

Mutasyon

Kültür bitkilerine istenilen özelliklerin kazandırılmasında, kalıtsal yapıda ani değişmeler (mutasyon) yapacak yöntemlerin kullanılmasıyla kısa zamanda yeni varyasyonlar yaratılabilmektedir. Çeşitli mutasyon oluşturuıcı etkenler (mutagenler), bitkilerin kromozomlarının yapı ve sayılarında ya da genlerinin fiziksel ve kimyasal yapılarında ani olarak bir takım kalıtsal değişiklikler yaparak, onlara olumlu ya da olumsuz yeni özellikler kazandırabilmektedir. Mutasyonların oluş şekillerine ya da sonuçlarına göre birçok tipi söz konusudur.

Mutasyon tipleri aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir:

Mutasyon Tipleri

1. Büyüklüklerine Göre

A. Nokta Mutasyonları: Bir tek ya da çift nükleotide oluşur.

- ◆ Anlamsız "nonesense" sonlandırmayı kodlar.
- ◆ Sessiz "samesense" kodlanmayan bölgede ortaya çıkar
- ◆ Yanlış anlamlı "missense" bir nükleotit değişir, yeni aminoasit nedeni ile proteinin işlevi bozulur.
- ◆ çerçeveye kayması "frameshift" nükleotitlerin çıkarılması ya da eklenmesi ile okuma düzeni bozulur.

B. Büyük Mutasyonlar (gen- Kromozom- genom)

2) Niteliklerine Göre

A) Yapısal Mutasyonlar: Değişiklik genin nükleotid içeriğindedir.

✿ Yer değiştirme (substitution)

Düz geçiş (transition)

Çapraz geçiş (transversion)

✿ Parça eksilmesi (deletion)- genin bir kısmının kaybolması

✿ Parça eklenmesi (insertion)- gene bir ya da daha fazla nükleotidin eklenmesi

B) Yeniden düzenleme mutasyonlar: Genom içinde genin yerinin değişmesi

✿ Gen içerisinde-benzer fonksiyonlu genler arasında olabilir

✿ Kromozomda gen sayılarında-homolog kromozomlarda gen sayıları bakımından farklılıklara neden olabilir

✿ Gen lokuslarının hareketi-gen lokuslarının yer değiştirmesi.

Translokasyon-genin homolog olmayan kromozoma yerleşmesi

İnversiyon-genin aynı kromozom içerisinde yer değiştirmesi

3) Kökenlerine Göre

A) Doğal Mutasyonlar: kökeni bilinmeyenler

B) Genetik Mutasyonlar: Mutasyon yapıcı genlerin (mutatör) etkisiyle ortaya çıkar

✿ Spesifik mutatörler- etkileri tek lokustadır

✿ Spesifik olmayan mutatörler- çok lokusta etkilidir

C) Yapay Mutasyonlar: Anormal çevre koşullarında olur

✿ İyonize mutasyonlar (alfa, beta, gama, x-ışınları, proton, nötron)- kimyasal değişikliğe neden olur.

✿ İyonize olmayan radyasyonlar (ultraviyole, sıcaklık)- atomların enerji düzeylerini yükseltir ve stabilitelerini azaltır.

✿ Kimyasal mutagenler- genlerin mutabiliteğini artırır.

* kopma hataları-DNA replikasyonu sırasında mutantlar oluşur

* doğrudan gen değişiklikleri-replike olmamış DNA oluşturur.

4) Fenotipik Etki Büyüklüklerine Göre

A) Mutasyon oranındaki değişiklik: bazı alleller sadece mutasyon frekansları ile ayırt edilir

B) İzoleller: Homozigot ya da heterozigot kombinasyonlarda identik yapılar oluşur

C) Mutant canlılığının etkilenmesi

- * Canlı- mutantlar %10-100 arasında yaşar
- * Yarı öldürücü - %90-100 arasında ölüm oranı
- * Öldürücü- mutantların tamamı ölür

5) Yönlerine Göre

A) İleri Mutasyonlar: değişiklik normalden anormal fenotipe doğrudur.

B) Geri Mutasyonlar: değişiklik anormalden-normale doğrudur.

- * Tek yer mutasyonu- değişiklik bir nükleotid ile ilgilidir.
- * Gizli mutasyon- gende oluşan değişikliğin geri etkisi farklı yerde oluşur. (intergenik-farklıgen; intragenik-aynı genin farklı nükleotidinde)

6) Hücre tipine göre

A) Somatik mutasyonlar

B) Gametik Mutasyonlar

Araştırmalar, mutasyon oluşturuvcu etkenlerin uygun doz ve sürelerde kullanılmasıyla kültür bitkilerinde; verim, dayanıklılık, kalite, erkencilik ve uyum yeteneği konularında olumlu değişimler sağlanabileceğini göstermektedir.

Bağımsız genlerde doğal olarak mutasyon oluşma frekansı 1/1.000.000'dir. Yapay mutasyon uygulamalarıyla istenen özellik yönünden mutasyon oranını artırmak

amaçlanmaktadır. Mutasyon oranı çok değişik şekillerde artırılabilir. **Bunlar arasında sıcaklık, uzun süreli depolama, doku kültürü koşulları, radyasyon ve kimyasal mutagenlerin kullanılması yer almaktadır. Günümüzde radyasyon ve kimyasal mutagenler etkin şekilde kullanılmaktadır,** istenilen genetik değişmeyi sağlayacak madde etki, uygunluk ve aktivitesine göre dikkatlice seçilmelidir.

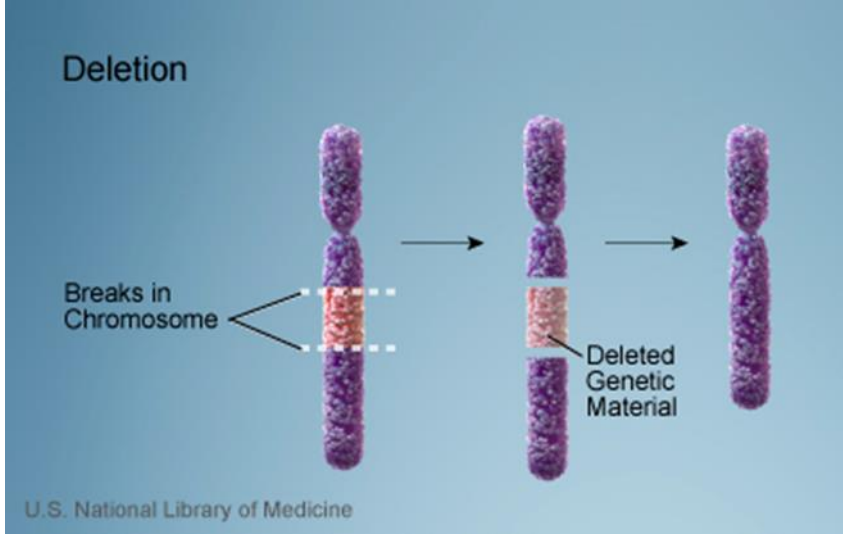
Bitkilerde mutagenlerin etkisiyle oluşan mutasyonlar genel olarak; **genomda, kromozomlarda, genlerde ve hücre çekirdeğinin dışındaki kısımlarda olmak üzere dört tiptir.** Genom mutasyonları, tüm kromozom takımının ya da parçalarının kaybolması ya da eklenmesi ile kromozom sayılarında oluşan değişimleri içerir. Bu konu ayrıntılı olarak "Poliploidi" başlığı altında açıklanmıştır.

Kromozom yapılarındaki değişimler, genellikle kromozomların enine kopmalarından kaynaklanmaktadır. Bunlarda; kromozom parçası uç kısımdan kopup kaybolabildiği (**defisiyens**) gibi aradan bir parça da eksilebilmektedir. Bunun dışında, kromozomun içinden kopan bir parça 180° dönerek yine aynı yere yapışabilmekte (**inversiyon**), kromozoma yeni bir parçanın eklenmesi ile parça çoğalması (**duplikasyon**) da ortaya çıkabilmektedir. Kromozom yapısı değişikliklerinin en önemlilerinden biri de **homolog olmayan kromozomlarda parçaların yer değiştirmesidir (translokasyon).** Anılan bu kromozom yapısı değişikliklerinde, kromozom üzerinde genlerin dizilişleri değişmekte ve dolayısıyla fonksiyonlarında değişimler ortaya çıkmaktadır. Bu değişimler bitkide yeni özellikler olarak kendini göstermektedir.

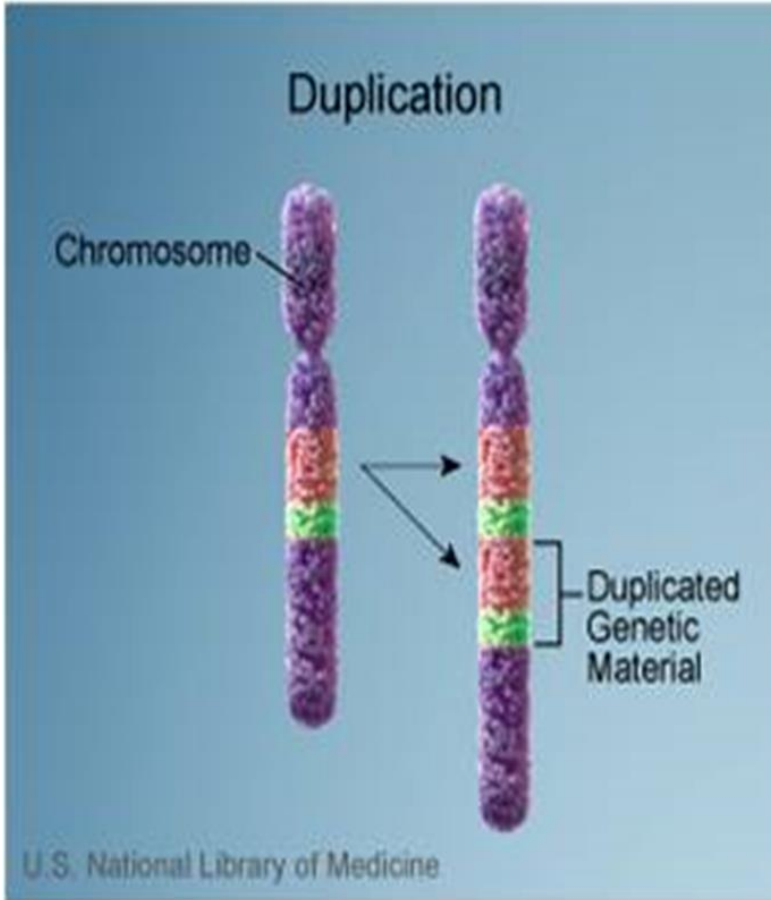
Delesyon ve Defisiyens:

Bir kromozomun bir parçasının kopup, kaybolmasıyla meydana gelen olaydır. Bu olayın sebebi kromozomlardaki kırılmalardır. Kopan parça eğer sentromer taşııyorsa canlılığını devam ettiremez. Çünkü mayoz ve mitoz bölünmelerde kromozomların kutuplara hareketini sağlayan merkez olan sentromer olmadığı için kutuplara ulaşamaz. Böylece parça kaybolur ve üzerindeki genlerde kaybolmuş olur.

Delesyonlar, kromozomların uç kısmından ya da iç kısmından olabilir. İçten eksiklik durumunda kromozom iki noktasından kırılır. Uçtan kırılmalarda ise tek noktadan kırılma olur. Uçtan kopmalar bitkilerden mısırdaki çok görülen bir olaydır.

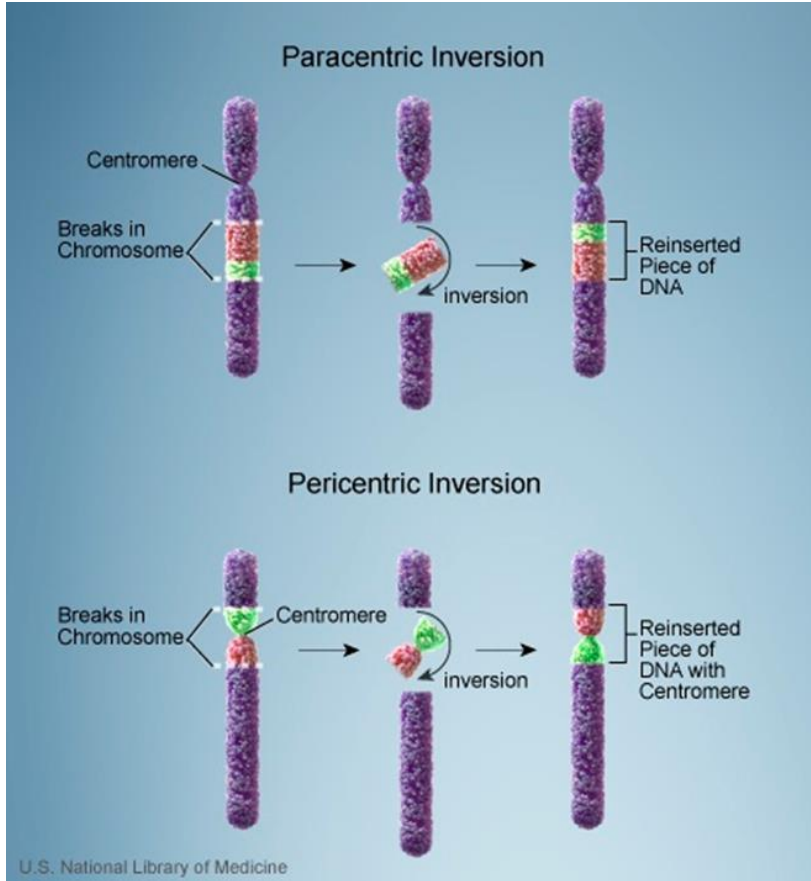


Duplikasyon : Bir kromozom parçasının o kromozom üzerinde iki veya daha fazla tekrarla görülmesidir. Duplikasyonun üç değişik özelliği bulunur. Birincisi, duplikasyon geninin birden fazla kopyasının bulunması sağlanabilir. İkincisi, delesyonlarda olduğu gibi duplikasyon sonucu fenotipik çeşitlilik oluşabilir. Üçüncüsü ise duplikasyonlar evrim sürecinde genetik çeşitliliğin önemli bir kaynağıdır.



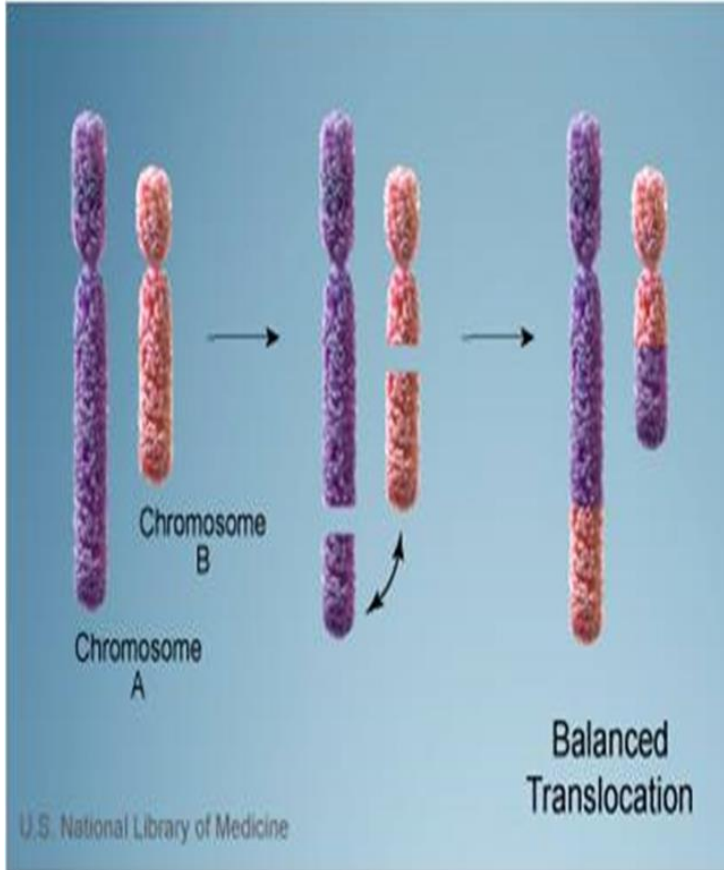
İnversiyon :

Bir kromozomonun iki defa kırılması ve kopan parçanın 180° ters dönerek tekrar aynı kromozoma bağlanması olayıdır. İversiyon olayında gen sayısı ve özelliği aynı olmasına rağmen diziliş sırası değişir. Ters çevrilen parça eğer sentromer içeriyorsa perisentrik inversiyon, içermiyorsa parasentrik inversiyon denir.



Translokasyon :

Bir kromozomun bir parçası ile homolog olmayan bir başka kromozomun bir parçasının yer değiştirmesi olayıdır. Basit ve karşılıklı (resiprokal) translokasyon olmak üzere 2'ye ayrılır. Basit translokasyon, bir kromozom parçasının homolog olmayan diğer bir kromozoma transfer edilmesi olayıdır. Resiprokal translokasyon ise homolog olmayan iki kromozomun parçaları karşılıklı olarak yer değiştirmesidir.



Bir genin kromozom üzerindeki yeri değişmeden yapısında ortaya çıkan değişmeler "gen mutasyonları" ya da "nokta mutasyonları" olarak tanımlanır. Gen mutasyonları eşey hücrelerinde olduğu gibi somatik hücrelerde de ortaya çıkabilir. Ancak, somatik hücrelerdeki mutasyonlar, eşeyli üreyen bitkilerde döllere geçemez. Gen mutasyonlarında, genellikle dominant genler resesif hale döner ve böylece aynı tür içinde bir gen birden fazla allele sahip olur. Resesif genlerin dominant hale geçmesi çok ender rastlanan bir olaydır. Resesif bir mutasyonun fenotipik olarak hemen belirlenmesi güçtür. Ancak döllerde homozigot hale geçiş olanağı bulduktan sonra

fenotipik olarak gözlenebilir. **Gen mutasyonları çoğunlukla kimyasal mutagenlerle oluşturulmaktadır.** Ancak radyasyon uygulaması ile de çeşitli mutantlar elde edilebilmektedir. Böylece oluşan **genetik değişiklik kısırlığa, ölüme ya da yeni ve çok istenen bir özelliğin ortaya çıkmasına neden olabilir.**

Çekirdek dışı mutasyonlar sitoplazma içinde bilinen öğelerde oluşur. Sitoplazmik-genetik erkek kısırlığı, bitki üretiminde yararlı olarak kullanılmakta olan sitoplazmik mutasyona güzel bir örnektir. DNA, plastidler ve mitokondrilerde oluşan çekirdek dışı mutasyonlar bu gruba girer. Bu organlardaki genetik değişiklikler bir kuşaktan diğerine, birinci derecede yumurta hücreleriyle aktarılır. Bitki türlerinde sitoplazmik değişiklikler yaratmada "ethidyum bromid" yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla akridinler, streptomisin, boyalar, ağır metal tuzları, EMS ve radyasyon da kullanılmaktadır.

Mutagenler

Mutasyon ıslahında kullanılan mutagenleri, "Fiziksel (ışınsal) Mutagenler" ve "Kimyasal Mutagenler" olmak üzere iki grup altında toplayabiliriz.

Işınlamada kullanılan çeşitli ışın tipleri ve bunların elde edildikleri kaynaklar Çizelgede gösterilmiştir. Işınlar çeşitli birimlerle ölçülür. En eski birim "Röntgen" (r) birimidir. Bu uygulama birimi olup, emilme (absorbsiyon) dozu "rad" olarak belirlenir. X-ışınları için 1 rad. su içindeki 1.08 r değerine eşittir.

Işınlamalar etkilerini, gen mutasyonu; kromozom, kromatid anormallikleri; hücre bölünmesini önleme; çekirdek ya da hücre ölümleri; mitoz bölünmenin artması; kısırlık ve büyüme hızı anormallikleri şeklinde gösterirler. Ultraviyole ışınlarının en büyük sorunu, etki gücünün az olmasıdır. Bu nedenle genellikle bitkilerin hassas organlarına uygulanır.

Işın tipi	Kaynağı
X - ışını	X - ışını cihazı
Gama ışını	Cobalt-60, Caesium-137
Ultraviyole	Hg ark lambası
Neutron	U235
Beta ışını	P32, S35, c14

Mutasyonda kullanılan kimyasal mutagenler aktivite şekillerine göre yedi grupta toplanmıştır (Anonim, 1977). Bunlar arasında temel bileşikler (5-brom urasil, 5-brom dezoksiüridin, 2 amino pürin); **antibiyotikler** (azeserin, mitomycin C, streptonigrin, actinomicin D), **alkali birleşikler** (EMS, etil-2-kloretil sülfat, etilen oksit gibi), **azidler** (sodyum azid), **hidroksilamin**, **nitrit asit**, **akridinler** (akridin orange) bulunmaktadır.

Yukarıda anılan kimyasal mutagenler arasında en yaygın olarak kullanılanları etil metil sulfonat (EMS), dietil sülfat (PES), etilen imin (EI), etil nitroso üretan (ENM), etil nitroso üre (ENH) ve metil nitroso üre (MNH)'dir.

Mutagen Uygulamaları

Mutagenler bitkilerin çeşitli kısımlarına uygulanmaktadır. Yaygın olarak kullanılan bitki kısımları şunlardır;

Tüm bitki: X-ışınları genellikle fide dönemindeki bitkilere uygulanır. Gama ışınları ise, özel gama odasında ya da gama parselinde yetiştirilen küçük ya da büyük her türlü bitkiye başarıyla uygulanmaktadır.

Tohum: Tohumla üreyen bitkilerde, tohumlar radyasyon ya da kimyasal mutagenlerle muamele edilen en yaygın bitki materyalidir. Mutasyon elde etmede tohumların önerilmesinin nedeni, normalde cansız moleküllerin toleranslı olduğu kurutma, ıslatma, ısıtma, dondurma ya da değişik oksijen ve diğer gaz düzeyleri gibi fiziksel koşullara karşı, diğer bitki kısımlarına oranla, daha toleranslı olmasıdır.

Çiçektozları: Çiçektozlarına da radyasyon ya da kimyasal mutagen uygulanabilir. Çiçektozlarına yapılan uygulamanın avantajı, çiçektozlarında sağlanacak bir değişiklik sonucu oluşacak zigotun ve bundan gelişecek bitkinin heterozigot olmasıdır. Olumsuz yönü ise, bazı türlerde yeterli miktarda canlı çiçektozu elde edilmesi ve korunmasının güçlüğüdür.

Eşaysız üremede kullanılan bitki kısımları: Çelikler ya da tepe tomurcuklarına radyasyon ya da kimyasal mutagenler uygulanmasıyla yeni oluşan gövdelerde etkin şekilde mutant tipler oluşturulmaktadır.

Hücre ve Doku Kültürleri: Hücre ve doku kültürlerinde radyasyon ve kimyasal mutagenlerin uygulanması, araştırma alanında hızla yayılmaktadır. Burada amaç, tek hücre ya da dokuların yetiştirilmesi sırasında mutagen uygulanmış fertler arasından mutant tipleri ayırmak ve istenen tiplerde bitki elde etmektir (Fehr, 1987).

Mutagenlerin uygulama dozları, mutagenin cinsine ve kullanılacak materyale bağlıdır. Bazı mutagenler yüksek dozda kullanıldıklarında öldürücü (letal) etki yaparlar. Bazıları ise, düşük dozlarda istenilen mutasyonları oluşturamazlar. Doz miktarının azaltılıp çoğaltılmasıyla mutasyon hızı ayarlanabilmektedir. Tohumlara X-ışınlarının uygulanmasında bitkilere göre optimum uygulama dozları belirlenmiştir. Genellikle tohum ya da fidelerin % 50-70'ini öldürecek dozlar mutasyon yaratmada başarılı sonuçlar vermektedir. **Bezelyede 5000-15000r; arpada 10000-15000r; buğdayda 15000-20000r'lık ve ketende 40000-50000r'lık X-ışını uygulamaları önerilmektedir.** Embriyo ve çiçektozlarına ışınlama uygulanacağına dozun daha düşük tutulması gerekmektedir. Örneğin, buğdayda embriyoya 400-500 r'lık x-ışını; çiçektozlarına ise, 250-2500r'lık gamma ışınlamaları yeterli olmaktadır.

Vejetatif olarak çoğaltılan bitkilerde mutagen uygulama dozu için önceden yayınlanmış bir öneri yoksa, ön denemelerle belirlenmelidir. Vejetatif dokular yüksek dozlara fazla dayanamazlar. Bu nedenle kullanılan dozlar genellikle 2000-4000r arasındadır. Hassas otsu materyalde ise bu doz yarıya indirilir. Odunlaşmış ya da uyku halindeki materyalde ise uygulama dozu iki katına çıkarılmalıdır.

Mutagenlerle ışınlamaların süresi: mutagenin cinsine, uygulama dozuna ve kullanılan materyale göre değişiklik göstermektedir. Özellikle ışınlamalar birkaç dakika gibi kısa bir sürede ve bir kerede yapılabildiği gibi (akut); bir kaç hafta ya da ay gibi uzun sürelerde ve tekrarlanarak da (kronik) yapılabilmektedir. Kromozomlar, bünyelerinde oluşan zayıf mutasyonları zamanla onarma yeteneğine sahiptirler. **Düşük dozlarda ve uzun sürelerde tekrarlanan uygulamalarda; kromozom, onarma yeteneğini kullanarak istenilen mutasyonların çıkmasını engelleyebilmektedir. Bu nedenle, ışınlamada doz ve süre ilişkilerini çok iyi ayarlamak gerekmektedir.**

Mutagen uygulamalarında dikkat edilecek noktalardan biri de, oksijen, su ve sıcaklık gibi koşulların iyi ayarlanmasıdır, Örneğin kuru tohumlarda oksijen, gamma ışınlarının zararını arttırmaktadır. Öte yandan, bitki materyalindeki su oranı azaldıkça gamma ve X-ışınlarına karşı duyarlılık da artmaktadır.

Mutasyon İslahındaki Çalışmalar

Bitkilerin kültüre alınması ve onların asırlar boyu gelişmesi, olumlu gen mutasyonlarından insanların yararlanmasıyla sağlanmıştır. Mutasyonların devamlı olarak meydana geldiği ve gelecekte de bitki ıslahında büyük ölçüde kullanılacağı bilinen bir gerçektir.

1922 yılında İtalya'da Alberto Pirovano tarafından X-ışınları ve ultraviyole ışınları kullanılarak bitkilerin değiştirilmesi çalışmaları başlatılmıştır. Stadler (1928) ise, **arpa ve mısırdaki mutasyon oranının X-ışınları kullanılarak artırılabilirliğini açıklamıştır**. Stadler'in açıklamalarından sonra 10 yıl süreyle, birçok bitki ıslahçısı X-ışınlarından yararlanılarak mutasyon elde etmek için çalışmışlardır.

Daha sonra, İsveç'te X-ışınlarının etkileri üzerine çalışmalar yapılarak dünya genelinde radyasyon genetiği ve mutasyon ıslahına ilgi artmış; özellikle arpa mutasyon çalışmalarında önemli ilerlemeler sağlanmıştır (Gustafsson, 1941). Bunlara ek olarak, 2. Dünya Savaşı sonrasında ışınlar ve kimyasal mutagenler, bitki ıslahçıları için daha da yararlı duruma getirilmiştir. İsveç ve diğer ülkelerde mutagenlerin kullanılmasıyla sağlanan başarılar birbirini izlemiş ve bu yöntemle birçok ticari çeşit elde edilmiştir.

Mutasyonla elde edilen ilk tahıl çeşidi, ABD'de Florida'da, **"Floriland" çeşidine termal nötron radyasyonu uygulaması ile elde edilen "Florad" yulaf çeşididir**. Mutant çeşidin, Floriland ile karşılaştırıldığında, üç hafta daha **erkenci ve yüksek verimli** olduğu görülmüştür. Ayrıca, **iyi kaliteli olup, taçlı pas hastalığına dayanıklıdır**. "Florad"ın seçildiği çeşit içerisinde kromozom sapmaları ve kısırlık olduğundan, "Florad" ın doğrudan mutasyon sonucu ortaya çıkmadığı, materyal içindeki diğer yulaflarla yabancı döllenenme sonucu oluştuğu düşünülmektedir.

İsveç'te yabancı döllenen bitkilerden X-ışını uygulaması ile yazlık yağlık kolza "Regina II" ve "Primex" hardalı geliştirilmiştir. Ancak, bu çeşitlerde değişimin yeni kombinasyonlardan mı yoksa radyasyonun etkisiyle mi meydana geldiği kesin olarak bilinmemektedir.

Kobalt-60 kaynağı kullanılarak sağlanan gama radyasyonu uygulanan **karanfillerde, çiçek beyazdan kırmızıya, kırmızıdan karışık renkliye ve standart çiftten tek**

çiçekli tipe dönüştürülmüştür. Yine karanfillerde X-ışınları kullanılarak büyük oranda erkek kısır olan tip, erkek fertil duruma çevrilmiştir.

Buğday da mutasyon ıslahı ile ilgili olarak uzun süreden beri geniş çapta çalışmalar yapılmış ve birçok mutant buğday çeşidi geliştirilerek gerek üretimde gerekse gen kaynağı olarak melezlemelerde kullanılmıştır. Buğdayın en önemli hastalıklarından olan ve zaman zaman büyük kayıplara neden olan **pas (Puccinia sp.) hastalıklarına karşı dayanıklılık sağlamak amacıyla yapılan ilk mutasyon ıslahı çalışmalarından biri Sears (1956) tarafından gerçekleştirilmiştir.** X- ışınları kullanılarak elde edilen ve kahverengi pas (*P. recondita*) hastalığına dayanıklı olan bu **çeşide "Transfer" adı verilmiştir.** Daha sonra Driscoll ve Jensen (1964) **tarafından kahverengi pas ve külleme (Erysiphe graminis) hastalıklarına dayanıklı "Transec" çeşidi; kahverengi pas hastalığına dayanıklı "Agatha" çeşidi (Sharma ve Knott, 1966); karapas (P. graminis tritici) ve rastık (Ustilago nuda tritici) hastalıklarına dayanıklı "Stadler" çeşidi (Hayward ve Poehlman, 1967) geliştirilmiştir. Bu tip örnekleri çoğaltmak mümkündür.**

Tahıllarda mutasyon ıslahı çalışmalarının önemli konularından biri de **kısa boyluluktur.** Tahıllarda büyük zararlara yol açabilen yatma sorununun giderilebilmesi için öncelikle bitki boyunun kısaltılması ve sap sağlamlığının artırılması gerekmektedir. Bu konuda da ışınsal mutasyonlardan yararlanılmış ve buğdayda kısa boylu sağlam saplı "Regeni", "Stadler", "Casteldelmonte", "Castelporziano" ve "Castelfusano" gibi mutant çeşitler elde edilmiştir (Hayward ve Poehlman, 1967; Hassan Khan, 1974). Bunların dışında, **bin tane ağırlığı artırılmış, yüksek proteinli ve soğuklara dayanıklı mutant tahıl çeşitleri de geliştirilmiştir.**

Bitki mutasyon ıslahı çalışmalarında özellikle son 20 yıl içerisinde elde edilen sonuçlar, ıslahta mutasyonlardan yararlanma olanaklarının oldukça arttığını göstermektedir. **Mutasyon oluşturma, her şeyden önce ışınlanacak materyale, uygun ışın tipinin ve uygulanacak en iyi ışın dozunun saptanmasına bağlıdır. Işın dozunun artmasıyla mutasyon oranı da artmaktadır, ancak, bununla birlikte mutant bitkilerde morfolojik ve fizyolojik birçok aksaklıklar da ortaya çıkmakta ve bitkinin canlılık oranı azalmaktadır. Bu nedenle doz, mümkün olan en yüksek fakat, en az zarar verecek düzeyde olmalıdır.**