

BİTKİ ISLAHINDA KİMYASAL MUTAGENLER VE UYGULAMASI

CHEMICAL MUTAGENS AND THEIR APPLICATION IN PLANT BREEDING

Zafer SAĞEL*

1. Kimyasal Mutagen Çeşitleri

Kimyasal mutagenlerin sayısı çok fazladır ve sürekli artmaktadır. Kültür bitkilerinde mutasyon meydana getiren kimyasal mutagenlerin sayısı çok azdır. Bunlar sırasıyla, Etil metan sülfanat (EMS), di etil sülfat (dES), etil amin (EI), etil nitrasa üretan (ENU), etil nitrosa urea (ENH) ve metil nitrosa urea (MNH). Asitlerde aynı zamanda etkili bir mutagendir.

Kimyasal mutagenler esas olarak 4 ana grup içinde sınıflandırılırlar.

1.1. Temel Analoglar

DNA kökleriyle ilgili olan analogları adenin, guanin, citozin ve timindir. En çok kullanılan analoglar 5-bromo-urasil (BU), 5 bromo deoxiuridin (BUdR) bunlarda timin'in analoglarıdır. 2 Amino-purinde (AP) adenin'in analoglarıdır. KIHLMAN ve LEVAN, 1951'de N-metilated oxypurinlerin kromozom kırılmasına etkili olduğunu saptamışlardır (KIHLMAN, 1961).

Maleric hidrazid (MH) urasil'in yapısal izomeri olup Vicia faba köklerinde kromozom kırılmasına neden olmaktadır. Bu kırılmalar MH urasil'in analogu olduğu için değil MH'in içerisindeki sulfidril grupları ile reaksiyonu sonucu mutageniktir.

1.2. Antibiyotikler

Antibiyotikler, azasenin, mitomicin C, Streptonigrin, actinomicin D kromozom kırılmalarına neden olmaktadır. Bunların pratik amaçlarla kullanımı çok sınırlıdır.

* Dr.T.Atom Ener.Kur., Ank.Nükleer Arş. ve Eğ.Mrk., Nükleer Tar.Bl.

1.3. Alkali Edici Maddeler

Kültür bitkilerinde mutasyon meydana getiren kimyasal mutagenlerin en önemli grubudur. Bu etkiye sahip bir veya birçok alkali grubunu bulundurlar. Purin ve Pirimidin köklerindeki fosfat gruplarını alkali ederek DNA ile reaksiyona girerler. 7-alkali guanin formasyonu çok sık meydana gelen bu olaylara neden olurlar.

Alkali grupların arasında en önemli olanları şunlardır : Etil metan sülfanat (EMS), etil amin (ET), dietil sülfanat (DES) ve etil nitroz urea (ENH)'dir.

1.4. Azidler

Belli şartlar altında etkili bir mutagenidir. Azidlerde yüksek mutasyon frekansı edilebilir. KLEINHOGS ve ark. (1974) azid ve asit solusyonlarının arpada morfolojik mutasyonlar, klorofil mutasyonları meydana getirmede çok etkili olduğunu bildirmişlerdir. Oksijenli suda ön ıslatma mutagenik etkiyi artırmaktadır.

Bunlardan başka Hidroksilamin (N_2OH) (Bitkilerde kromozom kırılmasına neden olurlar. DNA'daki sitozinle reaksiyona girerek), Nitroz asit (HNO_2) (Mikroorganizmalar ve virüslerde DNA'nın purin ve pirimidin köklerini amine eder) Akridinler (kromozom kırılmasına neden olurlar) gibi kimyasal mutagenlerde bulunmaktadır.

2. Kimyasal Mutagenlerin Uygulanma Yöntemleri

2.1. Bitki Materyal Tipi

Kimyasal mutagenlerle mutasyon meydana getirmede en çok kullanılan yöntem mutagen solusyonlarında tohumların ıslatılmasıdır. Bununla beraber tohumdan başka yumru, soğan, ağaç sürgünleri ve filizleri gibi diğer bitki organlarının da muamele edilmesi mümkündür.

2.2. Kimyasal Mutagenlerin Uygulanması

Uygulama işlemleri çeşitli şekillerde yapılabilmektedir.

a. Tohumlar, uyuyan gözler ve sürgünler için uygun konsantrasyon hazırlanır ve bitki kısımları solusyon içinde ıslatılır.

b. Hazırlanmış mutagen solusyonunun uygun miktarı mutagen uygulanacak organın içine veya yanına enjekte edilebilir.

c. Hazırlanan mutagen solusyonu pamuğa emdirilerek bitki gövdesine uygulanır.

d. Düşük konsantrasyondaki solusyonlar kök ortamına verilir ve bitkinin köküne ulaşması sağlanır.

e. Polenler mutagenin buharına maruz bırakılarak uygulama yapılabilir.

2.3. Kimyasal Mutagenlerin Uygulanmasına Etkileyen Faktörler

Kimyasal mutagen uygulamalarında uygulama öncesi, sırasında ve sonrasında birçok faktör etkilidir (Çizelge 1).

2.4. Doz

Yüksek mutagenik etki için istenen doz kimyasal mutagenin özelliğine bağlıdır. Uygulama ortamı ve uygulanan materyalin özelliği ve mutagen solusyonun konsantrasyonu doza etkilidir. Kimyasal mutagenin dozu, uygulama süresi, uygulama konsantrasyonu ve ortamın sıcaklığına göre hazırlanır.

a. Konsantrasyon

Uygulanan solusyonunun hacmi, konsantrasyonu belirlemede rol oynar. Solusyon, tohumların hepsine aynı miktarda mutagenik molekülleri absorbe edecek şekilde önceden hazırlanır ve uygulanır (Tahıllar için yapılan çalışmalarda her tohuma 1 ml solusyon olarak verilmiştir). Düşük sıcaklıklarda uzun süre düşük konsantrasyonlu uygulamalarla M₁ generasyonunda yüksek oranda yaşama sağlanmış ve yüksek mutasyon frekansı elde edilmiştir (KONZAK ve ark., 1965). Çizelge 2'de kimyasal mutagenlerin konsantrasyon sınırları % de ve molar olarak verilmiştir.

Çizelge 1. Kimyasal Mutagenlerle Tohum Muamelesinde Uygulanan İşlemler

Yeni Ürün Tohum

Çimlenme Kabiliyeti % 95-100

Tohum % 13 Neme ayarlanır

Ön İslatma

4 lt/sn akan çeşme suyu altında çeşitli sürelerde
(0, 3, 6, 12, 16, 20 veya 24 saat)
(20-25° C)

Muamemele

Kimyasal mutagenin çeşidine göre çeşitli doz
ve sürelerde (0.5 , 2 veya 3 saat)
(20-25° C)

Uygulama Sonrası Yıkama

4 lt/sn akan çeşme suyu altında çeşitli sürelerde
(0, 6, 12 veya 24 saat)
(20-25° C)

Ekim

Seraya veya Tarlaya

b. Uygulama Süresi

Mutagen uygulanacak dokuya mutagenin iyi bir şekilde etkisini sağlayabilmek için uygulama süresi uzun tutulmalıdır. Süre tohumun özelliğine göre değişmektedir. Tüm kabuksuz tohumlar için yaklaşık 3-5 saattir. Mutagen uygulamasından önce tohumlarda ön ıslatma yapmak uygulama süresini önemli derecede kısaltır.

Çizelge 2. Kimyasal Mutagenlerin Konsantrasyon Sınırları

Mutagen	Konsantrasyon Sınırları	KAYNAKLAR
EMS	0.05–0.3 M ile 0.3–1.5 %	MIKIELSEN, K., AHNSTRÖM, G., LI, W.C., 1968; KONZAK, C.F., NILAN, R.A., WAGNER, J., FOSTER, R.J., 1965; SAVIN, V.N., SWAMINATHAN, M.S., SHARMA, B., 1968.
dES	0.015–0.02 M ile 0.1–0.6 %	MIKAELEN, K., AHNSTRÖM, G., LI, W.C., 1968; KONZAK, C.F., NILAN, R.A., WAGNER, J., FOSTER, R.J., 1965.
EI	0.85–9.00 mM ile 0.05–0.15 %	WAGNER, J.H., NAWAR, M.M., KONZAK, C.F., NILAN, R.A., 1968.
ENH MNH	1.2–14.0 mM ile 0.01–0.03 %	GICHNER, T., GAUL, H., OMURA, T., 1968; SAVIN, V.N., SWAMINATHAN, M.S., SHARMA, B., 1968.
NaN ₃	0.001–0.004 M	

c. Uygulama Ortamının Sıcaklığı

Mutagenik solusyonun uygulandığı ortamın sıcaklığı kimyasal mutagenlerin hidroliz oranına etkilidir. Hidroliz süresi kısa olan mutagenler için uygulama ortamının sıcaklığı çok önemlidir. dES gibi kısa hidroliz süresine sahip mutagenlerde uygulama ortamının sıcaklığı 30°C olduğunda uygulama süresi 1 saat iken 20°C'ye düştüğünde 3.5 saat olmalıdır. Oda sıcaklığında farklı sürelerde ön ıslatma yapılmış tohumlar yaklaşık 20–25°C'de yarım saat ile 2 saat arasında uygulama süresine tabi tutulabilirler.

2.5. Ön İslatma

Uygulama öncesi ıslatma ile tohumların kimyasal mutagenlere duyarlılıkları büyük oranda arttırılmaktadır. Tohumlar 20°C'de 16–18 saat ön ıslatma yapıldığında ön ıslatma daha etkili olmaktadır. Ön

ıslatma süresi, sıcaklığa, ıslatma solusyonun terkbine ve tohumun özelliğine bağlıdır.

2.6. Uygulama Sonrası Yıkama

Mutagen uygulamasından sonra hiçbir işlem yapılmadan kurutulmuş tohumlarda mutagenik etki devam etmektedir. Mutagenin etkisini azaltmak için muamele edilmiş tohumların kurutma kağıdı ile kurutulmadan önce akan çeşme suyu ile yıkanması gerekir. WALLER 1967'de tohumların üzerinde önemsiz düzeydeki mutagen konsantrasyonunun azaltılması için kısa bir süre yıkanmasının yeterli olduğunu belirtmiştir.

KAYNAKLAR

- GICHNER, T., GAUL, H., OMURA, T., 1968. The influence of post-treatment washing and redrying of barley seeds on the mutagenic activity of N-methyl-N-nitroso-urea and N-ethyl-N-nitroso-urea. Radiat. Bot. 8,p.499-507.
- KIHLMAN, B.A., 1961. Biochemical aspects of chromosome breakage, Adv. Genet. 10, p.1-59.
- KIHLMAN, B.A., LEVAN, A., 1951. Localized chromosome breakage in Vicia faba, Hereditas, p.382-388.
- KLEINHOF, A., SANDER, C., NILAN, R.A., KONZAK, C.F., 1974. Azide mutagenicity-mechanism and nature of mutants produced, Polyploidy and Induced Mutations in plant Breeding (Proc.Meeting Bari, 1972), IAEA, Vienna, p.195-99.
- KONZAK, C.F., NILAN, R.A., WAGNER, J., FOSTER, R.J., 1965. Efficient chemical mutagenesis, The use of Induced Mutations in plant Breeding (Rep.FAO/IAEA Tech.Meeting rome, 1964), Pergamon Press, Oxford, p.49-70.
- MIKAELSEN, K., AHNSTRÖM, G., LI, W.C., 1968. Genitiv effects of alkylating agents in barley. Influence of post-storage, metabolic state and pH of mutagen solution, Hereditas 59, p.353-374.
- SAVIN, V.N., SWAMINATHAN, M.S., SHARMA, B., 1968.

Enhancement of chemically induced mutation frequency in barley through alteration in the duration of presoaking of seeds, Mutat. Res. 6, p.101-107.

WAGNER, J.H., NAWAR, M.M., KONZAK, C.F., NILAN, R.A., 1968. The influence of pH on the biological changes induced by Ethyleneimine in barley, Mutat.Res. 5, p.57-64.

WALLES, S., 1967. Uptake of ethylmethanesulfonate into embryos of barley, Hereditas 58, p.95-102.