

YERLİ ÜZÜM ÇEŞİTLERİNDE MUTASYON ISLAHINA YÖNELİK OLRAK ETKİLİ MUTASYON DOZUNUN BELİRLENMESİ VE M1V1 GENERASYONUNDA GÖRÜLEN İLK ETKİLER

Birhan MARASALI¹
Hasan ÇELİK¹

Burak KUNTER²
İhsan TUTLUER²

Dilek DEĞİRMENCI¹
Nevzat USLU¹

Nurhan KESKİN¹
Zafer SAĞEL¹

Yaprak TANER²
Hayrettin PEŞKİRCİOĞLU²

¹ Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara

² Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Ankara Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi, Radyobiyojoloji Bölümü, Ankara

ÖZET

Bu araştırmada Sultani Çekirdeksiz, Kalecik karası ve Uslu üzüm çeşitlerine ait "Etkili Mutasyon Dozu" (ED₅₀) belirlenmiştir. Bu amaçla, dinlenme döneminde tek gözlu çelikler, 25, 30, 35, 40 ve 45 Gray (Gy) dozlarında, kobalt 60 (Co⁶⁰) akut gama kaynağında ışınlanmış ve sera koşullarında yetiştirilmişlerdir. M₁V₁ generasyonundaki bireylerde 50 günde süme oranı ve sürgün uzunluğu belirlenmiştir. Ölçümler regresyon analizi yardımıyla değerlendirilerek ED₅₀ (Etkili Mutasyon Dozu) hesaplanmıştır. Buna göre, ED₅₀ değeri Kalecik karası için 31.50 Gy, Sultani Çekirdeksiz için 25.73 Gy ve Uslu için 21.47 Gy olarak belirlenmiştir. Ayrıca, radyasyonun morfolojik etkisi incelenmiş, yapraklarda çatalanma, dişlilik yapısında farklılaşmanın yanı sıra klorofil mutasyonları gözlemlenmiştir. **Anahtar Kelimeler:** Asma, mutasyon, ışınlama dozu, ışına duyarlılık

DETERMINATION OF EFFECTIVE MUTATION DOSE AND FIRST EFFECTS ON M₁V₁ GENERATION IN NATIVE GRAPE CULTIVARS

ABSTRACT

In this research effective mutation dose of Sultani, Kalecik karası and Uslu grape cultivars were determined. One budded dormant cuttings were irradiated with 25, 30, 35, 40 and 45 Gy doses of cobalt 60 (Co⁶⁰), acute gamma source. Irradiated cuttings were grown in greenhouse. Bud burst rate and shoot length were determined in M₁V₁ plants. ED₅₀ were calculated by regression analysis of the evaluated data. ED₅₀ (Effective Mutation Dose) was found to be 31.50 Gy for Kalecik karası, 25.73 Gy for Sultani and 21.47 Gy for Uslu. On the other hand morphological effects of radiation were investigated. Leaf deformations and chlorophyll mutations were observed.

Keywords: Grapevine, mutation, dose, irradiation dose, radiosensitivity

GİRİŞ

1901 yılında Hugo de Vries'in "Mutasyon Teorisi" adlı eserinde "evrimin sonucu olarak genetik yapıdaki kalıcı ani değişiklik" olarak tanımladığı mutasyon, "Mutasyon İslahı" kavramının başlangıç noktası olarak, doğal somatik mutasyonlar ile yapay mutasyonların bitki ıslahında kullanılması sürecini başlatmıştır. Aynı araştırmacı 1904'te röntgen ışınlarının yapay mutasyonlar yaratılmasında kullanımını önermiştir. Bu fikirden 25 yıl sonra 1927'de yapay mutasyonların bitki ıslahında kullanılması bir metod olarak kabul edilmiştir. 1935'te Vavilov, bitkileri belirli ölçülerde ıslah etmenin insanlığın elinde olduğunu ve insan ihtiyaçları ile paralel olarak istenilen özelliklerin genetik olarak geliştirilebileceğini ifade etmiştir. Bu yıllarda başlayan çalışmalara rağmen, 1950'li yıllara kadar kayıtlara geçmiş tek mutant, Endonezya'da bir tütün çeşidi olmuş, ancak ilerleyen yıllarla birlikte huz alan çalışmaları bu rakam 1960'larda 15'e, 1970'lerde 72'ye, 1975'lerde 201'e ulaşmıştır (Van Harten 1998). Günümüze geldiğinde ise, 2000 yılı itibarıyla Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı (IAEA) tarafından, farklı türlere ait 2252 mutant çeşit kayıtlanmıştır (Maluszynski *et al.* 2000). Mutasyon ıslahı, özellikle kendine döllen bitki türlerinde, monogenik olarak yöncülen ve basit kalımlı gösteren karakterlerin geliştirilmesinde etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Sağel ve ark. 2002).

Asma tür ve çeşitleri, vegetatif çoğaltılan popülasyonlar olmakla birlikte, klon düzeyinde yüksek oranda varyasyon gösteren bitkilerdir. Bir çeşit içerisinde gözlenen bu varyasyonların önemli kaynaklarından birini kalıcı nitelikteki doğal somatik mutasyonlar oluşturmaktadır. Nitekim, günümüzde ekonomik öneme sahip birçok üzüm çeşidi doğal somatik mutasyonların belirlenmesi ve seçilmesiyle geliştirilmiştir (Finsat ve Prat 1975, Uslu 1982, Fregoni 1998, Fregoni 2000). Melezleme ıslahı ile elde edilen hibrit çeşitler dışında, dünyada kültürü yapılan üzüm çeşitlerinin bin yılları boyunca geçmişten dikkate alınmadığında, popülasyonlar içinde yüksek mutasyon birikiminin olma olasılığı öne çıkmaktadır. Bu nedenle, gerek doğal somatik mutasyonların gözlenmesi gerekse kontrollü radyasyon kaynakları ve kimyasal mutagenleri de kullanarak yapay somatik mutasyonları uyandıracak ıslah çalışmalarına değeri bulunmaktadır.

Asmaların mutagen uygulamaları ile elde edilen çok sayıda birey ol-nukla birlikte, Uluslararası Atom Enerjisi Mutant Bitkiler Bilgi Sistemi'ne kayıtlı çeşit sayısı sınırlıdır. Bunlardan Fikreti (Rusya), Murandi

üzüm çeşidinden, diğer 5 çeşit (İtalya) ise, Bonarda (2), Dolcetto (2) ve Regina Vigneti (1) çeşitlerinden elde edilmiştir (Donini 1982, Maluszynski *et al.* 2000).

Sunulan araştırma makalesi Sultani Çekirdeksiz, Kalecik karası ve Uslu üzüm çeşitlerinde başlatılmış olan mutasyon ıslahı çalışmalarının ilk basamağını oluşturmaktadır. Çeşitlere ait etkili mutasyon dozlarının (ED₅₀) belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar yürütülmekte olan mutasyon ıslahı çalışmasına ait popülasyonun genişletilmesinde kullanılmaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ile ANTHAM (Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Ankara Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi)'nin işbirliğiyle yürütülmüştür.

Sultani Çekirdeksiz, Kalecik karası ve Uslu üzüm çeşitlerine ait dinlenme döneminde olan ve nem oranı belirlenen tek gözlu çeliklere akut radyasyon uygulanmıştır. Radyasyon uygulamaları 25, 30, 35, 40 ve 45 Gray (Gy) dozlarında olmak üzere 2.37 Kgy/h gücünde kobalt 60 (Co⁶⁰) gama kaynağında gerçekleştirilmiştir. Işınlanmış tek gözlu çelikler, serada köklendirilmişlerdir.

"Etkili Mutasyon Dozu"nun (ED₅₀) belirlenmesi amacıyla çeliklerin seraya dikilmesinden 50 gün sonra, yaşama oranları belirlenmiş, sürgün boyları ölçülmüştür. Ayrıca yaprak anormallikleri (çatalanma, dişlilik yapısında farklılaşma) ve klorofil mutasyonları incelenmiştir. Çalışmada uygulanan her doz için 50 adet göz kullanılmış. Donini (1982)'ye göre kontrol ölçümlerinin %50'si dolayında sürgün boyunda kasıtlı sağlayan doz (ED₅₀), regresyon analizi yardımıyla hesaplanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kalecik karası, Sultani Çekirdeksiz ve Uslu çeşitleri için ED₅₀ değerlerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, her üç çeşitte genel olarak artan radyasyon dozlarıyla sürgün uzunluğu azalmıştır. Yalnız Sultani Çekirdeksiz çeşidinde 25 Gy'lık doz uygulaması bu genel kurala uyumlu bulunmuştur. Sultani Çekirdeksiz 25 Gy'de sürgün uzunluğu, 20 Gy dozuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu etkinin düşük sayılabilecek bir radyasyon dozunda ortaya çıkması, radyasyon zararına karşı tepki olarak faaliyete geçen onarım mekanizmalarından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanabilir (Anonymous 1977). Aynı

şekilde artan radyasyon dozu uygulamalarıyla çekirdeklerdeki yaşama oranı da beklenildiği gibi azalmıştır (Çizelge 1).

Sürgün uzunluğu ve yaşama oranı bulguları lineer regresyon analizleriyle değerlendirildiğinde, ED₅₀ Kalecik karası için 31.50 Gy, Sultani Çekirdeksiz için 25.73 Gy ve Uslu için 21.47 Gy olarak hesaplanmıştır (Şekil 1). ED₅₀ dozunun çeşitlere göre farklı olduğu Donini (1982) ile Charbaji ve Nabulsi (1999) tarafından da belirlenmiştir. Söz konusu farklılıkların çeşitlerin gen yapısındaki kararlılık, gelişme kuvveti, ışınlama sırasındaki nem oranı, sürgün yapısı gibi özelliklerle ilişkili olduğu belirtilmektedir (Anonymous 1977).

Işınlama sonrasında gerçekleştirilen morfolojik gözlemlerde (M₁V₁ generasyonu) fizyolojik zararlanma olarak tanımlanan (Anonymous 1977, Van Harten 1998) çok sayıda yaprak anormallliği belirlenmiştir. Bunlardan en yaygın olanları yapraklarda çatlama, dış yapısında farklılaşma ve klorofil mutasyona uğrayarak tanımlanmıştır (Şekil 2). Aşmada çok sayıda doğal somatik mutant çeşitlerinin belirlenmiş olması, yapay yolla mutasyon yaratılabilirliği ve yüksek olması yönünde bir beklenti oluşturmaktadır. Ancak, asmanın göz sistemi içerisinde birden fazla sürgün yatığı bulunması ve meristematik dokunun geniş olması, mutasyon etkisini zorlaştıran hatta sınırlandıran koşullar yaratmaktadır. Çoban (1998), dinlenme halindeki gözlerin, çelik üzerinde bulundukları yere bağlı olarak gamma ışınlarına karşı duyarlılıklarının farklılık gösterdiğini bildirmektedir. Sunulan çalışmada ise gözlerde aynı etkinin yaratılmasını sağlayabilmek için tek gözlü olarak ve belirli uzunlukta hazırlanan çekirdeğe uygulamalar yapılmıştır. Asmalarda hasılangiçta daha çok kimerik yapıların ortaya çıktığı belirlenmektedir (Anonymous 1973, Anonymous 1977, Thompson ve Olmo 1963, Vallania *et al.* 1987, Van Harten 1998). Bu yapıların iyi gözlenmesine bağlı olarak vejetatif çoğaltılabilirliği şansının yüksek olması ise olumlu yönüdür.

Araştırmada kullanılan çeşitler ve uygulama yapılan kaynağa bağlı olarak çalışmadan elde edilen sonuçların %10-20 düşük ve yüksek dozlarında yapılacak ışınlamaların, bu çeşitlerde yürütülecek mutasyon ıslahı çalışmaları için uygun olduğu düşünülmektedir.

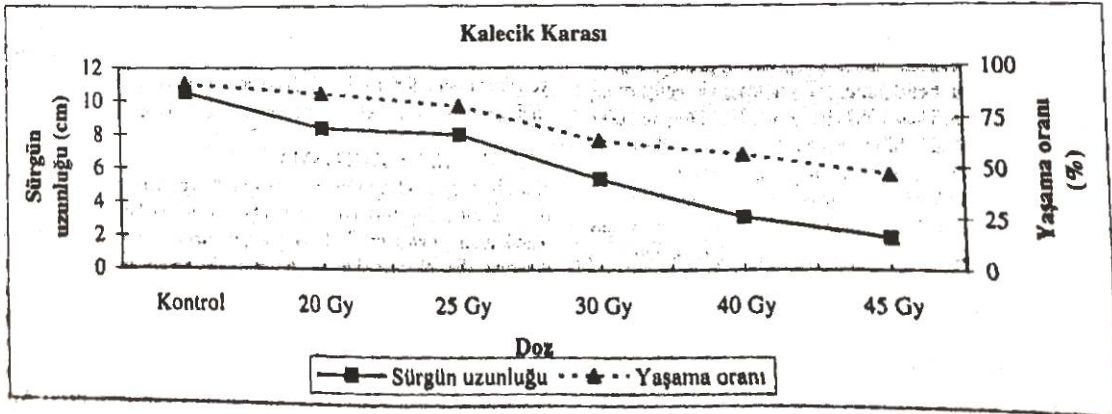
TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya, "Yerli Üzüm Çeşitlerinin Mutasyon İslahı ile Geliştirilmesi ve İslah Sürecinin Kısıtlanmasında Biyoteknolojinin Kullanımı"

Çizelge 1. Kalecik karası, Sultani Çekirdeksiz ve Uslu üzüm çeşitlerinde artan radyasyon dozunun sürgün uzunluğu ve yaşama oranına etkisi

Dozlar	Kalecik Karası		Sultani Çekirdeksiz		Uslu	
	Orta Sürgün Uzunl. (cm)	Yaşama Oranı (%)	Orta Sürgün Uzunl. (cm)	Yaşama Oranı (%)	Orta Sürgün Uzunl. (cm)	Yaşama Oranı (%)
Kontrol	10.52	92.0	9.80	89.0	7.46	84.0
20 Gy	8.37	87.0	6.54	73.9	5.13	62.2
25 Gy	8.05	81.0	7.07	72.0	1.78	28.0
30 Gy	5.39	64.0	3.76	53.6	1.93	33.7
40 Gy	3.14	57.0	0.85	21.4	0.78	25.7
45 Gy	1.89	47.0	0.06	3.4	0.01	3.75

Şekil 1. Kalecik karası, Sultani Çekirdeksiz ve Uslu üzüm çeşitlerinin ED₅₀ için regresyon denklemleri ve yaşama oranı arasındaki ilişki

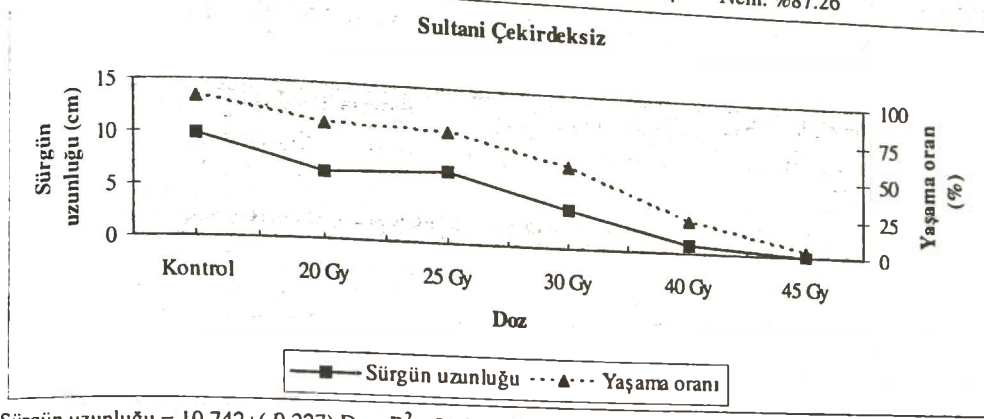


isimli proje kapsamında destek sağlayan Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü'ne teşekkür ederiz.

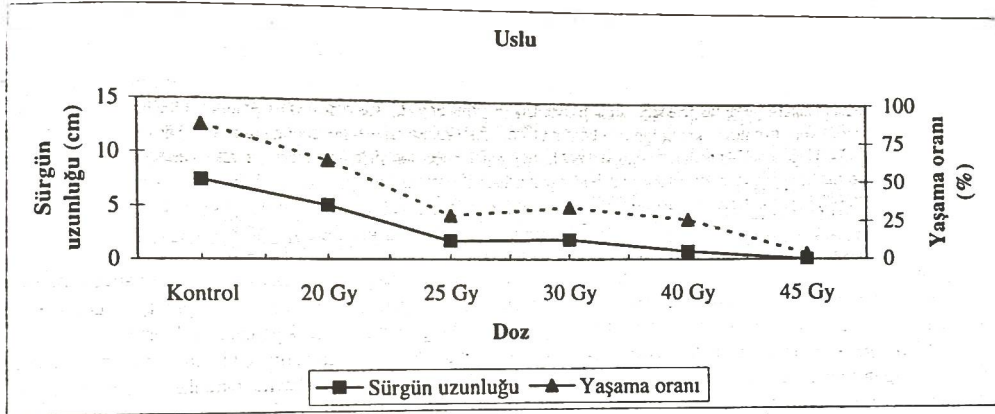
KAYNAKLAR

- Anonymous 1973. Induced Mutations in Vegetatively Propagated Plants. Proceedings of a Panel, Vienna 11-15 September 1972, Proceeding Series. IAEA, 222 p.
- Anonymous 1977. Manual on Mutation Breeding. Technical Reports Series No:119, IAEA, Vienna, 288p.
- Charbaji, T. and Nabulsi, I. 1999. Effect of low doses of gamma irradiation on *in vitro* growth of grapevine. Plant cell, tissue and organ culture. 57(2): 129-132.
- Çoban, H. 1998. Yuvarlak Çekirdeksiz Üzüm Çeşitinde Farklı Dozlarda Uygulanan Co⁶⁰ Kaynaklı Gamma Işınlamının Meydana Getirdiği Değişimler Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi (Basılmamış), Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 102s.
- Donini, B. 1982. Mutagenesis applied to improve fruit trees: Techniques, methods and evaluation of radiation-induced mutations, in: Induced Mutations in Vegetatively Propagated Plants II, IAEA 1982, p: 29-36.
- Einsel, J. and Pratt, C. 1975. Grapes (In: Advances in Fruit Breeding, Ed: J.Janick and J.N. Moore). Purdue University Press. West Lafayette, Indiana p: 130-153.
- Fregoni, M. 1998. Viticoltura di qualità. Ed. Loma, Piacenza.
- Fregoni, M. 2000. 'Malvasia Rosa' a new aromatic grapevine variety. Acta Hort. 528, 685-687.
- Maluszynski, M., Nichterlein, K., Van Zanen, L., Ahloowalia, S. 2000. Officially released mutant varieties-The FAO/IAEA Database. Mutation Breeding Review No 12, December 2000: 1-84.
- Sağel, Z., Peşkirioğlu, H., Tutluer, M.I., Uslu, N., Şenay, A., Taner, K.Y., Kunter, B., Şekerci, S., Yalçın, S. 2002. Bitki İslahında Mutasyon ve Dokü Kültürü Teknikleri, ANTHAM Matbaası, 111s.
- Thompson, M. and Olmo, H.P. 1963. Cytohistological studies of cytochromic and tetraploid grapes. American Journal of Botany, 901-950.
- Uslu, İ. 1982. Müskülüz üzüm çeşitinde klon seleksiyonu üzerinde araştırmalar. Bahçe 11(2): 17-24.
- Vallania, R., Rotta, R. and ME. G. 1987. Investigations on anomalies of ovule development and on pollination in mutated grapevines, cv. Barbera Vitis 26:1-8.
- Van Harten, J.M. 1998. Mutation Breeding. Theory and Practical Applications. Cambridge University Press. 353 p.

Sürgün uzunluğu = $11.528 + (-0.199) \cdot \text{Doz}$, $R^2 = 91.66$, $ED_{50} = 31.50$, Nem: %87.26



Sürgün uzunluğu = $10.742 + (-0.227) \cdot \text{Doz}$, $R^2 = 91.81$ %, $ED_{50} = 25.73$, Nem: %84.48



Sürgün uzunluğu = $7.401 + (-0.171) \cdot \text{Doz}$, $R^2 = 91.69$, $ED_{50} = 21.47$, Nem: %86.35

Şekil 2. M₁V₁ generasyonunda izlenen yaprak anormallikleri ve klorofil mutasyonları

