

established in
2016



MAS JOURNAL of Applied Sciences

ISSN 2757-5675

DOI: <http://dx.doi.org/10.52520/masjaps.27>

Araştırma Makalesi

Farklı EMS Dozlarıyla Oluşturulan Mutasyonların Nohutta (*Cicer arietinum* L.) Çimlenme Özelliklerine Etkisi

Remzi ÖZKAN^{1*}, Merve BAYHAN¹, Muhammet ÖNER¹, Levent YORULMAZ¹, Cuma AKINCI¹

¹Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü

*Sorumlu yazar: rmzozkan@gmail.com

Geliş Tarihi: 15.02.2021

Kabul Tarihi: 20.03.2021

Özet

Yapay mutasyon oluşturma'nın amacı arzu edilen özelliklerde varyasyonu artıracak kalıtsal değişiklikleri meydana getirmektir. İstenen genetik değişiklikleri elde etmek için, uygun mutagenlerin seçimi belli dozlarda kullanılabilirliklerine ve etkinliklerine bağlıdır. Bu çalışma, 10 farklı EMS dozunun (Ethyl Methane Sulfonate) Gökçe nohut çeşidinin çimlenme özelliklerine mutasyon oluşturma etkilerini saptamak amacıyla Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Tohumlar 0 (kontrol), 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 mM EMS ile muamele edilmiştir. EMS uygulanan tohumlar her petri kabında 25 tohum olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak çimlendirme kabinde çimlendirmeye bırakılmıştır. Çalışmada çimlenme oranı, çim kını ve çim kökü uzunluğu, çim kını ve çim kökü yaş ve kuru ağırlıkları incelenmiştir. Tüm incelenen özelliklerde uygulanan dozlar arasında önemli farklılık olduğu saptanmıştır. İncelenen özelliklerin tamamında en yüksek değerler kontrol grubundan elde edilirken, EMS dozlarının artması sonucunda tüm özellikler için düşüş yaşandığı, en düşük değerlerin 100mM dozundan elde edildiği belirlenmiştir. Çalışma sonucunda nohutta EMS dozunu arttırmanın, tohumların çimlenme oranı, fide özellikleri ve yaşayan sağlıklı bitki oranını düşürdüğü ve tüm özellikler üzerinden etkin mutasyonun 50-60 mM arası dozlardan elde edilebileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mutasyon, EMS, doz, nohut, çimlenme

The Results of Mutations Made with Specific Ems Dose on Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Germination Properties

Abstract

The aim of creating induced mutations is to bring about genetic changes that increase the variation in the desired properties. The selection of appropriate mutagens depends on their availability and effectiveness at certain doses to achieve the necessary genetic modifications. This research was performed at the Dicle University Faculty of Agriculture Biotechnology Laboratory to determine the effects of 10 specific doses of EMS (Ethyl Methane Sulfonate) on mutation on the chickpea cv. Gökçe of germination characters. Seed was handled with an EMS of 0 (control), 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 mM. In the germination cabinet, EMS applied seeds were left to germinate with 3 replications according to the completely randomized design with 25 seeds in each petri dishes. In the study, germination rate, coleoptile length, root length, coleoptile fresh weight, root fresh weight, coleoptile dry weight and root dry weight were measured. It was decided that there was a significant difference in all the germination features tested between the doses applied. Due to the rise in EMS doses, a reduction was defined for all features and the lowest values were obtained from the dosage of 100 mM. As a result of the study, it was determined that increasing the dose of EMS in chickpea reduces the germination rate, the seedling characteristics and the healthy growth rate of the seeds and that the effective mutation can be obtained from 50-60 mM doses.

Keywords: Mutation, EMS, dose, chickpea, germination

GİRİŞ

Verim potansiyeli yüksek ve olumsuz çevre şartlarına dayanıklı çeşitlerin ıslah edilmesi, bitkisel üretimde üretim artışının gerçekleştirilebilmesi için büyük öneme sahiptir. Doğada kendiliğinden veya farklı yöntemler ile ortaya çıkarılan geniş varyasyon, yeni çeşitlerin ıslah edilmesinde büyük önem arz etmektedir. Bu ıslah yöntemlerinin en başında melezleme tekniği gelmektedir. Fakat son zamanlarda yoğun şekilde kullanılmaya başlanan mutasyon tekniği hem kendi başına kullanılması hem de melezleme tekniğinin bir tamamlayıcısı olarak kullanılması bu tekniğin önemliliğini ön plana çıkarmaktadır.

Bitkilerin genetik yapısında meydana gelen kalıtsal değişimlere mutasyon denir. Mutasyonlar doğada ya kendiliğinden ya da yapay olarak ortaya çıkmaktadır. Doğal mutasyonların ortaya çıkışında özellikle çekinik (resesif) genlerin etkisi ve popülasyon frekanslarının düşük olması gibi nedenlerden dolayı araştırmacılar yapay mutasyonları oluşturma çabası içine girmişlerdir. Yapay mutasyonlar ya radyasyon ışınları (X ışınları, gamma ışınları, Ultraviyole radyasyon) ile ya da kimyasal maddeler (ethyl methane sulphanate (EMS), diethyl sulphate (DES), ethlenimemine (EI), N-nitroso N-ethylurea (NEU), azide methyl metthane sulphanate (MMS) ile yapılmaktadır (Genç ve ark., 1986).

Mutasyon ıslahı çalışmalarında ana hedef minimum oranda fizyolojik zarar ve maksimum düzeyde mutasyon frekansı meydana getirmektir. Bu sayede geniş bir varyasyon oluşturulmaktadır. Mutasyon frekansını artırmak için mutagenin doz miktarını, uygulama süresini ayarlamak, mutagenin uygulama öncesi ve sonrasında çevre koşullarında değişiklikler yapmak gibi çeşitli yöntemler kullanılabilir.

Mutagenik verimin maksimum düzeyde olması amacıyla bu çalışmamızda kimyasal mutagen olarak ethyl methane sulfonate (EMS)'tan yararlanılmıştır. Mutant popülasyonlarında varyasyonun meydana geldiği generasyon M2 generasyonudur. Seleksiyon çalışmaları M2 generasyonunda başlayıp M3 generasyonunda da devam edilir. Verim gibi çok sayıda gen ile kontrol edilen kantatif karakterlerin daha erken generasyonlarda seleksiyon yapılması güçtür.

Tohumlar ısıtılabilen, kurutulabilen, dondurulabilen ve ısıtılabilen bir materyal olması ve normalde canlı moleküllerin dayanamayacağı fiziksel koşullarda bile ısılanabilme özelliğinden dolayı mutasyon çalışmalarında en çok kullanılan materyaldir. Mutasyon ıslahı çalışmalarında en az zararlı en yüksek mutasyon frekansının elde edilmesi amaçlanmaktadır. Mutagen doz ve uygulama yöntemlerinin amaca uygun şekilde seçilmesi, M1 bitkilerindeki değişikliklerin ve ortaya çıkan fizyolojik zararların kantitatif olarak belirlenmesini gerektirmektedir. Genellikle fidelerin %50-70'ini öldürecek dozlar uygun mutagen dozu olarak belirlenmekte ve ED50 dozu olarak adlandırılmaktadır. (Şehirli ve Özgen, 1988).

Bu çalışmada, Gökçe nohut çeşidinin tohumlarına uygulanan 10 farklı EMS (Ethyl Methane Sulfonate) dozunun bitkinin çimlendirme özellikleri üzerine etkisini ve en uygun EMS mutasyon doz değerini belirlemek amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışma Gökçe nohut çeşidinin 10 farklı EMS (Ethyl Methane Sulfonate) uygulamasına tepkisini saptamak amacıyla Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Tohumlar 0 (kontrol), 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 mM EMS ile muamele edilmiştir. Solüsyon 10 mM için 500 cc suda 0.542 ml EMS eklenmesi hesabıyla hazırlanmıştır. EMS uygulanmadan önce tohumlar 14 saat saf suda bekletilmiştir. Ön ıslatma yapılan tohumlar 180cc kağıt bardaklarda 6 saat EMS solüsyonu içerisinde bekletilmiştir. 6 saat solüsyonda kalan tohumlar daha sonra 3 defa saf suda durularak kurutulmak üzere kağıt havlulara serilmiştir. EMS uygulanan tohumlar her petri kabında 25 tohum olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak 25 ± 1 °C' sıcaklık ve %70 nemde, 16/8 saat gündüz/gece uygulamasında çimlendirme kabinde çimlendirmeye bırakılmıştır. Her bir petri kabına 6 ml saf su verilmiştir. Çalışmada çimlenme oranı, çim kını ve çim kökü uzunluğu, çim kını ve çim kökü yaş ve kuru ağırlığı ölçümleri yapılmıştır.

Çimlenme oranı: 2 mm'lik kökçük çıkışı çimlenme kriteri olarak kabul edilmiştir. Çimlenme testlerinde ISTA kuralları esas alınmış ve sonuçlar % olarak belirlenmiştir.

Sapçık ve kökçük uzunluğu: Çimlendirmenin 8.gününde her tekerrürden alınan fidelerin kökçük ve sapçık uzunlukları cm olarak belirlenmiştir.

Sapçık ve kökçük yaş ağırlığı: Çimlenen fidelerin sapçık ve kökçükleri ayrılarak hassas teraziyle ağırlıkları tartılıp sapçık ve kökçük yaş ağırlıkları mg/fide olarak belirlenmiştir.

Sapçık ve kökçük kuru ağırlığı: Sapçık ve kökçükler ayrı ayrı 70 °C'de 48 saat kurutulduktan sonra hassas teraziyle ağırlıkları tartılıp sapçık ve kökçük kuru ağırlıkları mg/fide olarak belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri, JUMP PRO13 istatistik paket programı kullanılarak Tesadüf Parselleri Deneme Desenine

göre değerlendirilmiş, ortalamalar arasındaki farklılıklar $LSD_{(0.05)}$ testine göre gruplandırılmıştır. Normal dağılıma uymayan çimlenme oranlarının % değerlerine ait verilere analiz yapılmadan önce açılı transformasyonu (arcsin); çim kını ve çim kökü kuru ağırlıklarına karekök transformasyonu uygulanmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kimyasal mutagen olarak EMS'in (Ethyl methane sulphonate) farklı dozlarının Gökçe nohut çeşidinin çimlenme özellikleri üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla yürütülen bu çalışmada, çimlenme oranı, çim kını uzunluğu, çim kını yaş ağırlığı, çim kını kuru ağırlığı, çim kökü uzunluğu, çim kökü yaş ağırlığı, çim kökü kuru ağırlığı özellikleri incelenmiştir. Gökçe nohut çeşidi tohumlarının çimlenme özelliklerine ilişkin gözlem sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir. Çimlenme oranı, çim kını uzunluğu, çim kını yaş ağırlığı, çim kını kuru ağırlığı, çim kökü uzunluğu, çim kökü yaş ağırlığı, çim kökü kuru ağırlığı özellikleri bakımında EMS dozları arasında 0.01 düzeyinde istatistiksel farklar bulunmuştur. Çizelge 1'de görüldüğü gibi, Gökçe nohut çeşidinde EMS dozlarının artışıyla çimlenme oranının azaldığı görülmektedir. Çimlenme yüzdesinin %50.0 (100 mM EMS dozu) ile %100.0 (kontrol grubu) arasında değiştiği gözlenmiştir. Kontrolde %100.00 olan çimlenme oranı 10 mM doz uygulamasında %96.7 ve 20, 30, 40 mM EMS doz uygulamalarında %93.3 olarak saptanmıştır. En düşük çimlenme oranı ise 100 mM (%50.0) EMS uygulamasında elde edilmiştir. Genellikle fidelerin %50-70'ini öldürecek dozlar uygun mutagen dozu olarak belirlenmekte ve ED50 dozu olarak adlandırılmaktadır. (Şehirli ve Özgen, 1988). Bu durumda çimlenme

üzerine etkin mutasyon etkisi 70-100 mM EMS dozlarında meydana gelmiştir. Bulgularımız, Nagl (1965), Ünver (1989)'un EMS ile yaptıkları çalışmalarında doz artışıyla, Peşkirioğlu (1995)'in gama ışını ve EMS'in tek ve birleşik uygulamalarında M2 bitkilerinde çıkış oranının azaldığını bildirdikleri çalışmalarıyla uyum

göstermektedir. Rupinder ve Kole (2005) çimlenmedeki ciddi azalmanın sebebi etkili mutajenezin bir göstergesi olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca Khan ve ark. (2004) mutajenik uygulamaların tohum çimlenmesinde bir azalma meydana getirdiğine dikkat çekmişlerdir.

Çizelge 1. Farklı EMS dozları uygulanan Gökçe nohut çeşidinde incelenen karakterlere ilişkin ortalama değerler ve LSD gruplandırması

EMS Dozu	Çimlenme Oranı (%)	Çim kını uzunluğu (mm)	Çim kını yaş ağırlığı (mg/fide)	Çim kını kuru ağırlığı (mg/fide)	Çim kökü uzunluğu (mm)	Çim kökü yaş ağırlığı (mg/fide)	Çim kökü kuru ağırlığı (mg/fide)							
Kontrol	100	a	32.1	a	142.90	a	14.60	a	41.4	a	154.00	a	13.90	a
10 mM	96.7	ab	26.8	ab	106.10	b	11.00	ab	37.4	ab	137.00	ab	13.80	a
20 mM	93.3	ab	18.2	bc	99.10	bc	10.60	ab	36.2	ab	119.00	a-c	13.70	a
30 mM	93.3	a-c	11.2	cd	91.10	bc	10.30	ab	33.7	a-c	110.00	b-d	10.70	ab
40 mM	93.3	a-c	11.1	cd	80.70	bc	9.30	a-c	26.8	b-e	115.00	a-d	8.00	bc
50 mM	80	b-d	9.3	c-e	67.70	cd	7.20	bc	28.5	a-d	74.00	d-e	10.80	ab
60 mM	76.7	c-e	9.5	c-e	71.60	c	8.20	bc	26.1	b-e	86.00	c-e	10.70	ab
70 mM	63.3	de	4.1	de	34.70	de	7.10	bc	21.6	c-f	65.00	ef	7.80	bc
80 mM	66.7	de	4.4	de	32.00	ef	5.50	b-d	19.1	d-f	61.00	ef	7.40	bc
90 mM	70	de	5.6	de	27.30	ef	4.10	cd	14.4	ef	58.00	ef	4.70	c
100 mM	50	e	1.3	e	11.00	ef	1.20	d	10.6	f	38.00	f	3.70	c
Ortalama	80.30		12.1		69.00		8.10		26.9		92.00		9.00	
LSD_{0.05}	20.9**		8.8**		33.00**		5.50**		12.4**		41.00**		5.00**	

** ; % I seviyesinde önemlidir

Gökçe nohut çeşidinde EMS dozunun arttırılmasıyla çim kını ve çim kökü uzunluğu değerleri şiddetli şekilde azalmıştır. Çim kını uzunluğu değerleri 1.3 mm (100 mM EMS) ile 32.1 mm (kontrol grubu) arasında; çim kökü uzunluk değerleri 10.6 mm (100 mM EMS) ile 41.4 mm (kontrol grubu) arasında değişmiştir. Çim kını uzunluğunda ED50 dozu 30 mM ve 60 mM arası dozlar iken çim kökü uzunluğunda ise 70 mM ve 90 mM arası dozlar ED50 seviyesinde azalmaya neden olmuştur. Sonuçları yaptığımız çalışma ile paralellik gösteren Rupinder ve Kole (2005) ile Bahar ve Akkaya (2009) çim kını ve çim kökü uzunluklarının artan mutajen dozu ile azaldığını belirtmişlerdir.

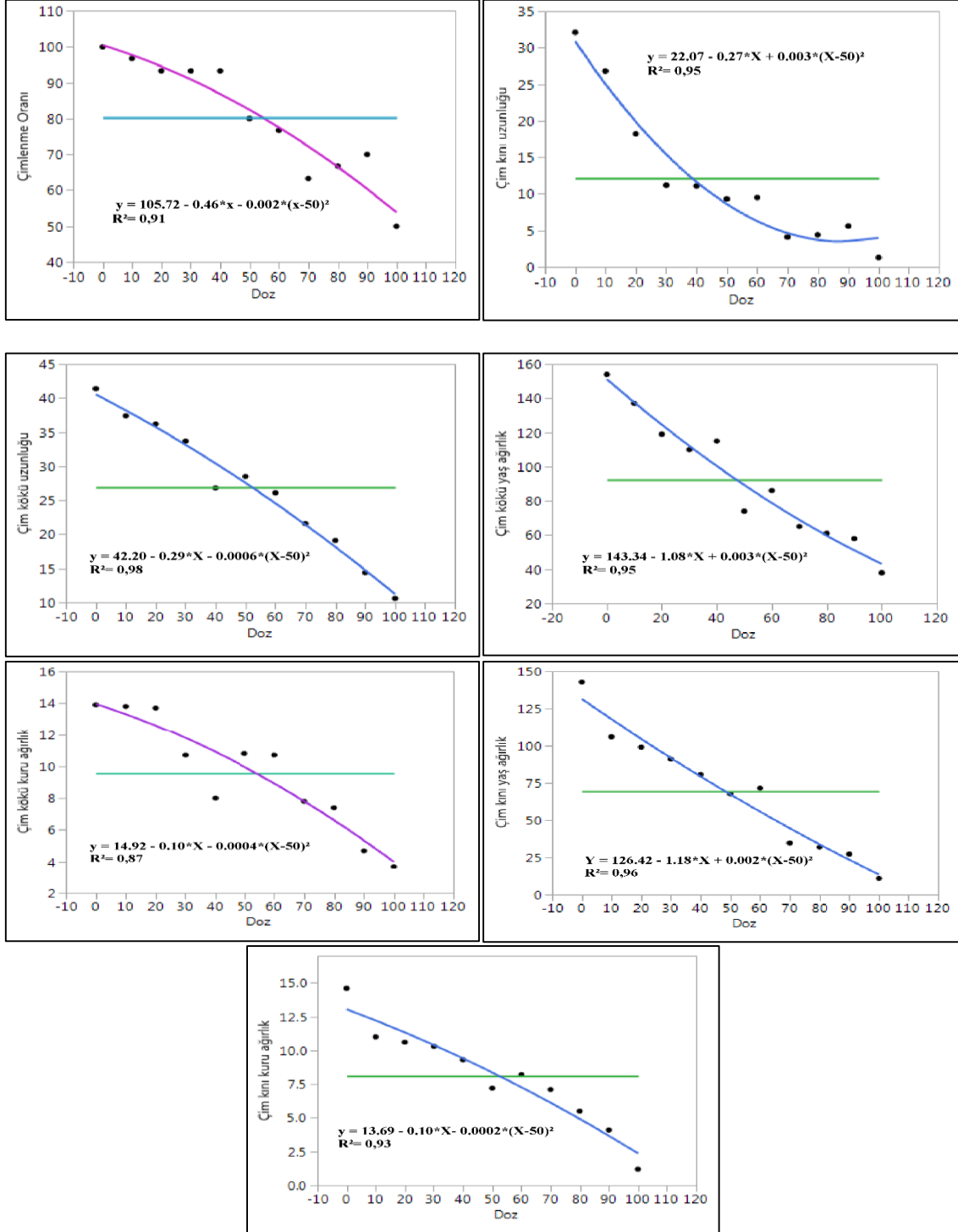
EMS dozlarındaki artış Gökçe nohut çeşidinin çim kını yaş ve kuru ağırlığında ciddi bir azalmaya sebep olmuştur (Çizelge 1). Çim kını yaş ve

kuru ağırlığına ait en düşük ortalama değerleri sırasıyla 11.0 mg ve 1.2 mg (100 mM EMS) arasında, en yüksek değerler ise sırasıyla 142.90 mg, 14.60 mg (kontrol grubu) arasında değişmiştir. 50 mM ve üstü dozlar, çim kını yaş ve kuru ağırlığında %50 azalmaya neden olmuştur. Rupinder ve Kole (2005) yaptıkları çalışmada mutajenik uygulamalar çim kını yaş ve kuru ağırlıklarını olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir. Benzer olarak Bahar ve Akkaya (2009) artan EMS dozlarının çim kını yaş ve kuru ağırlığı değerlerini düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Çim kökü yaş ağırlığı değerleri 38 mg (100 mM EMS) ile 154 mg (kontrol grubu) arasında; çim kökü kuru ağırlık değerleri ise 3.7 mg (100 mM EMS) ile 13.9 mg (kontrol grubu) arasında değişmiştir. Çizelge 1'de görüldüğü gibi artan EMS dozları çim kökü yaş ve kuru ağırlık değerlerini

azaltmıştır. Çim kökü yaş ve kuru ağırlığında %50 azalmaya neden olan doz 50 mM ve üstü dozlar olmuştur. Benzer olarak Bahar ve Akkaya (2008)

Rupinder ve Kole (2005) yaptıkları çalışmada artan EMS dozlarının çim kını yaş ve kuru ağırlığı değerlerini düşürdüğünü bildirmişlerdir.



Şekil 1. Farklı EMS dozları ile çimlenme özellikleri arası regresyon ilişkileri (Yatay çizgi aritmetik ortalamayı göstermektedir.)

EMS dozları ile çimlenme özellikleri arası ikili ilişkilere baktığımızda artan EMS dozları ile çimlenme özellikleri arasında negatif ve önemli ilişkiler saptanmıştır (Şekil 1). Şekle baktığımızda artan mutasyon dozlarına en hassas özelliğin çim kını uzunluğu olduğu görülmektedir. Diğer özellikler ise EMS dozlarına benzer tepki vermiştir. İlgili özellikleri tüm dozlar üzerinden ortalama değerleri yatay çizgiyle gösterilmiştir. Buna göre incelenen özelliklerde ortalama değer 50-60 mM dozlarından elde edilmiştir. Artan EMS dozlarının, çimlenme özelliklerine ait değerleri düşürdüğü sonucuna varılmıştır. Bulgularımız, Nagl (1968), Ünver (1989), Peşkiroğlu (1995), Rupinder ve Kole (2005), Khan ve ark. (2004), Bahar ve Akkaya (2009) çalışmalarıyla uyum göstermektedir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada EMS dozu arttıkça Gökçe nohut çeşidinin çimlenme oranı ve diğer incelenen özelliklerin değerleri düşüş göstermiştir. En etkin dozun belirlenmesinde çimlenme yüzdesinin %50'ye düştüğü letal (öldürücü) doz olan 100mM dozunun kabul edilmesi durumunda diğer çimlenme özellikleri yönünden bitkilerin aşırı derecede kötüleştiği gözlemlenmiştir. Çalışma sonunda çim kını uzunluğunda %50 azalmaya neden olan etkin doz 30 mM ve üstü dozlar olurken, çim kökü uzunluğunda ise en etkin doz 70 mM ve üstü dozlar %50 azalmaya neden olmuştur. Çim kını yaş ve kuru ağırlığında, çim kökü yaş ve kuru ağırlığında ise 50 mM ve üstü dozlar %50 azalmaya neden olmuştur. Regresyon eğrisine göre değerlendirme yapıldığında tüm özellikler için 50-70

mM dozunun etkin mutasyon oluşturma için uygun olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Bahar, B., Akkaya M.S. 2009. Effects of EMS treatment on the seed germination in wheat. Journal of Applied Biological Sciences, 3(1): 59-64.
- Genç İ., Kırtok Y., Ülger A.C., Yağbasanlar, T. 1986. Çukurova koşullarında uygun buğday ıslahı üzerinde araştırmalar. TÜBİTAK Bitki Islahı Sempozyumu, 15-17 Ekim, İzmir.
- Genç, İ., Yağbasanlar, T. 1994. Bitki Islahı. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Genel Yayın No:59. Adana
- Khan, S., Wani, M.R., Parveen, K. 2004. Induced genetic variability for quantitative traits in *Vigna radiata* (L.) Wilczek. Pak. J. Bot., 36(4): 845-850.
- Nagl, K. 1968. Mutation experiments in durum wheat. Mutation Plant Breeding, 293-298.
- Peşkiroğlu, H. 1995. Arpa (*Hordeum vulgare* L.)'ya uygulanan EMS (Ethyl Methane Sulphonate) ve gama ışınlarının M1 ve M2 bitkilerinin bazı özellikleri üzerine etkileri. (PhD), A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, s. 93. Ankara, Türkiye.
- Rupinder, S., Kole, C.R. 2005. Effect of mutagenic treatment with EMS on germination and some seedling parameters in mungbean. Crop Res., 30 (2): 236-240.
- Şehirli, S., Özgen, M. 1988. Bitki Islahı. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları:1059. Ders Kitabı: Ankara
- Ünver, S. 1989. Arpa'da uygulanan EMS (Ethyl Methane Sulphonate) dozları, yıkama suyu sıcaklık ve süresinin M1 ve M2 bitki özelliklerine etkileri. (PhD), A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, s.132, Ankara, Türkiye.