Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi
Atatürk University Journal of Agricultural Faculty

Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 52 (2): 190-200, 2021
Atatürk Univ. J. of Agricultural Faculty, 52 (2): 190-200, 2021
ISSN: 1300-9036, E-ISSN: 2651-5016
http://dergipark.gov.tr/ataunizfd

Araştırma Makalesi / Research Article

Buğdayda (Triticum aestivum L.) Farklı Süre ve Dozlarda Uygulanan Etil Metansülfonat (EMS)'ın Çimlenme ve Fide ile İlgili Bazı Karakterler Üzerine Etkileri*

Arash HOSSEİN POUR[1,2,a] Metin TOSUN[3,b] Kamil HALİLOĞLU[3,c]**

[1]Atatürk Universitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Erzurum, Türkiye

[2] Crop and Horticultural Science Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Moghan, Iran

[3] Atatürk Universitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Erzurum, Türkiye

**Sorumlu yazar e-mail: arash8643@gmail.com

doi: 10.17097/ataunizfd.748554

Geliş Tarihi (Received): 05.06.2020 Kabul Tarihi (Accepted): 21.05.2021 Yayın Tarihi (Published): 29.05.2021

ÖZ: Bu çalışma, ekmeklik buğdayın Kırik çeşidinde kimyasal bir mutagen olan etil metansülfonatın (EMS) çimlenme ve fide ile ilgili bazı karakterler üzerine etkilerini ve ıslah amaçlı çalışmalarda uygulanabilecek optimum dozu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Araştırmada EMS'nin 5 farklı konsantrasyonu [0 (kontrol), %0.1, %0.2, %0.3 ve %0.4] ve 4 farklı uygulama süresi [kontrol (10 min), 1 saat, 2 saat ve 3 saat] kullanılmış ve araştırma tam şansa bağlı deneme planında, faktöriyel düzenlemeye göre 4 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Denemede çimlenme ve fide ile ilgili bazı karakterler üzerinde durulmuştur. Elde edilen verilere göre, EMS'nin uygulama süresi uzadıkça çimlenme ile ilgili karakterlerde genel bir azalmaya neden olduğu görülmüş; sürgün boyunun 3 saatlik uygulamada kök kuru ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığının ise 6 saatlik uygulamada kontrole göre daha yüksek olduğu saptanmış; konsantrasyonlar ortalamalarına göre değerlendirildiğinde ise kök uzunluğunun %0.1, %0.2 ve %0.3'lük konsantrasyonlarda; kök kuru ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığının %0.3'lük konsantrasyonlarda kontrole göre daha yüksek olduğu görülmüştür. EMS'nin hem uygulama süresi hem de konsantrasyonunun incelenen fide özelliklerinin birçoğu üzerine etkisi çok önemli olmuştur. Araştırmamızda, farklı süre ve konsantrasyonlarda uygulanan EMS'nin birçok karakteri olumlu yönde etkilediği, dolayısıyla kontrole göre artışa neden olduğu görülmüş, ancak uygulanan süre ve konsantrasyonlara göre lethal doz (LD50) değeri belirlenememiştir.

Anahtar Kelimeler: Buğday, Etil-metansülfonat, Çimlenme, Fide

Effect of Ethyl Methanesulfonate Treatment at Different Duration and Concentration on Germination and Seedling Growth Characters in Wheat (Triticum aestivum L.)

ABSTRACT: The aim of this study was to determine the different duration of ethyl methanesulfonate (EMS) mutagen in wheat (kırik variety) germination and seedling growth [control (10 minutes), 1 hour, 2 hours and 3 hours] and concentrations [0 (control), 0.1%, 0.2%, 0.3% and 0.4% mM] effects and the optimum sodium azide dose to be used in breeding programs. The experiment was carried out in 4 replicates according to the factorial arrangement in the completely randomized experimental plan. According to the data obtained, it has been observed that as the application time of EMS extends, it causes a general decrease in germination related characters; shoot length was found to be higher in 3-hour application, root dry weight and shoot dry weight in 6-hour application compared to control; When the concentrations are evaluated according to their averages, the root length is 0.1%, 0.2% and 0.3%; It was observed that root dry weight and shoot dry weight were higher at 0.3% concentrations compared to the control.The effect of both the application time and concentration of EMS on many characters of the seedling examined was very important. In this study, EMS applied at different times and concentrations positively affected many characters and thus increased compared to control. For this reason, LD50 value could not be determined according to the time and concentrations applied in the research.

Keywords: Wheat, Ethyl methanesulfonate, Germination, Seedling

Bu makaleye atıfta bulunmak için / To cite this article: Hossein Pour, A., Tosun, M., Haliloğlu, K., 2021. Buğdayda (Triticum aestivum L.) Farklı Süre ve Dozlarda Uygulanan Etil Metansülfonat (EMS)'ın Çimlenme, Fide ve Bazı Karakterlere Etkileri ile Optimum Dozun Saptanması. Atatürk Univ. Ziraat Fak. Derg., 52 (2): 190-200. doi: 10.17097/ataunizfd.748554

[a]ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2611-8034 [b]ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9478-2485
[c]ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4014-491X

*Bu çalışma, Arash HOSSEİN POUR'un Atatürk Üniverstesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde kabul edilen doktora tezinin bir kısmıdır.

© Bu makale, Creative Commons Lisansı (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) kapsamında yayınlanmıştır.

GİRİŞ

Buğday insan beslenmesinde kullanılan kültür bitkileri arasında dünyada ekiliş ve üretim bakımından ilk sırada yer almaktadır. Dünyada ürün üretimi çevresel stresler tarafından büyük ölçüde sınırlandırılmaktadır. Son yıllarda iklimde meydana gelen değişmeler de düşünüldüğünde stabil, yüksek verimli, kurağa, yatmaya, hastalık ve zararlılara dayanıklı ve aynı zamanda kaliteli buğday çeşitlerinin geliştirilmesi ıslah çalışmalarının en önemli hedeflerindedir. Bu nedenle, günümüzde yapılan ıslah çalışmalarında verim ve kalite unsurları birlikte ele alınmakta, bir yandan birim alandan elde edilen verim miktarlarını artırma olanakları araştırılırken, diğer taraftan da değişik tüketici kesimlerinin isteklerine cevap verebilecek kalite özelliklerinin iyileştirilmesi amaçlanmaktadır (Kaya 2006). Yeni çeşitlerin geliştirilmesinde bitki ıslahçısının görevi geniş alanların iklim ve toprak koşullarına uygun, verim ve kalitesi üstün çeşitleri bulup çıkarmak ya da eldeki çeşitlerin olumsuz yönlerini iyileştirmektir. Bu amaçla ıslahçılar, doğada mevcut varyasyonlardan ve geliştirdikleri yeni teknik ve yöntemlerden faydalanmaktadırlar. Bu teknik ve yöntemlerden biri olan geleneksel ıslah yöntemleri ile çok sayıda çeşit geliştirilmiş ve tarımın hizmetine sunulmuştur. Ancak, bu yöntemlerle çeşit geliştirmede uzun zamana, fazla emeğe ve kaynağa ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, bitki ıslahçıları daha hızlı ve kolay varyasyon sağlayacak yeni yaklaşımlar üzerinde durmaktadırlar. Bu ıslah yöntemlerinden birisi mutasyon ıslahıdır (Başer vd. 2007). Islah edilmesi düşünülen karakterin ilgili türün gen havuzu içerisinde bulunmaması nedeniyle, melezleme ve seleksiyonun yapılamadığı durumlarda, mutasyon ıslahı en uygun yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca, mutasyon ıslahı, transgenik bitkilerin kullanımı ve yetiştirilmesi gibi sınırlamalara, fikri mülkiyet hakları ve yönetmeliklere tabi değildir (Dobres, 2008).

Mutasyon, canlının genetik yapısında meydana gelen kalıcı değişiklikler olup hem üreme hücrelerinde hem de somatik hücrelerde meydana gelebilir. Mutagenesis terimi, doğal olarak ya da mutagenik etmenlerle yapay olarak uyarılan farklı mutasyon tiplerini meydana getiren mekanizmaları ve aşamaları kapsamaktadır (Tosun, 2015). Kimyasal mutagenlerin uygulaması basit ve zararlı etkisi daha az olduğu için bazı araştırıcılar tarafından radyasyona tercih edilmektedir. Bununla birlikte, mutasyon oluşturmak amacıyla kullanılan kimyasalların toksik ve kanserojenik oldukları unutulmamalıdır. En yaygın kullanılan kimyasal mutagen alkalleştirici etmen olan etil metansülfonattır (EMS). Kimyasal mutagenlerin etkileri, iyonize edici radyasyonlardan daha az şiddetli olup, daha fazla gen mutasyonu, daha az kromozom mutasyonlar oluştururdukları için kimyasal mutagenlerin iyonize edici radyasyona göre daha fazla mikromutasyon oluşturmaları beklenebilir (Tosun, 2015). Kimyasal mutangenler daha spesifik ve öngörülebilir mutasyonlara yol açmakta ve ayrıca uygulaması daha kolay olmakta, ancak özel ve pahalı ekipmanlar gerektirmemektedir (Luan et al., 2007).

Alkilleştirici etmenler, kimyasal mutagenlerin ilk sınıfı olup, ikinci dünya savaşı sırasında hardal gazının ve benzer bileşiklerin mutagenik etkilerinin ortaya konulması ile birlikte keşfedilmiştir. Hardal gazı, metil metansülfonat (MMS), etil metansülfonat (EMS) ve nitrözguanidin gibi alkilleştirici etmenlerin DNA uzerine bazı etkileri bulunmaktadır. Bunlardan EMS potansiyel mutagenik etkisi ve kullanım kolaylığı nedeniyle bitkilerde en yaygın kullanılan kimyasal mutagendir. EMS, guanin (G) bazını alkilleştirir ve alkilleşen guanin, sitozin (C) yerine timin (T) ile eşlenir, böylece DNA ipliğinde AT ↔ GC geçişleri meydana gelir (Kenganal et al., 2008). EMS tüm genomda öldürücü olmayan çok sayıda nokta mutasyonunu oluşturabildiğinden genomun mutasyona doyurulması için nispeten küçük bir popülasyona (yaklaşık 10.000) uygulama yapılması yeterlidir (Bhat et al., 2007). EMS'nin kullanıldığı mutasyon çalışmalarında genomun büyüklüğü, mutasyonların oluşması açısından önemli bir faktör olarak gözükmemektedir. Örneğin, gen başına mutasyon sıklığı *Arabidopsis* ve mısırda (genom büyüklüğü *Arabidopsis*'in yaklaşık 20 katı) benzer olmuştur (Henikoff and Comai, 2003; Till et al., 2003).

Mutasyonların uyarılmasında en kritik faktör mutagenin konsantrasyonudur. Genel bir kural olarak, belli bir konsantrasyona kadar mutagenin konsantrasyonu arttıkça, fide hasarı ve ölümle eşlik eden normalden daha fazla mutasyon oluştuğu gözlenmiştir ki, neden olan olumsuzlukların, yüksek konsantrasyonlarda ortaya çıkmasının, hücresel düzeyde gerçekleşen fizyolojik veya fiziksel düzensizliklerden kaynaklanabileceği ifade edilmiştir. Mutasyonların uyarılmasında sıcaklık önemli bir faktör olup, kimyasal mutagenesiste hem yarılanma ömrünü hem de solosyonunun hidroliz hızını etkilemektedir. Öyle ki, düşük sıcaklıklarda hidroliz hızı azalmakta, mutagen daha uzun süreyle ve sabit olarak kalmaktadırlar (Jenks et al., 2007). Mutagenesisin başarısını etkileyen diğer bir deneysel faktör ise kimyasal mutagenin pH değeridir. Öte yandan, mutagenesisin başarısını etkileyen diğer bir faktör ise pH değeridir. Örneğin EMS için en etkili pH değeri 7.0'dir (Singh and Kole, 2005). Dhakshanamoorthy et al. (2010) tarafından *Jatropha curcas* kuru tohumlarının kullanıldığı çalışmada, gama ışınları ile EMS (%1, 2, 3, 4) kullanılarak, çimlenme oranı, kök ve sürgün uzunluğu, fide ve bitki boyu ile diğer bazı karakterler irdelenmiş; EMS'nin %1'lik konsantrasyonunun çimlenme

oranını artırdığı, ancak %4'lük konsantrasyonunun bu değeri azalttığı; incelenen tüm karakterler için yüksek konsantrasyonun (%4) engelleyici etki yaptığı kaydedilmiştir. Buğdayda tohum çimlenmesi ve çimlenme ile ilgili bazı karakterler üzerine EMS uygulamasının etkisini belirlemek amacıyla Bahar ve Akkaya (2009) tarafından yapılan bir denemede, 3 farklı EMS (%0.1, %0.2 ve %0.3) konsantrasyonu; tohum çimlenmesi, koleoptil ve ilk yaprak oluşumu, kök, koleoptil ve fide boyu, fide büyüme oranı, ilk yaprak uzunluğu, kök ve sürgün yaş ve kuru ağırlıklarına etkileri incelenmiş; EMS uygulamasının, tüm karakterlerde etkili olduğu ve konsantrasyonlar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğu bildirilmiş; EMS'nin konsantrasyonu arttıkça incelenen özelliklerde olumsuz yönde azalma görüldüğü kaydedilmiştir. Bu çalışmanın amacı, Kırık ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*) çeşidinde EMS'nin çimlenme ve fide ile ilgili karakterler üzerine etkisini belirlemek; EMS'nin buğdayda mutasyon ıslahında uygulanabilecek etkili dozunu tespit etmektir.

MATERYAL VE METOT

Araştırmada materyal olarak ekmeklik buğdayın (*Triticum aestivum* L.) Kırık çeşidine ait tohumlar kullanılmıştır. 2000 adet tohum sayılmış ve bu tohumlar musluk suyunda yıkandıktan sonra %70'lik etil elkolde (EtOH) 3 dakika karıştırılarak steril kabin içerisinde steril saf suyla 3 kez yıkanmış ve birkaç damla Tween 20 (Sigma) içeren %20'lik sodyum hipokloritte 25 dakika karıştırılarak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlar, steril saf su ile yıkandıktan sonra 6 saat süreyle havalandırılmış su içerisinde bekletilmiştir. Tohumlar su alıp şiştikten sonra 5 farklı EMS konsantrasyonunda [0 (kontrol), %0.1, %0.2, %0.3 ve %0.4'lük], 4 farklı sürede [kontrol (10 min), 1 saat, 2 saat ve 3 saat, 5×4=20'lük kombinasyon/uygulamada tutulmuşlardır. Uygulamanın ardından tohumlar 4 saat süre ile musluk suyunda yıkanarak mutagenin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Kimyasal mutagenin uygulandığı tohumlarda çimlenme ve fide ile ilgili bazı karakterleri incelemek için dört tekrarlamalı olarak çimlendirme denemesine alınmıştır. Tohumlar petri kutularında kağıt arasında çimlendirme dolabında çimlendirmeye alınmıştır. Her bir petri kutusuna 14 ml saf su konulmuştur. Çimlendirme işlemi, sıcaklığı 25 ^{o}C'ye ayarlanmış çimlendirme dolabında 16 saat ışık, 8 saat karanlık periyot uygulaması koşullarında gerçekleştirilmiştir. Tohumlar çimlendirme ortamına konulduktan sonra 14 gün süreyle her gün sayılarak çimlenme ile ilgili karakterler saptanmıştır.

Çimlenme ile ilgili karakterler

Çimlenme oranı (%) (ÇO): Tohumlar çimlenme ortamına konulduktan sonra her gün aynı saatte çimlenenler sayılmıştır. Kök uzunluğu 1-2 mm'ye ulaşan tohumlar çimlenmiş olarak kabul edilmiş ve ortamdan uzaklaştırılmıştır (Elkoca 1997). Çimlenme tamamlandığında, çimlenme oranı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Çimlenme oranı (%) = (Çimlenen toplam tohum sayısı /toplam tohum sayısı) x 100

Ortalama çimlenme zamanı (OÇZ): Ortalama çimlenme zamanının belirlenmesinde Σ(fx) / Σ f. formülü kullanılmıştır (Kaya et al. 2006). Formüldeki çarpanlardan; f, sayım günündeki çimlenen tohum sayısını; x, sayım yapılan gün sayısını göstermektedir.

Çimlenme hızı indeksi (ÇHİ): ÇHİ= (N_i)/ (T_i) formülüne göre hesaplanmıştır. Formülde Ti, denemenin başladığı günden itibaren gün sayısını, Ni ise gün başına çimlenen tohum sayısını ifade etmektedir (Maguire 1962).

Çim gücü indeksi (ÇGİ): Çimlenme gücü indeksi; ÇGİ= (ortalama sürgün uzunluğu + ortalama kök uzunluğu) × toplam çimlenme yüzdesi formülüne göre hesaplanmıştır (Abdul-Baki and Anderson 1970).

Fide ile ilgili karakterler

a. Kağıt ortamda gelişen fide ile ilgili karakterler

Tohumlar çimlendirme ortamına konulduktan 14 gün sonra her petri kutusundan 10'ar adet fide şansa bağlı olarak alınmış, bunlarda aşağıda verilen karakterler ölçülmüş ve ortalamaları alınmıştır.

Kök uzunluğu (cm) (KU): İncelenen her bir çimde en uzun kökün uzunluğu milimetrik cetvel ile ölçülmüş ve ortalaması alınmıştır.

Sürgün uzunluğu (cm) (SU): Sürgünün tohumdan ilk çıktığı yerden yaprak ucuna kadar olan uzunluğu milimetrik cetvelle ölçülmüş ve ortalamaları alınarak hesaplanmıştır.

Kök kuru ağırlığı (g) (KKA): Yaş ağırlığı belirlenen kökler 72°C'de 72 saat kurutulduktan sonra hassas terazide tartılarak kök kuru ağırlığı belirlenmiştir.

Sürgün kuru ağırlığı (g) (SKA): Yaş ağırlığı belirlenen sürgünler 72°C'de 72 saat kurutulduktan sonra hassas terazide tartılarak sürgün kuru ağırlığı belirlenmiştir. Daha sonra elde edilen değer 10'a bölünerek her bir sürgünün kuru ağırlığı tespit edilmiştir.

b. Torf ortamında gelişen fide ile ilgili karakterler

Daha önce belirtilen işlem uygulanmış tohumlar kullanılmıştır. 20 kombinasyonun her birinden 100 tohum 25'er adetlik dört gruba ayrılmış ve her bir

grup bir sıraya ekilmiştir. Böylece, deneme dört tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Sera koşullarında yapılan bu çalışmalarda içerisinde torf bulunan 100×100×30 cm boyutlarındaki tahta kasalar kullanılarak M_1 fidelerinde ekimden sonra 28. günde aşağıdaki özellikler incelenmiştir.

Çıkış oranı (%) (ÇO): Kasalara ekilen tohumlardan çıkanlar, ekimden 8 gün sonra sayılmaya başlanmış ve işlem bitene kadar devam etmiş; elde edilen verilerin, ekilen toplam tohum sayısına oranlanmasıyla çıkış oranı (%) belirlenmiştir (Sakin 1998).

İlk yaprak ayası uzunluğu (cm) (İYU): Çıkış sonrası ilk gelişmesini tamamlayan fidelerin 28. gününde ilk yaprak ayası tabanından ucuna kadar olan uzunluğun milimetrik cetvelle ölçülmesiyle bulunmuştur (Sakin 1998).

Kök uzunluğu (cm) (KU): İlk yaprak boyunun ölçüldüğü gün, aynı fidelerin kökleri suyla yıkanarak topraktan temizlenmiş ve kök boğazından itibaren en uzun kökün ucuna kadar ki uzunluğun ölçülmesiyle saptanmıştır (Sakin 1998).

Sürgün uzunluğu (cm) (SU): Sürgünün tohumdan ilk çıktığı yerden yaprak ucuna kadar olan uzunluk milimetrik cetvelle ölçülmüş ve ortalamaları alınarak hesaplanmıştır (Sakin 1998).

Fide boyu (cm) (FB): İlk yaprak boyu ölçülen bitkilerde aynı gün fide boyu, toprak yüzeyinden fidenin ucuna kadar olan uzunluğun ölçülmesiyle hesaplanmıştır (Sakin 1998).

Verilerinin istatistiksel analizi

Denemede incelenen parametreler üzerine uygulama konsantrasyonunun ve süresinin etkisi 4 × 5 faktöriyel düzende tam şansa bağlı deneme planına göre 4 tekrarlamalı olarak varyans analizine tabi tutulmuştur (SAS, 2002). Bu parametrelere ait ortalamalar arasındaki farklar %5 önem düzeyinde Duncan testi ile belirlenmiştir.

BULGULAR

Çimlenme ile ilgili karakterler

Tohumlar ortama konulduktan yaklaşık 1-2 gün sonra çimlenmeye başlamış ve 14 gün boyunca bu ortamda tutularak gelişmeleri sağlanmıştır.

Çimlenme oranı

Çimlenme oranı üzerine etil metansülfonatın hem uygulama süresi ve konsantrasyonu hem de süre × konsantrasyon interaksiyonu önemsiz olmuştur (Çizelge 1).

Çimlenme hızı indeksi ve çimlenme gücü indeksinde olduğu gibi çimlenme oranı üzerine de uygulama süresinin belirgin bir etkisi olmamıştır. Nitekim, çimlenme oranı hem kontrolde hem de 6 saatlik uygulamada %100 olmuştur. Bunu 9 saatlik (%99.60) uygulama süresi izlemiş, son sırada ise %99.20 ile 3 saatlik uygulama süresi yer almıştır (Çizelge 2). Konsantrasyonların ortalamalarına göre çimlenme oranı kontrolde %100, %0.2 ve %0.3'lük konsantrasyonlarda %99.75, %0.1 ve %0.4'lük konsantrasyonlarda ise %99.25 olmuştur (Çizelge 2).

Ortalama çimlenme zamanı

EMS'nin uygulama süresi ortalama çimlenme zamanına istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) etki yapmış, buna karşın uygulama konsantrasyonu ile bu iki faktör arasındaki interaksiyonun etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 1).

Ortalamalar esas alınarak sürelere göre değerlendirildiğinde, en uzun ortalama çimlenme zamanı 1.03 gün ile 3 saatlik uygulamadan elde edilmiş, bunu 1.01 gün ile 6 ve 9 saat, 1.00 gün ile 10 dakika uygulama süreleri izlemiş, ancak bu üç uygulama süresi arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz olmuştur (Çizelge 2).

Ortalama çimlenme zamanı kontrolde 1.00 gün olmuş, bunu 1.01 gün ile %0.1, %0.2 ve %0.4'lük konsantrasyonları izlemiş; en geç çimlenme değeri ise 1.03 gün ile %0.3'lük konsantrasyonda gerçekleşmiştir (Çizelge 2).

Çimlenme hızı indeksi

Çimlenme hızı indeksi üzerine mutagenin uygulama süresinin etkisi istatistiksel anlamda çok önemli ($P<0.01$) iken, konsantrasyon ile süre × konsantrasyon interaksiyonun önemli bir etkisi olmamıştır (Çizelge 1).

Uygulama sürelerinin ortalamalarına göre, çimlenme hızı indeksi 6 saatlik uygulamada 38.91 olarak tespit edilmiş, bunu azalan sıra ile 10 dakika (38.90), 9 saat (38.81) ve 3 saatlik (38.49) uygulama süreleri izlemiştir. Ayrıca, 10 dakika, 4 ve 8 saatlik uygulamalar arasındaki farklılıklar önemsiz olmuştur (Çizelge 2).

Öte yandan, konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek çimlenme hızı indeksi 38.97 ile kontrol grubunda saptanırken, bunu küçük farklılıklarla %0.2 (38.83), %0.1 (38.70), %0.4 (38.74) ve %0.3'lük (38.67) konsantrasyonları izlemiştir (Çizelge 2).

Çimlenme gücü indeksi

EMS'nin uygulama süresi çimlenme gücü indeksini istatistiksel olarak çok önemli ($P<0.01$) derecede etkilemiş, bunu karşın, konsantrasyon ve süre × konsantrasyon etkileşimi önemsiz olmuştur. (Çizelge 1).

Ortalamalar esas alınarak sürelerine göre değerlendirildiğinde, en yüksek çimlenme gücü indeksi, 3 saatlik uygulamadan (2357.23) elde edilmiş, bunu 2326.84 ile 10 dakika, 2212.70 ile 6 saat ve 2129.30 ile 9 saatlik uygulamalar izlemiştir; ayrıca, 10 dakika ve 3 saat ile 6 ve 9 saatlik

uygulamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz olmuştur (Çizelge 2). Konsantrasyon ortalamalarına göre en yüksek çimlenme gücü indeksi 2278.63 ile kontrol grupta saptanırken, son sırada 2232.20 ile %0.1'lik konsantrasyon yer almıştır (Çizelge 2).

Fide ile ilgili karakterler

a. Kağıt ortamda gelişen fide ile ilgili karakterler

Kök uzunluğu (cm)

Kök uzunluğuna EMS'nin uygulama süresi etkisi çok önemli (P<0.01), konsantrasyonun etkisi önemsiz, süre × konsantrasyon interaksiyonun etkisi ise çok önemli (P<0.01) olmuştur (Çizelge 1).

Uygulama süresi uzadıkça kök uzunluğu azalmıştır. Nitekim, en fazla kök uzunluğu 11.10 cm ile kontrol uygulama süresinden elde edilmiş, bunu 10.53 cm ile 3 saat, 9.89 cm ile 6 saat ve 9.61 cm ile 9 saatlik uygulama süreleri izlemiştir (Çizelge 2).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre, en uzun kökler 10.55 cm ile %0.3'lük konsantrasyonda tespit edilmiş, bunu 10.39 cm ile %0.2'lik, 10.30 cm ile %0.0'lık, 10.10 cm ile %0.4'lük ve 10.09 cm ile %0.1'lik konsantrasyonlar izlemiştir. Bu verilerden de anlaşılacağı gibi, EMS'nin %0.2 ve %0.3'lük konsantrasyonlar şeklinde uygulanması kök uzunluğunu artırmış, %0.1 ve %0.4'lük konsantrasyonlar ise azaltmıştır (Çizelge 2).

Kök uzunluğu üzerine uygulama süresinin etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama süresi × konsantrasyon interaksiyonu çok önemli (P<0.01) olmuştur (Çizelge 1). En yüksek kök uzunluğu kontrol uygulama süresinde %0.3, 3 saatlik uygulamada %0.0 ve %0.1'lik konsantrasyonda, 6 saatlik uygulamada %0.3'lük konsantrasyonda ve 9 saatlik uygulamada %0.2'lik konsantrasyondan gözlenmiştir. En düşük kök uzunluğu ise kontrol uygulama süresinde %0.2'lik konsantrasyonda; 3 saatlik uygulamada %0.4'lük konsantrasyonda; 6 saatlik uygulamada %0.1'lik konsantrasyonda ve 9 saatlik uygulamada %0.0'lik konsantrasyondan elde edilmiştir (Çizelge 2).

Sürgün uzunluğu (cm)

EMS uygulama süresi, sürgün uzunluğunu istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) derecede etkilemiş, buna karşın konsantrasyon ile süre × konsantrasyon etkileşiminin önemli bir etkisi saptanamamıştır (Çizelge 1).

Sürelerin ortalamalarına göre, en uzun sürgünler 3 saatlik uygulamadan (13.23 cm) elde edilmiş, bunu azalan sıra ile 10 dakika (12.25 cm), 6 saat (12.23 cm) ve 9 saatlik (11.77 cm) uygulamalar izlemiş, ancak 10 dakika, 6 ve 9 saatlik uygulamalar arasındaki farklılıklar önemsiz olmuştur (Çizelge 2).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, sürgün uzunluğu kontrol grupta 12.49 cm iken, EMS'nin %0.4'lük konsantrasyonunda küçük bir artışla 12.65 cm'ye yükselmiştir. Diğer konsantrasyonlar ise sürgün uzunluğunda küçük bir azalmaya sebep olmuşlar ve bunlarda sürgün uzunluğu kontrol grubun biraz gerisinde kalmıştır (Çizelge 2).

Kök kuru ağırlığı (g)

Kök kuru ağırlığına uygulama süresinin etkisi istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) iken, konsantrasyonun etkisi ile süre × konsantrasyon interaksiyonu önemsiz olmuştur (Çizelge 1). Altı saatlik uygulamada 0.0287 g olduğu saptanan kök kuru ağırlığı, kontrol uygulamada 0.0100 g, 3 saatlik uygulamada 0.0076 g, 8 saatlik uygulamada 0.0029 g olmuş; ancak bu özellik bakımından kontrol, 6 ve 8 saatlik uygulama süreleri arasındaki farklılıklar önemsiz olarak bulunmuştur (Çizelge 2).

Ortalamalar esas alınarak konsantrasyonlara göre EMS'nin etkisi değerlendirildiğinde, en yüksek kök kuru ağırlığının %0.2'lik konsantrasyonda (0.0121 g), en düşük %0.4'lük konsantrasyonda (0.0009 g) olduğu görülmüş, ancak konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz olmuştur (Çizelge 2).

Sürgün kuru ağırlığı (g)

Sürgün kuru ağırlığına EMS'nin uygulama süresinin etkisi istatistiksel düzeyde çok önemli (P<0.01), konsantrasyonun etkisi önemli (P<0.05), süre × konsantrasyon interaksiyonu ise yine çok önemli (P<0.01) olarak bulunmuştur (Çizelge 1).

En yüksek sürgün kuru ağırlığı değeri 0.0276 g ile 6 saatlik uygulama süresinden elde edilmiş; bunu 0.0074 g ile 10 ve 0.0012 g ile 6 saatlik uygulamalar izlerken, 0.0005 g değeri ile 9 saatlik uygulama son sırada yer almıştır (Çizelge 2).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek sürgün kuru ağırlığı 0.0229 g ile %0.3'lük konsantrasyonda tespit edilmiş, bu değer diğer tüm uygulamalardakine göre oldukça yüksek olup aralarındaki farklılık istatistik olarak çok önemli bulunmuş ve %0.3'lük EMS konsantrasyonunun sürgün gelişimini teşvik ettiği şeklinde yorumlanmıştır. Diğer yandan, kontrolde 0.0063 g olan sürgün kuru ağırlığı, %0.1'lik konsantrasyonda 0.0059'a, %0.4'lük konsantrasyonda 0.0057'ye ve %0.2'lik konsantrasyonda ise 0.0050'ye inmiş, ancak bu üç konsantrasyon arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli olmamıştır (Çizelge 2).

Çizelge 1. Tohuma farklı süre ve dozlarda EMS uygulamasından sonra çimlenme ve çim ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları
Table 1. *Analysis of variance in germination and seedling parameters of EMS application at different duration and concentration levels of wheat*

	SD	ÇO	OÇZ	ÇHİ	ÇGİ	KU	SU	KKA	SKA
Süre (saat)	3	2.13	0.003**	0.78**	221299.07**	8.92**	24.14**	0.003**	0.003**
Konsantrasyon (mM)	4	1.8	0.001	0.23	7322.15	0.59	0.53	0.000001	0.001*
Süre × Konsantrasyon	12	1.8	0.001	0.23	49707.29	4.44**	5.12	0.001	0.001**
Hata	60	1.86	0.001	0.15	31014.60	1.14	2.88	0.000001	0.000001
Toplam	80								

*, p<0.05; **: p<0.01 düzeyinde önemlidir. SD (Serbestlik derecesi), ÇO (Çimlenme oranı), OÇZ (Ortalama çimlenme zamanı), ÇHİ (Çimlenme hızı indeksi), ÇGİ (Çimlenme gücü indeksi), KU (Kök uzunluğu), SU (Sürgün uzunluğu), KKA (Kök kuru ağırlığı), SKA (Sürgün kuru ağırlığı).

Çizelge 2. Tohuma farklı süre ve dozlardaki EMS uygulaması sonrasında çimlenme ve çim ile ilgili karakterlere ait varyans analizi sonuçları.
Table 2. *Mean comparison of germination and seedling parameters of EMS application at different duration and concentration levels of wheat.*

Sure (dakika/saat)	Konsantrasyon (mM)	ÇO (%)	OÇZ (gün)	ÇHİ	ÇGİ	KU (cm)	SU (cm)	KKA (g)	SKA (g)
10 dakika	0	100.00	1.00	39.00	2370.00	11.63	12.08	0.0098	0.0072
	0.1	100.00	1.00	39.00	2340.50	10.93	12.48	0.0113	0.0062
	0.2	100.00	1.00	39.00	2271.50	10.21	12.50	0.0171	0.0082
	0.3	100.00	1.00	39.00	2364.00	12.00	11.64	0.0065	0.0078
	0.4	98.00	1.00	38.50	2288.24	10.76	12.58	0.0052	0.0076
	Ortalama	***99.60***	***1.00*** ^{B1}	***38.90*** ^{A}	***2326.84*** ^{A}	**11.10** ^{A}	**12.25** ^{B}	**0.0100** ^{B}	**0.0074** ^{B}
3 saat	0	100.00	1.01	38.88	2408.00	11.15	12.93	0.0055	0.0021 ^{a}
	0.1	98.00	1.05	38.04	2424.36	11.15	13.57	0.0049	0.0012 ^{b}
	0.2	99.00	1.04	38.33	2359.66	10.28	13.57	0.0139	0.0013 ^{b}
	0.3	99.00	1.04	38.33	2299.16	10.66	12.55	0.0094	0.0009 ^{bc}
	0.4	100.00	1.01	38.88	2295.00	9.44	13.52	0.0043	0.0004 ^{c}
	Ortalama	***99.20***	***1.03*** ^{A}	***38.49*** ^{B}	***2357.23*** ^{A}	**10.53** ^{AB}	**13.23** ^{A}	**0.0076** ^{B}	**0.0012** ^{B}
6 saat	0	100.00	1.00	39.00	2330.00	10.37 ^{a}	12.93	0.0250	0.0153 ^{b}
	0.1	100.00	1.00	39.00	2102.00	8.59 ^{b}	12.43	0.0154	0.0158 ^{b}
	0.2	100.00	1.00	39.00	2098.50	9.59 ^{ab}	11.40	0.0162	0.0102 ^{b}
	0.3	100.00	1.02	38.75	2244.50	10.81 ^{a}	11.64	0.0660	0.0821 ^{a}
	0.4	100.00	1.02	38.83	2288.50	10.12 ^{a}	12.77	0.0210	0.0143 ^{b}
	Ortalama	***100.00***	***1.01*** ^{B}	***38.91*** ^{A}	***2212.70*** ^{B}	**9.89** ^{BC}	**12.23** ^{B}	**0.0287** ^{A}	**0.0276** ^{A}
9 saat	0	100.00	1.00	39.00	2006.50	8.05 ^{cd}	12.01	0.0019	0.0004
	0.1	99.00	1.00	38.75	2061.92	9.71 ^{bc}	11.12	0.0009	0.0003
	0.2	100.00	1.00	39.00	2374.00	11.47 ^{a}	12.26	0.0011	0.0004
	0.3	100.00	1.04	38.58	2041.50	8.70 ^{d}	11.70	0.0016	0.0009
	0.4	99.00	1.00	38.75	2162.58	10.10 ^{b}	11.75	0.0092	0.0006
	Ortalama	***99.6***	***1.01*** ^{B}	***38.81*** ^{A}	***2129.30*** ^{B}	**9.61** ^{C}	**11.77** ^{B}	**0.0029** ^{B}	**0.0005** ^{B}
Ortalama Konsantrasyon (mM)	0	100.00	1.00	38.97	2278.63	10.30	12.49	0.0105	0.0063 ^{B}
	0.1	99.25	1.01	38.70	2232.20	10.09	12.40	0.0081	0.0059 ^{B}
	0.2	99.75	1.01	38.83	2275.91	10.39	12.43	0.0121	0.0050 ^{B}
	0.3	99.75	1.03	38.67	2237.29	10.55	11.88	0.0209	0.0229 ^{A}
	0.4	99.25	1.01	38.74	2258.58	10.10	12.65	0.0099	0.0057 ^{B}
LD_{50} değeri		***49.90***	***0.50***	***19.48***	***1139.31***	***5.15***	***5.24***	***0.0052***	***0.0031***

[1]Her bir uygulama süeresi için aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.
*SD (Serbestlik derecesi), ÇO (Çimlenme oranı), OÇZ (Ortalama çimlenme zamanı), ÇHİ (Çimlenme hızı indeksi), ÇGİ (Çimlenme gücü indeksi), KU (Kök uzunluğu), SU (Sürgün uzunluğu), KKA (Kök kuru ağırlığı), SKA (Sürgün kuru ağırlığı).

Sürgün kuru ağırlığı üzerine uygulama süresinin etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama süresi × konsantrasyonun etkisi istatistiksel olarak çok önemli (P<0.01) olmuştur (Çizelge 1). En yüksek sürgün kuru ağırlığı kontrol uygulama süresinde %0.2'lik konsantrasyonda; 3 saatlik uygulamada %0.1'lik konsantrasyonda; 6 ve 9 saatlik uygulamalarda ise %0.3'lük konsantrasyonda gözlenmiştir. En düşük sürgün kuru ağırlığı ise kontrol uygulama süresinde %0.1 konsantrasyonda; 3 saatlik uygulamada %0.4'lük konsantrasyonda; 6 saatlik uygulamada %0.2'lik konsantrasyonda ve 9 saatlik uygulamada %0.1'lik konsantrasyonda elde edilmiştir (Çizelge 2).

b. Torf ortamında gelişen fide ile ilgili karakterler

Çıkış oranı

Çıkış oranı üzerine EMS'nin uygulama süresi ve konsantrasyonu çok önemli (P<0.01), bu iki faktör arasındaki interaksiyon ise önemli (P<0.05) olmuştur (Çizelge 3). Uygulama süresinin uzaması genel anlamda (9 saat hariç) çıkış oranını düşürmüştür. Örneğin, kontrol uygulamada %97.80 olan çıkış oranı 9 saatlik uygulamada %91.80'e, 3 saatlik uygulamada %90.80'e, 6 saatlik uygulamada ise %84.40'e düşmüş, ancak yalnızca kontrol uygulama ile diğerleri arasındaki farklılıklar çok önemli olmuştur (Çizelge 4). Konsantrasyonların ortalamaları incelendiğinde, EMS uygulamasının çıkış oranını azalttığı görülmüştür. Örneğin kontrolde %94.50 olan çıkış oranı, %0.1'lik konsantrasyonda çok küçük bir azalma ile %94.20'ye, %0.2'lik konsantrasyonda %90.25'e, %0.3'lük konsantrasyonda %89.00'a, %0.4'lük konsantrasyonda ise %86.50'ye düşmüştür. Bu sonuçlara göre EMS'nin konsantrasyonu arttıkça çıkış oranı düşmüştür. Bununla birlikte, kontrol ile yalnızca %0.4'lük konsantrasyon arasındaki farklılık çok önemli olmuştur (Çizelge 4). Çıkış oranı üzerine EMS'nin uygulama süresinin etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama süresi × konsantrasyonun etkisi önemli (P<0.05) olmuştur (Çizelge 3). En yüksek çıkış oranı kontrol grupta %0 ve %0.1'lik konsantrasyonda, 3 saatlik uygulamada %0'lık konsantrasyonda; 6 saatlik uygulamada %0.3'lük konsantrasyonda, 9 saatlik uygulamada ise %0.1 ve %0.4'lük konsantrasyonlarda gözlenmiştir. En düşük çıkış oranı kontrol uygulama süresinde %0.4'lük, 3 saatlik uygulamada %0.2'lik; 6 saatlik uygulamada %0.1'lik, 9 saatlik uygulamada ise %0.2 ve %0.3'lük konsantrasyonlardan elde edilmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 3. Tohuma farklı süre ve dozlarda EMS uygulamasından sonra fide ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Table 3. *Analysis of variance seedling growth parameters of EMS application at different duration and concentration levels of wheat*

Varyasyon Kaynağı	Kareler ortalaması					
	SD	ÇO	İYU	KUZ	SUZ	FB
Süre (saat)	3	599.73**	9.38**	308.06**	198.73**	287.03**
Konsantrasyon (%)	4	190.29**	2.30**	59.86*	80.73**	267.03**
Süre × Konsantrasyon	12	121.90*	1.27**	59.31**	24.41**	113.52**
Hata	380	51.87	0.29	24.97	7.43	32.51
Toplam	400					

*: p<0.05; **: p<0.01 düzeyinde önemlidir.

İlk yaprak uzunluğu

İlk yaprak uzunluğu üzerine mutagenin uygulama süresi ve konsantrasyonu ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli (P<0.01) etki oluşturmuştur (Çizelge 3). Ortalamalar esas alınarak uygulama süresine göre değerlendirildiğinde en fazla ilk yaprak uzunluğu 3.92 cm ile 3 saatlik uygulamadan elde edilmiş, bunu 3.76 cm ile 6 saat, 3.45 cm ile 9 saat ve 3.24 cm ile kontrol uygulamalar izlemiştir (Çizelge 4). Mutagenin tüm konsantrasyonları ilk yaprak uzunluğunu artırmıştır. Konstantrasyon ortalamaları dikkate alındığında en yüksek ilk yaprak uzunluğu 3.78 cm ile %0.2'lik konsantrasyonda meydana gelmiş, bunu %0.4 (3.72 cm), %0.1 (3.57 cm) ve %0.3'lük (3.55 cm) uygulamalar izlemiş, son sırada ise 3.34 cm ile kontrol grup yer almıştır (Çizelge 4). İlk yaprak uzunluğu üzerine uygulama süresinin etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama süresi × konsantrasyonun etkisi çok önemli (P<0.01) olmuştur (Çizelge 3). En yüksek ilk yaprak uzunluğu kontrol ve 3 saatlik uygulama sürelerinde %0.2'lik konsantrasyonda; 6 saatlik uygulamada %0.3'lük konsantrasyonda ve %0.4'lük konsantrasyonda, 9 saatlik uygulama süresinde ise %0.1 ve %0.4'lük konsantrasyonlarda gözlenmiştir. En kısa ilk yaprak uzunluğu, kontrol ve 3 saatlik uygulama sürrelerinde %0.3'lük konsantrasyonda; 6 ve 9 saatlik uygulamalarda ise %0.0 konsantrasyonda tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Tohuma farklı süre ve dozlarda EMS uygulamasından sonra fide ile ilgili bazı karakterlere ait veriler
Table 2. *Mean comparison of seedling parameters of EMS application at different duration and concentration levels of wheat*

Süre (dakika/saat)	Konsantrasyon (%)	ÇO	İYU (cm)	KUZ (cm)	SUZ (cm)	FB (cm)
10 dakika	0	100.00	3.15 ^{bc2}	14.17	30.67 ^{a}	44.84 ^{ab}
	0.1	100.00	3.27 ^{b}	14.00	29.27 ^{b}	43.27 ^{b}
	0.2	98.00	3.70 ^{a}	13.56	31.79 ^{b}	45.34 ^{ab}
	0.3	97.00	2.82 ^{c}	13.95	32.06 ^{b}	46.01 ^{a}
	0.4	94.00	3.26 ^{b}	14.06	31.11 ^{b}	45.17 ^{ab}
	Ortalama	**97.80** ^{A}	**3.24** ^{D1}	**13.94** ^{C}	**30.98** ^{A}	**44.92** ^{B}
3	0	96.00 ^{a}	3.93	14.93	29.48 ^{b}	44.41 ^{b}
	0.1	95.00 ^{a}	3.85	15.95	30.81 ^{ab}	46.75 ^{ab}
	0.2	83.00 ^{b}	4.13	16.74	31.62 ^{a}	48.36 ^{a}
	0.3	94.00 ^{a}	3.83	16.50	31.73 ^{a}	48.23 ^{a}
	0.4	86.00 ^{ab}	3.90	15.92	29.65 ^{b}	45.57 ^{ab}
	Ortalama	**90.80** ^{B}	**3.92** ^{A}	**16.00** ^{B}	**30.66** ^{A}	**46.66** ^{A}
6	0	91.00 ^{ab}	3.54	18.44 ab	27.49 c	45.93 b
	0.1	72.00 ^{c}	3.78	18.63 ab	30.08 ab	48.71 ab
	0.2	85.00 ^{abc}	3.75	15.58 b	29.60 b	45.18 b
	0.3	96.00 ^{a}	3.88	20.74 a	32.14 a	52.88 a
	0.4	78.00 ^{bc}	3.88	17.62 ab	30.16 ab	47.78 b
	Ortalama	**84.40** ^{B}	**3.76** ^{B}	**18.20** ^{A}	**29.89** ^{B}	**48.09** ^{A}
9	0	91.00	2.77 ^{c}	12.54 ^{c}	25.57 ^{c}	38.11 ^{a}
	0.1	94.00	3.38 ^{b}	15.20 ^{bc}	28.09 ^{ab}	43.30 ^{b}
	0.2	90.00	3.55 ^{b}	19.68 ^{a}	29.82 ^{a}	49.50 ^{a}
	0.3	90.00	3.67 ^{ab}	18.50 ^{ab}	27.08 ^{bc}	45.59 ^{ab}
	0.4	94.00	3.87 ^{a}	16.75 ^{ab}	28.65 ^{ab}	45.40 ^{ab}
	Ortalama	**91.80** ^{B}	**3.45** ^{C}	**16.53** ^{B}	**27.84** ^{C}	**44.38** ^{A}
Konsantrasyon Ortalama (%)	0	94.50 ^{A}	3.34 ^{D}	15.02 ^{B}	28.30 ^{C}	43.32 ^{B}
	0.1	94.25 ^{A}	3.57 ^{BC}	15.94 ^{AB}	29.56 ^{B}	45.50 ^{B}
	0.2	90.25 ^{AB}	3.78 ^{A}	16.38 ^{AB}	30.70 ^{A}	47.09 ^{AB}
	0.3	89.00 ^{AB}	3.55 ^{C}	17.42 ^{A}	30.75 ^{A}	48.17 ^{A}
	0.4	86.50 ^{B}	3.72 ^{AB}	16.08 ^{AB}	29.89 ^{AB}	45.98 ^{B}
LD_{50} değeri		***47.25***	***1.67***	***7.51***	***14.15***	***21.66***

[1]Aynı sütunda aynı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.
[2]Her bir uygulama süresi için aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Kök uzunluğu

Kök uzunluğu üzerine uygulama süresinin etkisi istatistiksel anlamda çok önemli ($P<0.01$), konsantrasyonun etkisi önemli ($P<0.05$), süre × konsantrasyon interaksiyonu ise çok önemli ($P<0.01$) olmuştur (Çizelge 3). En fazla kök uzunluğu 18.20 cm ile 6 saatlik uygulama süresinden elde edilmiş, bunu 16.53 cm ile 9 saat, 16.00 cm ile 3 saat, 13.94 cm ile kontrol uygulamalar takip etmiştir. Buna göre, kök uzunluğu uygulama süresinin uzamasına veya kısalmasına paralel bir değişim göstermemiştir (Çizelge 4). Konsantrasyonların ortalamaları incelendiğinde, kök uzunluğunun konsantrasyondaki artışa paralel bir değişim göstermediği görülmüştür. Nitekim, en uzun kökler 17.42 cm ile %0.3'lük konsantrasyonda tespit edilmiş, bunu azalan sıra ile %0.2 (16.38 cm) ve %0.4'lük (16.08 cm) konsantrasyonlar izlemiş, en kısa kökler ise kontrol grupta (15.02 cm) belirlenmiştir. Buradaki sonuçlardan da görüleceği gibi, mutagenin tüm konsantrasyonları kök uzunluğu artırmıştır (Çizelge 4). Kök uzunluğu üzerine EMS'nin uygulama süresinin etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama süresi × konsantrasyonun etkisi çok önemli ($P<0.01$) olmuştur (Çizelge 3). En yüksek kök uzunluğu kontrol uygulama süresinde %0.0'lık konsantrasyonda; 3 ve 9 saatlik uygulamada %0.2'lik konsantrasyonda, 6 saatlik uygulama süresinde ise %0.3'lük konsantrasyonda gözlenmiştir. En kısa kök uzunluğu, kontrol ve 6 saatlik uygulama sürrelerinde %0.2'lik konsantrasyonda; 3 ve 9 saatlik uygulamalarda ise %0.0'lik konsantrasyonda ölçülmüştür (Çizelge 4).

Sürgün uzunluğu

Sürgün uzunluğu üzerine EMS'nin uygulama süresi ve konsantrasyonu ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ($P<0.01$) olmuştur (Çizelge 3). Uygulama süresi esas alındığında, en yüksek sürgün uzunluğu 30.98 cm ile kontrol uygulamada gerçekleşmiş, bunu 30.66 cm ile 3 saat, 29.89 cm ile 6 saat ve 27.84 cm ile 9 saatlik uygulama süreleri izlemiştir. Buna göre uygulama süresi uzadıkça sürgün uzunluğunda belirgin bir kısalma gerçekleşmiştir (Çizelge 4). Konsantrasyon ortalamaları dikkate alınarak yapılan değerlendirmede, mutagenin tüm konsantrasyonlarının sürgün uzunluğunu artırdığı tespit edilmiştir. Nitekim, kontrolde 28.30 cm olan sürgün uzunluğu %0.1'lik konsantrasyonda 29.56

cm'ye, %0.4'lük konsantrasyonda 29.89 cm'ye, %0.2'lik konsantrasyonda 30.70 cm'ye, %0.3'lük konsantrasyonda ise 30.75 cm'ye yükselmiş ve kontrol ile diğer tüm konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar çok önemli olmuştur (Çizelge 4). Sürgün uzunluğu üzerine EMS'nin uygulama süresinin etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama süresi × konsantrasyonun etkisi çok önemli ($P<0.01$) olmuştur (Çizelge 3). En yüksek sürgün uzunluğu kontrol ve yine 3 ve 6 saatlik uygulama sürelerinde %0.3'lük, 9 saatlik uygulamada %0.2'lik konsantrasyonda gözlenmiştir. En düşük sürgün uzunluğu ise kontrol uygulama süresinde %0.1'lik konsantrasyonda; 3, 6 ve 9 saatlik uygulamalarda ise %0.0'lik konsantrasyondan elde edilmiştir (Çizelge 4).

Fide boyu

Fide boyu üzerine etil metansülfonatın uygulama süresi ve konsantrasyonu ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ($P<0.01$) olmuştur (Çizelge 3). Ortalamalar esas alınarak uygulama süresine göre değerlendirildiğinde, en uzun fide boyu 48.09 cm ile 6 saatlik uygulamadan elde edilmiş, bunu 46.66 cm ile 3 saat, 44.92 cm ile kontrol uygulamalar izlemiştir. Bu karakter bakımından son sırada 44.38 cm ile 9 saatlik uygulama yer almıştır (Çizelge 4). Konsantrasyonların ortalamaları dikkate alınarak değerlendirildiğinde, en uzun fide boyunun 48.17 cm ile %0.3'lük konsantrasyonda elde edildiği, bunu %0.2 (47.09 cm), %0.4 (45.98 cm) ve %0.1'lik (45.50 cm) konsantrasyonların takip ettiği görülmüştür. En kısa fide boyu 43.32 cm ile kontrol gruptan elde edilmiş, ancak bu konsantrasyon ile %0.1 ve %0.4'lük konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar önemsiz olmuştur (Çizelge 4). Fide boyu üzerine EMS'nin uygulama süresinin etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama süresi × konsantrasyonun etkisi çok önemli ($P<0.01$) olmuştur (Çizelge 3). En yüksek fide boyu kontrol ve 6 saatlik uygulama sürelerinde %0.3'lük konsantrasyonda; 3 ve 9 saatlik uygulamalarda ise %0.2'lik konsantrasyonda gözlenmiştir. En kısa fide boyu, kontrol uygulama süresinde %0.1'lik konsantrasyonda; 3 ve 9 saatlik uygulama sürelerinde %0.0'lık konsantrasyonda; 6 saatlik uygulamada ise %0.2'lik konsantrasyonda tespit edilmiştir (Çizelge 4).

TARTIŞMA VE SONUÇ

EMS, rastgele bölgelerde yüksek sıklıkta mutasyonlara (Schy and Plewa 1989) neden olması ve bunlar içerisinde kromozomal anormalliklerin sıklığının düşük olması nedeniyle tercih edilen mutagenlerden biridir. Etil metansülfonat özellikle kallus gibi hızlı bir şekilde bölünen ve çoğalan hücrelere uygulandığında en etkili olmakta, çünkü bu sırada hücreler DNA'larını replike etmekle uğraştıklarından mutasyonların hatalı onarılma ihtimali çok yüksektir (Kilbey and Hunter, 1983). Öte yandan, EMS'nin uygulama süresi uzadıkça kağıt ortamda gelişen fide ilgili karakterlerde genel olarak bir düşüşe neden olduğu görülmekle birlikte, sürgün uzunluğunun 3 saatlik uygulama süresinde, kök kuru ağırlığının ve sürgün kuru ağırlığının ise 6 saatlik uygulama süresinde kontrole göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirme yapıldığında; kök uzunluğunun %0.1, %0.2 ve %0.3'lük konsantrasyonlarda; kök kuru ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığının %0.3'lük konsantrasyonda kontrole göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bu araştırmada elde edilen bulgulara benzer olarak kaba limonda birincil kök uzunluğu kontrolde 5.8 cm iken, EMS'nin %0.2, %0.3, ve %0.4'lük konsantrasyonlarında sırasıyla 6.3, 6.1 ve 5.9 cm olmuştur. Yine, düşük konsantrasyonlarda EMS'nin uyarıcı etkisi kök, sürgün ve fide uzunluğunda da gözlenmiştir. EMS'nin bu uyarıcı etkisinin, oksin gibi büyüme hormonunun aktivasyonunu artırarak hücrelerin bölünme hızını artırmasına bağlı olabileceği ifade edilmiştir (Zaka et al., 2004). Benzer bulgular muzda da elde edilmiştir (Omar et al., 1989). EMS ve MMS (metil metansülfonat) gibi kimyasal mutagenler uygulandığında çimlenme oranındaki aşamalı azalma fide büyümesinde de tespit edilmiştir (Sharma et al., 2013).

Mutasyonların uyarılmasında en kritik faktör mutagenin konsantrasyonu ve uygulama süresidir. Genel bir kural olarak, belli bir konsantrasyon ve uygulama süresinde mutagenin konsantrasyonu ve süresi arttıkça, normalde daha fazla mutasyon oluşmakta, ancak yüksek konsantrasyonlar ve uygulama süreleri aynı zamanda daha fazla fide hasarına ve ölüme neden olmaktadırlar (Jenks *et al.* 2007). Çeltikte arzu edilen varyasyonları uyarmak için çeşitli kimyasal (EMS ve sodyum azit) ve fiziksel (gamma ışınları, X- ışınları ve hızlı nötronlar) mutagenler yaygın bir şekilde kullanılmıştır. Kimyasal mutagenler temelde nokta mutasyonlarını uyarır, bu nedenle yanlış anlamlı ve anlamsız mutasyonların elde edilmesinde ideal kimyasallardır. Buna karşın, iyonize edici radyasyonlar normalde kromozomların yeniden şekillenmelerine ve delesyonlara (kayıplara) neden olurlar (Bhat et al., 2007). Dhakshanamoorthy et al. (2010) tarafından *Jatropha curcas*'ta yapılan bir çalışmada, kuru tohumlara gama ışınları ve EMS (%1, 2, 3, 4) uygulanmış ve çimlenme oranı, kök uzunluğu, sürgün uzunluğu, fide boyu, bitki boyu ve diğer bazı karakterler yönünden değerlendirmeler yapılmıştır. Araştırıcı, EMS'nin %1'lik

konsantrasyonunun tohumların çimlenme oranını artırdığını, buna karşın %4'lük konsantrasyonunun azalttığını bildirmiş ve ayrıca yüksek konsantrasyonun (%4) incelenen tüm karakterler için engelleyici etki gösterdiğini kaydetmiştir.

EMS'nin hem uygulama süresi hem de konsantrasyonunun torf ortamında gelişen fidelerde incelenen karakterlerin hemen hemen tamamı (kök uzunluğu için önemli) üzerine etkisi çok önemli olmuştur. Uygulama süresinin uzaması genel olarak çıkış oranının azalmasına neden olmuştur. İlk yaprak uzunluğu, kök uzunluğu ve fide boyu (9 saat hariç) tüm uygulama sürelerinde kontrole göre daha yüksek olmuştur. Konsantrasyonlara göre değerlendirildiğinde, uygulanan konsantrasyon arttıkça çıkış oranının azaldığı görülmüştür. Buna karşın ilk yaprak uzunluğu, koleoptil uzunluğu, sürgün uzunluğu ve fide boyu EMS'nin tüm konsantrasyonlarında kontrole göre daha yüksek olmuştur. Sakin (1998) tarafından makarnalık buğdayın (*Triticum durum* Desf.) Gediz-75 ve Sofu çeşitlerinde yapılan bir çalışmada gama ışını ve EMS'nin M_1 ve M_2 bitkileri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırıcı, EMS'yi %0,1, %0,2, %0,3 ve %0,4'lük konsantrasyonlar halinde uygulamıştır. Araştırma sonuçlarına göre; iki makarnalık buğday çeşidinde, M_1 ve M_2 bitkilerinde incelenen karakterler üzerinde mutagenlerin farklı etkiler meydana getirdiği ve bu etkilerin çeşitlere göre değiştiği belirlenmiştir. Araştırıcı, gama ışını ve EMS uygulamasının, M_1 bitkilerinde incelenen özellikler üzerinde olumsuz etkiler meydana getirdiğini ve bu etkilerin, konsantrasyon arttıkça daha da belirgin bir şekilde ortaya çıktığını kaydetmiştir. Araştırıcı, en uygun EMS konsantrasyonunun Gediz-75 için %0.4, Sofu çeşidi için ise %0.3 olduğunu belirlemiştir. Buğdayda tohum çimlenmesi ve çimlenme ile ilgili bazı karakterler üzerine EMS uygulamasının etkisini belirlemek amacıyla Bahar and Akkaya (2009) tarafından yapılan bir denemede 3 farklı EMS konsantrasyonu (0.1, 0.2 ve %0.3) uygulanmıştır. Bu uygulamaların tohum çimlenmesi, koleoptil oluşumu, ilk yaprak oluşumu, kök uzunluğu, koleoptil uzunluğu, fide boyu, fide büyüme oranı, ilk yaprak uzunluğu, kök ve sürgün yaş ve kuru ağırlıkları üzerine olan etkileri incelenmiştir. Araştırıcılar, EMS uygulamasının, değerlendirilen tüm karakterler üzerine etkili olduğunu ve EMS konsantrasyonları arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğunu kaydetmişlerdir. Denemede, EMS'nin konsantrasyonu arttıkça incelenen tüm özelliklerin azaldığı tespit edilmiştir. Çeltik (*Oryza sativa* L.) tohumlarına EMS'nin %0.25, %0.50, %0.75, %1.00, %1.25, %1.50 ve %2.00'lik konsantrasyonlarının uygulandığı bir çalışmada, EMS uygulamasının tohum çimlenmesini, fide boyunu, kök uzunluğunu ve tarla koşullarında çıkışı kontrole göre azalttığı tespit edilmiştir (Talebi et al., 2012). Araştırıcılar M_1 kuşağında farklı fiziksel ve kimyasal mutagenlerin etkilerini belirlemek için fide boyunun iyi bir ölçüt olarak kullanılabileceğini ve fide boyu ile fiziksel veya kimyasal mutagenin konsantrasyonu arasında doğrusal bir ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, denemede kimyasal mutagenin konsantrasyonu arttıkça kök uzunluğunun azaldığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada farklı süre ve konsantrasyonlarda uygulanan EMS; çimlenme ve fide ile ilgili birçok özelliği olumlu yönde etkilemiş, dolayısıyla kontrole göre artışa neden olmuşsa da Sakin (1998) tarafından buğday için önerilen %0.3 ve %0.4'lük dozlar uygulanmış olmasına rağmen, araştırmada uygulanan süre ve konsantrasyonlara göre LD_{50} değeri belirlenememiştir. Buna göre ileride yapılacak çalışmalarda daha yüksek konsantrasyonlar uygulanarak LD_{50} değerinin tespit edilmesi önerilebilir.

TEŞEKKÜR

Çalışmaya destek sağlayan Atatürk Üniversitesi BAP (Proje No: 2013/143) birimi ve TÜBİTAK'a (Proje No: TOVAG 113O940) teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar, aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkıları

AHP, MT ve KH araştırmayı tasarladı ve analizlerini yaptı. AHP tabloların hazırlanması çalışmalarını yürüttü. Tüm yazarlar makalenin yazımına katkı yaptı ve makalenin yayın aşamasındaki süreçte görev alarak okuyup onayladı.

KAYNAKLAR

Abdul-Baki, A.A., Anderson, J.D., 1970. Viability and leaching of sugars from germinating barley. Crop Sci., 10 (1): 31-34.

Bahar, B., Akkaya, M.S., 2009. Effects of EMS treatment on the seed germination in wheat. JABS, 3 (1): 53-58.

Başer, İ., Bilgin, O., Korku, K., Balkan, A., 2007. Makarnalık buğdayda mutasyon ıslahı ile bazı kantitatif karakterlerin geliştirilmesi. Ankara Üni Zir. Fak.Tarim Bilim. Derg., 13 (4): 346-353.

Bhat, T.A., Sharma, M., Anis, M., 2007. Diethylsulphate and Sodium Azide in Broad Bean (*Vicia faba* L.). Asian J. Plant Sci., 6 (7): 1051-1057.

Dhakshanamoorthy, D., Selvaraj, R., Chidambaram, A., 2010. Physical and chemical mutagenesis in *Jatropha curcas* L. to induce variability in seed

germination, growth and yield traits. Rom. J. Biol, 55 (2): 113-125.

Dobres, M.S., 2008. Barriers to genetically engineered ornamentals: an industry perspective. Floriculture, ornamental and plant biotechnology. Glob. Sci. Books, UK, 1-115.

Elkoca, E., 1997. Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L)'de Tuza Dayanıklılık Üzerine Bir Araştırma. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 82 s.

Henikoff, S., Comai, L., 2003. Single-nucleotide mutations for plant functional genomics. Annu. Rev. Plant Biol., 54 (1): 375-401.

Jenks, M.A., Hasegawa, P.M., Jain, S.M., Foolad, M., 2007. Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops. Springer Science and Business Media. pp. 797.

Kaya, A., 2006. Çukurova'nın Taban ve Kıraç Koşullarında Bazı Ekmeklik Buğday Genotiplerinin Morfolojik ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 82 s.

Kenganal, M., Hanchinal, R.R., Nadaf, H.L., 2008. Ethyl methane sulphonate (EMS) induced mutation and selection for salt tolerance in sugarcane *in vitro*., Indian J. Plant Physiol., 13 (4): 405-410.

Kilbey, B., Hunter, F., 1983. Factors affecting mutational yield from EMS exposures of yeast (*S. cerevisiae*). Mutation Research Letters. 122 (1): 35-38.

Luan, Y.-S., Zhang, J., Gao, X.R., An, L.J., 2007. Mutation induced by ethylmethanesulphonate (EMS), in vitro screening for salt tolerance and plant regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). Plant Cell Tıss Org, 88 (1): 77-81.

Maguire, J.D., 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Sci., 2 (2): 176-177.

Omar, M., Novak, F., Brunner, H., 1989. *In vitro* action of ethylmethanesulphonate on banana shoot tips. Sci. Hortic., 40 (4): 283-295.

Sakin, M., 1998. Makarnalık Buğday (*Triticum durum* Desf.)'da Gama Işını ve EMS'nin Farklı Dozlarının M1 ve M2 Bitkileri Üzerindeki Etkileri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Tokat, 95 s.

SAS, I., 2002. (Cary, United States) SAS user's guide: Statistics. 9 s.

Schy, W.E., Plewa, M.J., 1989. Molecular dosimetry studies of forward mutation induced at the yg2 locus in maize by ethyl methanesulfonate. Mutat Res-Fund Mol. M., 211 (2): 231-241.

Sharma, L.K., Manisha, K., M. I. S, G., Bali S. K, 2013. Germination and survival of *Citrus Jambhiri* seeds and epicotyls after treating with different mutagens under *in vitro* conditions, Middle East J. Sci. Res., 16 (2): 250-255.

Singh, R. and Kole, C., 2005. Effect of mutagenic treatment with EMS on germination and some seedling parameters in mungbean, Crop Res-Hisar-, 30 (2): 236-240

Till, B.J., Colbert, T., Tompa, R., Enns, L.C., Codomo, C.A., Johnson, J.E., Reynolds, S.H., Henikoff, J.G., Greene, E.A., Steine, M.N., 2003. High-throughput TILLING for functional genomics. Funct. Plant Biol., 236: 205-220.

Tosun, M., 2015. Mutasyon Islahı. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ders Yayınları No: 248, Erzurum, 364 s.

Zaka, R., Chenal, C., Misset, M., 2004. Effects of low doses of short-term gamma irradiation on growth and development through two generations of *Pisum sativum*. Sci. Total Environ., 320 (2): 121-129.