

SARIMSAKTA (*Allium sativum* L.) RADYASYONLA MUTASYON ISLAHINA YÖNELİK OLARAK "ETKİLİ MUTASYON DOZUNUN" BELİRLENMESİ¹

Yaprak TANER²
Burak KUNTER²

Gülay BEŞİRLİ³
Ruhsar YANMAZ⁴

ÖZET

Radyasyonla mutasyon ıslahı çalışmalarına temel oluşturmak üzere yürütülen bu çalışmada, fiziksel mutagen olarak sarımsak dişlerine Cs¹³⁷ kaynağı ile 0, 5, 10, 15, 20, 25, ve 30 Gy dozlarında ıslama yapılmıştır. ıslama sonrası 60. günde, her doz için dikilen 50'şer adet dişte farklı ıslam dozlarının çimlenme ve sürgün gelişimleri üzerine olan etkileri incelenerek "Etkili Mutasyon Dozu" (ED₅₀) lineer regresyon analizleriyle hesaplanmıştır. Buna göre 4.455 Gy'lik doz, Taşköprü sarımsağı için etkili mutasyon dozu olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sarımsak, Mutasyon Islahı, Gama Işını, Etkili Doz (ED₅₀)

SUMMARY

DETERMINING EFFECTIVE RADIATION MUTAGEN DOSE FOR GARLIC (*Allium sativum* L.)

This study was carried out to get database for future garlic mutation breeding studies. For this aim, 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 Gy doses of Cs¹³⁷ (gamma-ray) were applied on garlic cloves as a physical mutagen. 50 cloves were used for each dose. Sixty days after treatment, germination rate and shoot development of cloves were determined. The Effective Mutagen Dose (ED₅₀) was calculated by regression analyses. According to the results, 4.455 Gy dose was found to be effective as ED₅₀.

Keywords: Garlic, Mutation Breeding, Gamma Rays, Effective Dose (ED₅₀)

¹Yayın Kuruluna geliş tarihi: Ocak, 2005

²Dr., Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, ANTHAM Radyobioloji Bölümü ANKARA

³Uz., Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü YALOVA

⁴Prof. Dr., Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakùltesi, Bahçe Bitkileri Bölümü ANKARA

GİRİŞ

Sebze ve tıbbi bitki olarak kullanılan sarımsak (*Allium sativum*), vegetatif olarak çoğaltılan bir bitki türüdür. Üretim, başları oluşturan dişler ile yapılmaktadır. Genetik özellik ve bazı fizyolojik koşullara bağlı olarak çiçeklenme göstermekle birlikte tohum oluşturmamaktadır. Sarımsağın döllenme biyolojisi incelendiğinde çiçek açım döneminde meiosis bölünme gerçekleşmesine rağmen çekirdek bölünmesinin olmadığı, mikrosporların yoğun bir protoplazma ile örtülerek etrafının zarla çevrildiği belirlenmiştir. Bunun sonucunda vakuollerin oluşumu ile hücre içinde bir boşalma olmakta ve meydana gelen kuruma sonrası mikrosporların tamamı ölmektedir. Bu nedenle tohum oluşumu gerçekleşmemekte ve hücre içindeki vegetatif kökenli organeller gelişerek sadece çiçek tablası üzerinde apomiktik dişler oluşmaktadır. Bu yapı nedeniyle tohumla çoğaltılan diğer sebze türlerine karşın bu türün çoğaltımı vegetatif olarak toprak altında oluşan baştaki dişler ve çiçek tablasında oluşan dişcikler ile yapılabilir (5,7). Bu nedenle yürütülen ıslah çalışmalarında da klon seleksiyonu önem taşımaktadır. Ancak özellikle bu türde vegetatif çoğaltım yapılması nedeniyle, elde mevcut olan ıslah materyalinde varyasyon yaratmak araştırmacılar açısından bir sorun oluşturmaktadır. Dolayısıyla araştırmacılar yeni varyabiliteler yaratabilmek amacıyla bitki doku kültürü tekniklerinden, kimyasal ya da fiziksel mutagen uygulamalarından yararlanma yoluna gitmektedirler (8,12). Somaklonal varyasyon yaratmak amacıyla sarımsakta yapılan kallus ve süspansiyon kültürlerinden %40 oranında yaşama yeteneğinde bitki eldesi söz konusu olmuşsa da bu bitkilerin tarla koşullarında yaşatılamaması önemli bir problem olarak ortaya çıkmaktadır (11). Bu nedenle soğanlı bitkilerde yürütülen ıslah çalışmalarında mutasyon ıslahı tekniklerinden yararlanılarak, çalışmaların farklı dozlarda ışınlanan ya da kimyasal mutagenlerle muamele edilen vegetatif materyalle sürdürülmesi son yıllarda alternatif bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (1,10,13).

Mutasyon ıslahında, değişik ışın kaynaklarını mutagen olarak kullanarak varyasyon yaratma bir çok ülkede 1950'li yıllarda başlamıştır (2). Örneğin Çin'de, ışın kaynaklarından mutasyon ıslahı çalışmalarında yararlanmak üzere

ilk Atomik Enerji Uygulama Enstitüsü 1957 yılında kurulmuş olup, günümüzde aynı ülkede bu amaç için çalışan 20 adet araştırma enstitüsü bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda, 562'si tarımsal üretimde kullanılan ve 67'si süs bitkisi olmak üzere toplam 629 adet çeşit geliştirilmiştir. Tarımsal üretimde kullanılan çeşitlerin 534 tanesi tohum ile çoğaltılan türlere ait iken 28 tanesi vegetatif olarak çoğaltılan türlere ait çeşitlerdir. Vegetatif olarak çoğaltılan çeşitler arasında *Allium macrostemon* sarımsak türüne ait Ninguan 1 isimli bir sarımsak çeşidi de vardır. Bu çeşidin geliştirilmesinde fiziksel mutagen olarak gama ışın kaynağı kullanılarak, 15 Gy'lik dozda ışınlama yapılmıştır. Yapılan bu uygulamada mutasyon ıslahı ile Çin sarımsağının verim ve kalitesinin artırılması hedeflenmiştir (2).

Bunların yanı sıra Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı'na ait kayıtlarda, vegetatif olarak çoğaltılan ve soğanlı bitkilerden olan *Iris* türüne ait 4 adet çeşit bulunduğu görülmektedir (9). Rusya tarafından tescil ettirilen bu çeşitler mutasyon ıslahı metodu ile geliştirilmiştir (1,9).

Bu çalışmada Taşköprü sarımsağına ait dişler, Cs¹³⁷ gama ışın kaynağı ile 7 farklı dozda ışınlanarak; uygulanan ışın dozunun çimlenme ve bitki boyu üzerine yapmış olduğu etkiler belirlenmiştir. Elde edilen veriler lineer regresyon analizine tabi tutularak etkili mutasyon dozu (ED₅₀) hesaplanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırmada, çoğaltım materyali olarak Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından 1995 yılından bu yana yürütülmekte olan 'Kastamonu Sarımsağının Klonal Seleksiyon Metodu ile Islahı' isimli projede ümitvar olarak bulunan T 56 klonuna ait baş ve dişler kullanılmıştır. T 56 sarımsak klonunda baş kabuk rengi krem-beyaz, kabuk sayısı 4-6 adet olup başlar sıkı yapılıdır. Ortalama baş ağırlığı 20-25 g diş sayısı 12-14 adettir. Ortalama diş ağırlığı 1.46 g'dır. Denemede üretim için en uygun irilik olan 2.5-3.5 g ağırlığındaki dişler kullanılmıştır (4).

Deneme 2002 yılı ilkbahar döneminde yapılmıştır. 2001 yılında üretilen sarımsak başları

deneme zamanına kadar adi depo koşullarında muhafaza edilmiştir.

Metot

Denemede kullanılacak dişler 50'şerlik gruplar halinde hazırlanarak (1,3), Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Ankara Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi (TAEK-ANTHAM) Gama Işınlama ve Gıda Sterilizasyonu Bölümünde bulunan Cs¹³⁷ kaynağı ile ışınlanmıştır. Işınlama dozu olarak, yumrulu ve soğanlı bitkilerde uygulanan dozlar dikkate alınarak 0, 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 Gy'lik 7 farklı doz uygulanmıştır (8,10). Işınlanan materyal, 1:1:1 oranında hazırlanan ve buharla sterilize edilen harç karışımı içeren kasalara 10x5 cm mesafelerle dikilmiştir (Şekil 1). Dikimden sonraki 60. günde etkili mutasyon dozunu (ED₅₀= kontrolün fide boyunu ve köklenmesini %50 azaltan doz) belirlemek üzere sayımlar yapılmıştır (3), (Şekil 2). Ayrıca bitki gelişimi üzerine farklı ışın dozlarının yapmış oldukları etkiyi belirlemek üzere bitki boyu, kök uzunluğu, yaprak sayısı ve yalancı gövde çapına ait ölçümler de gerçekleştirilmiştir.



Şekil 1. Işınlamadan sonra dikim yapılan kasaların görünümü.

Figure 1. The cloves sowed in box after treated with gamma-ray.



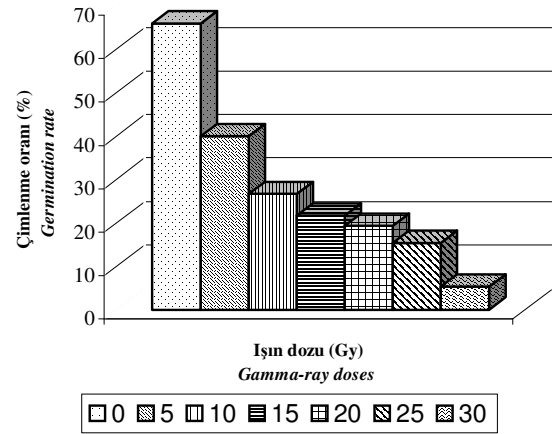
Şekil 2. 60. günde denemenin görünümü.

Figure 2. Germination of gamma-ray treated plants after 60 days.

Araştırma sırasında elde edilen veriler lineer regresyon analizine tabi tutularak (Çizelge 1) “Etkili Mutasyon Dozu” (ED₅₀) belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Cs¹³⁷ gama ışın kaynağı ile 7 farklı dozda, 50'şer diş ışılandıktan sonra, açık tarla koşullarında kasalara dikilmiştir. Çimlenme oranını belirlemek üzere, dikimden 60 gün sonra sayım yapılmıştır. Yapılan sayımda, kontrol uygulamasında %66 oranında çimlenme gerçekleşirken, bu oran uygulanan ışın dozunun artışına bağlı olarak düşüş göstermiştir. Elde edilen bulgulara göre; çimlenme oranı 5 Gy'lik dozda % 40.5, 10 Gy'lik dozda % 26.7, 15 Gy'lik dozda % 22.7, 20 Gy'lik dozda % 19.7, 25 Gy'lik dozda % 15.40 ve 30 Gy'lik dozda ise %5.3 olmuştur (Şekil 3).



Şekil 3. Farklı dozlarda ışınlanan sarımsak dişlerine ait % çimlenme değerleri.

Figure 3. Relative germination rate of cloves treated with different gamma-ray doses.

Bu verilere göre, 10 Gy'lik dozdan itibaren, 5 Gy'lik doza göre çimlenme oranının yarıya düştüğü saptanmıştır. Elde edilen bu verilerin, Rosario ve Miranda (12)'nin Ilocos white ve Laguna sarımsak çeşitlerinde varyabilite yaratmak üzere yürütmüş oldukları araştırma ile paralellik gösterdiği, araştırmacıların da belirttiği gibi genoma bağlı olarak 10 Gy'lik ışın dozun-

dan sonraki artan dozların öldürücü etkide bulunduğu belirlenmiştir.

Yine yapılan ölçümler sırasında Şekil 4’de görülebileceği gibi 10 Gy’lik dozlardan itibaren dişlerde sadece kök oluşumunun gerçekleştiği, sürgün oluşumunun daha düşük bir oranda ortaya çıktığı belirlenmiştir.

İlk 60 günlük süreç içinde sürmüş olduğu tesbit edilen dişlerden elde edilen sürgünlerin artan ışın dozuna bağlı olarak öldüğü ve diş içlerinin ise tamamen boş olarak çürüdüğü görülmüştür. Özellikle bu etkinin 30 Gy’lik dozda en yüksek oranda ortaya çıktığı belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuç, genoma bağlı olan etkiler de göz önünde tutularak değerlendirildiğinde, Rosario ve Miranda (12), Hayward ark. (8)’in çalışmalarında 2-6 Gy arasındaki dozların kullanılması gerektiği sonucunun kendi yerli sarımsak çeşidimiz için de doğrulandığını göstermiştir.

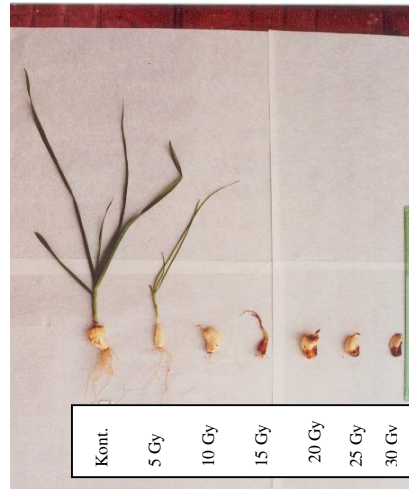
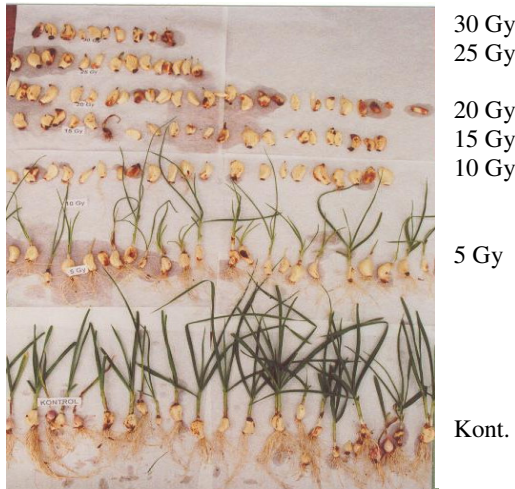
Işınlamadan sonraki 60. günde yapılan ölçümler sonucunda Çizelge 1’den de izlenebildiği gibi artan ışın dozuna bağlı olarak kök uzunluğu, yalancı gövde çapı, bitki boyu ve yaprak sayısında önemli düşüşlerin gerçekleştiği saptanmıştır. Kontrol uygulamasında 7.38 cm olan kök uzunluğunun 5 Gy’lik dozda 4.78 cm, 10 Gy’lik uygulamada 1.10 cm olduğu buna karşı-

lık 25 ve 30 Gy’lik uygulamalarda ise hiç kök oluşumunun gerçekleşmediği tesbit edilmiştir. Aynı şekilde ortalama bitki boyu uzunluğu kontrol uygulamasında 17.81 cm, 5 Gy’de 7.68 cm olarak belirlenmiştir. Artan dozlara bağlı olarak 10 Gy’den sonra 60. günde yapılan ölçümlerde sürme oranının oldukça düşük olduğu ve başlangıçta dişlerden sürmüş olan sürgünlerin doz şiddetinin artışına paralel olarak kurudukları belirlenmiştir (Çizelge 1, Şekil 4).

Benzer olarak artan ışın dozlarının ortalama yalancı gövde çapı ve yaprak sayısı üzerinde de olumsuz etkiler yaptığı saptanmıştır.

Araştırma sonucunda uygulanan 7 farklı dozdan elde edilen verilerle yapılan lineer regresyon analizleri sonucunda 4.455 Gy’lik dozun, etkili mutasyon dozu (ED_{50}) olduğu (Çizelge 1) ve bu dozda ışınlanan bitkilerin %50’inin yaşama yeteneğinde (sürme ve köklenme yeteneğinde) olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen bu veri doğrultusunda bundan sonra sarımsakta varyabilite yaratmak amacıyla yürütülecek olan mutasyon çalışmalarında, ışınlamada kullanılacak kaynak gücüne, etkinliğine ve genoma da bağlı olarak 4-5 Gy’lik akut gama ışın dozlarının etkili olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.



Şekil 4. Işınlamadan sonraki 60. günde farklı dozlarda ışınlanmış dişlerden elde edilen bitkilerin görünümü.

Figure 4. Plants treated with different gamma-ray doses after 60 days.

Çizelge 1. Farklı ışın dozlarında elde edilen bitkilerde kök uzunluğu, yalancı gövde çapı, bitki boyu ve yaprak sayısı değerleri.

Table 1. Some properties of plants after 60 days treated with different dose of gamma-ray.

Işın Dozu (Gy) Gamma-ray doses	Kök uzunluğu (cm) Root length	Yalancı gövde çapı (mm) Pseudostem diameter	Bitki boyu (cm) Plant length	Yaprak sayısı Leaf number
0	7.386	2.304	17.814	2.7
5	4.78	1.804	7.68	2.2
10	1.104	0.388	0.19	0.19
15	0.172	0.572	0.18	0.14
20	0.036	0.656	0.16	0.10
25	0	0.471	0.11	0.09
30	0	0.070	0	0.04
Regresyon değeri Regression value			4,455 Gy	

(Sürgün uzunluğu % = $11.09 + (-0.49) \times \text{Doz}$, $R^2 = 0.603$)

(% Shoot length = $11.09 + (-0.49) \times \text{Dose}$, $R^2 = 0.603$)

KAYNAKLAR

- Anonim, 2002. Bitki Islahında Mutasyon ve Doku Kültürü Teknikleri. *TAEK-ANTHAM Nükleer Tarım Radyobiyojoloji Bölümü*, 111 s., Ankara.
- Anonymus, 2004. Mutation Breeding Review. *International Atomic Energy Agency (IAEA)*, No: 14, Wien, Austria.
- _____, 1977. Manual On Mutation Breeding. *International Atomic Energy Agency, Technical Report Series No:119*, Vienna. 290p.
- Beşirli, G., R. Yanmaz ve D. Güçlü, 1999. Sarımsak Yetiştiriciliğinde Diş İriliğinin Baş İriliği ve Verime Etkisi. *Türkiye 3. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildiri Kitabı*, 715-719 s. Ankara
- _____, 2000. Sarımsakta Apomiktik Yolla Oluşan Dişlerin Üretimde Kullanılabilirliği. *III. Sebze Tarımı Sempozyumu Bildiri Kitabı*, 361-364 s., Isparta.
- Brewster, J. L., 1994. Onions and Other Vegetable Alliums. *CAB International Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK*.
- Günay, A., 1992. Özel Sebze Yetiştiriciliği. *Cilt II. (2. Baskı). Ankara Üniv., Ziraat Fak., Bahçe Bit. Böl. Ankara*.
- Hayward, M.D., N.O. Bosemark and I. Romagosa, 1993. Plant Breeding Principles and Prospects. *CIHEAM, Chapman&Hall, 550p*.
- Maluszynski, M., K. Nichterlein, L. Van Zanten and B.S. Ahloowalia, 2000. Officially Released Mutant Varieties-The FAO/IAEA Database. *Mutation Breeding Review, No:12*, 85p.
- Micke, A. and B. Donini, 1993. Plant Breeding Principles and prospects. *CIHEAM, Chapman&Hall, 550p*.
- Novak, F.J., 1985. Somaclonal Variation in Garlic Tissue Culture as A New Breeding System. *Plant Breeding Abstracts 1985* 055-06462.
- Rosario, T.L. and M.B. Miranda, 1991. Induced Mutation in Garlic (*Allium sativum*). In: Plant Mutation Breeding for Crop Improvement; Proceedings of. Vienna : IAEA. 485-489 p.
- Van Harten, A.M., 1998. Mutation Breeding, *Theory and Practical Applications. Cambridge University Press. 353 p*.

