodes. *Genes (Basel)*, 2017. 8(10).
60. Haegeman, A., J.T. Jones, and E.G. Danchin, Horizontal gene transfer in nematodes: a catalyst for plant parasitism? *Mol Plant Microbe Interact*, 2011. 24(8): p. 879-87.
61. Wu, B., et al., Interdomain lateral gene transfer of an essential ferrochelatase gene in human parasitic nematodes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013. 110(19): p. 7748-53.
62. Sitaraman, R., Prokaryotic horizontal gene transfer within the human holobiont: ecological-evolutionary inferences, implications and possibilities. *Microbiome*, 2018. 6(1): p. 163.
63. Yang, Z., et al., Convergent horizontal gene transfer and cross-talk of mobile nucleic acids in parasitic plants. *Nat Plants*, 2019. 5(9): p. 991-1001.
64. Hao, J., et al., Direct visualization of horizontal gene transfer in cotton plants. *J Hered*, 2014. 105(6): p. 834-6.
65. Stegemann, S. and R. Bock, Exchange of genetic material between cells in plant tissue grafts. *Science*, 2009. 324(5927): p. 649-51.
66. Hertle, A.P., B. Haberl, and R. Bock, Horizontal genome transfer by cell-to-cell travel of whole organelles. *Sci Adv*, 2021. 7(1).
67. Sun, D., Pull in and Push Out: Mechanisms of horizontal gene transfer in bacteria. *Front Microbiol*, 2018. 9: p. 2154.
68. Kleiner, M., J.M. Petersen, and N. Dubilier, Convergent and divergent evolution of metabolism in sulfur-oxidizing symbionts and the role of horizontal gene transfer. *Curr Opin Microbiol*, 2012. 15(5): p. 621-31.
69. Wang, H., et al., Horizontal gene transfer of *Fhb7* from fungus underlies *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Science*, 2020. 368(6493).
70. Xia, J., et al., Whitefly hijacks a plant detoxification gene that neutralizes plant toxins. *Cell*, 2021. 184(7): p. 1693-1705 e17.
71. Gao, C., et al., Horizontal gene transfer in plants. *Funct Integr Genomics*, 2014. 14(1): p. 23-9.
72. El Baidouri, M., et al., Widespread and frequent horizontal transfers of transposable elements in plants. *Genome Res*, 2014. 24(5): p. 831-8.
73. Panaud, O., Horizontal transfers of transposable elements in eukaryotes: The flying genes. *C R Biol*, 2016. 339(7-8): p. 296-9.
74. Baltrus, D.A., Exploring the costs of horizontal gene transfer. *Trends Ecol Evol*, 2013. 28(8): p. 489-95.
75. Da Lage, J.L., et al., Gene make-up: rapid and massive intron gains after horizontal transfer of a bacterial alpha-amylase gene to Basidiomycetes. *BMC Evol Biol*, 2013. 13: p. 40.
76. Slomka, S., et al., Experimental evolution of *Bacillus subtilis* reveals the evolutionary dynamics of horizontal gene transfer and suggests adaptive and neutral effects. *Genetics*, 2020. 216(2): p. 543-558.
77. Keeling, P.J. and J.D. Palmer, Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution. *Nat Rev Genet*, 2008. 9(8): p. 605-18.

78. Tiwari, P. and H. Bae, Horizontal gene transfer and endophytes: An implication for the acquisition of novel traits. *Plants (Basel)*, 2020. 9(3).
79. Oliveira, P.H., et al., The chromosomal organization of horizontal gene transfer in bacteria. *Nat Commun*, 2017. 8(1): p. 841.
80. van Passel, M., et al., Phylogenetic validation of horizontal gene transfer? *Nat Genet*, 2004. 36(10): p. 1028.
81. Douglas, G.M. and M.G.I. Langille, Current and promising approaches to identify horizontal gene transfer events in metagenomes. *Genome Biol Evol*, 2019. 11(10): p. 2750-2766.
82. Koonin, E.V., K.S. Makarova, and L. Aravind, Horizontal gene transfer in prokaryotes: quantification and classification. *Annu Rev Microbiol*, 2001. 55: p. 709-42.
83. Bhering, L.L., et al., Comparison of methods used to identify superior individuals in genomic selection in plant breeding. *Genet Mol Res*, 2015. 14(3): p. 10888-96.
84. Bressegello, F. and A.S. Coelho, Traditional and modern plant breeding methods with examples in rice (*Oryza sativa* L.). *J Agric Food Chem*, 2013. 61(35): p. 8277-86.
85. Crossa, J., et al., Genomic selection in plant breeding: methods, models, and perspectives. *Trends Plant Sci*, 2017. 22(11): p. 961-975.
86. Zhang, L., et al., Regulation of maize kernel weight and carbohydrate metabolism by abscisic acid applied at the early and middle post-pollination stages in vitro. *J Plant Physiol*, 2017. 216: p. 1-10.
87. Sosnowska, K. and T. Cegielska-Taras, Application of in vitro pollination of opened ovaries to obtain *Brassica oleracea* L. x *B. rapa* L. hybrids. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 2014. 50: p. 257-262.
88. Leduc, N., G.C. Douglas, and M. Monnier, Methods for non-stigmatic pollination in *Trifolium repens* (Papilionaceae): seed set with self- and cross-pollinations in vitro. *Theor Appl Genet*, 1992. 83(6-7): p. 912-8.
89. Yamaguchi, H., Mutation breeding of ornamental plants using ion beams. *Breed Sci*, 2018. 68(1): p. 71-78.
90. Tanaka, A., N. Shikazono, and Y. Hase, Studies on biological effects of ion beams on lethality, molecular nature of mutation, mutation rate, and spectrum of mutation phenotype for mutation breeding in higher plants. *J Radiat Res*, 2010. 51(3): p. 223-33.
91. Yan, S., et al., Research progress on mutation by spaceflight in medicinal plants breeding. *Chinese. PMID*, 2010. 35(3): p. 385-8.