

T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**MOR HAVUÇTA MUTASYON ISLAHI İÇİN UYGUN IŞIN DOZUNUN  
BELİRLENMESİ VE OLUŞABİLECEK VARYASYONLARIN TESPİT  
EDİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Gülistan YARAR  
DANIŞMAN: Doç. Dr. Mehtap YILDIZ

VAN-2019



T.C.  
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**MOR HAVUÇTA MUTASYON ISLAHI İÇİN UYGUN İŞİN DOZUNUN  
BELİRLENMESİ VE OLUŞABİLECEK VARYASYONLARIN TESPİT  
EDİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Gülistan YARAR

Bu çalışma Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2017-6148 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2019



## KABUL VE ONAY SAYFASI

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Mehtap YILDIZ danışmanlığında, Gülistan YARAR tarafından sunulan “Mor Havuçta Mutasyon Islahı İçin Uygun Işın Dozunun Belirlenmesi ve Oluşabilecek Varyasyonların Tespit Edilmesi” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 29/07/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Suat ŞENSOY

İmza:

Üye: Doç. Dr. Mehtap YILDIZ

İmza:

Üye: Doç. Dr. Esin ARI

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .... / .... / ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....  
Enstitü Müdürü



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

(İmza)

Gülistan YARAR







## ÖZET

### MOR HAVUÇTA MUTASYON ISLAHI İÇİN UYGUN IŞIN DOZUNUN BELİRLENMESİ VE OLUŞABİLECEK VARYASYONLARIN TESPİT EDİLMESİ

YARAR, Gülistan  
Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehtap YILDIZ  
Ağustos 2019, 68 sayfa

Bu tez çalışmasında, mor havuçta etkili gama mutasyon dozunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Yerel Hatay mor havuç popülasyonuna ait tohumlara farklı gama ışın dozları [0, 50, 100, 200, 300, 400, 500 ve 600 Gy] uygulanmıştır. Kontrol ve farklı ışın dozlarına tabi tutulan havuç tohumları saksılara ekilmiş ve hayatta kalma oranları regresyon analizi yapılarak elde edilmiştir. Etkili mutajen dozu 387,5 Gy olarak hesaplanmıştır. Kontrol ve farklı ışın dozları uygulanmış mutant bitkilere ait kök uzunluğu, kök omuz genişliği ve yeşil aksam uzunluğu ölçülmüş ve doz oranları arttıkça mutant bitkilerde kök boyu, omuz genişliği ve yeşil aksam uzunluğunun olumsuz yönde etkilendiği saptanmıştır. Kontrol ve farklı doz grupları arasındaki polimorfizmi belirlemek amacıyla SRAP ve ISSR markırları kullanılmıştır. Dokuz SRAP primer kombinasyonu ve 4 ISSR primerinden toplam 100 bant elde edilmiş ve bunun 84 (%84) tanesi polimorfik özellik göstermiştir. SRAP markırlarında en yüksek bant sayısı (13) Me2 X Em16 primer kombinasyonundan 100 Gy ve 400 Gy dozlarında, en düşük bant sayısı (2) Me1 X Em3 primer kombinasyonunda kontrol grubunda elde edilmiştir. ISSR markırlarında ise en yüksek bant sayısı (10) 50 Gy ve 100 Gy dozlarında ISSR3 primerinden, en düşük bant sayısı (4) Sola11 primerinden 600 Gy dozunda elde edilmiştir. JACARD benzerlik matrisi temeline dayalı oluşturulan dendrogramda 3 ana grup oluşmuştur; a) kontrol, b) 600 Gy doz mutantları bir grup, c) 3. ana grup iki alt grup oluşturmuş ve 50 Gy, 100 Gy ve 200 Gy mutant bitkiler bir alt grupta, 300 Gy, 400 Gy ve 500 Gy mutant bitkiler diğer bir alt grupta toplanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Etkili mutajen dozu, Mor havuç, Mutasyon



## ABSTRACT

### DETERMINATION OF THE EFFECTIVE RADIATION DOSE FOR MUTATION BREEDING IN PURPLE CARROT AND POSSIBLE VARIATIONS FORMED

YARAR, Gülistan

M.Sc. Thesis. Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehtap YILDIZ

August 2019, 68 pages

The effective gamma mutation dose in purple carrot was aimed to determine in this thesis which was conducted. For this purpose, different gamma irradiation doses [0, 50, 100, 200, 300, 400, 500, and 600] were applied to the seeds of the local Hatay purple carrot population. Purple carrot seeds were planted in pots and survival rates were revealed by regression analysis. The effective dose of mutagen was shown as 387.5 Gy. Root length, shoulder diameter and length of root's green parts of control and mutant plants which were exposed to different doses were measured and it was found those characters were affected adversely in mutant plants. SRAP and ISSR markers were used to determine the polymorphism among the control and mutant plant groups. A total of 100 bands were obtained using 4 ISSR primers and 9 SRAP primer combinations, of which 84 (84%) were polymorphic. Using SRAP markers, the highest number of bands (13) was obtained from Me2 X Em16 primer combination at 100 Gy and 400 Gy doses, while the lowest number of bands (2) was obtained from Me1 X Em3 combination in the control group. On the other hand, when ISSR markers were used, the highest number of bands (10) was obtained from ISSR3 primer at 50 Gy and 100 Gy doses, while the lowest number of bands (4) was obtained at 600 Gy dose from Sola11 primer. The dendrogram created based on the similarity matrix of JACCARD consisted of 3 main groups; a) control group, b) a group of mutants exposed to 600 Gy dose, c) The third group included two subgroups. The mutant plants which were exposed to 50 Gy, 100 Gy and 200 Gy were collected in one subgroup, 300 Gy, 400 Gy and 500 Gy applied mutant plants were collected in another subgroup.

**Keywords:** Efficient mutagen dose, Mutation, Purple carrot



## ÖN SÖZ

Yüksek Lisans tez konumun belirlenmesinde ve yönlendirici katkı, öneri ve yardımlarını esirgemeyen başta danışman hocam sayın Doç. Dr. Mehtap YILDIZ'a teşekkürlerimi sunmayı görev sayarım. Ayrıca tezimin her aşamasında benden yardımını esirgemeyen Arş. Gör. Metin KOÇAK' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez verilerimin analizinde destek sağlayan Sayın Prof. Dr. Abdullah Yeşilova ve Doç. Dr. Çeknas ERDİNÇ'e teşekkür ederim. Tezimin arazi çalışmalarını yürüttüğümüz ALATA Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü'ne ve büyük emeği geçen Ziraat Yüksek Mühendisi Nihal DENLİ'ye teşekkür ederim.

Hayattaki en büyük şansım saydığım canım eşim Eşref YARAR'a, anneme, babama, biricik kardeşlerim Nurgül MÜHİRCİ ve Esin MÜHİRCİ'ye ayrıca bu zaman sürecinde beni yalnız bırakmayan canım arkadaşlarım Suna TUNÇ ve Biyolog Gökhan SADIK'a gösterdikleri sabır, anlayış ve destekleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmaya FYL-2017-6148 nolu proje ile destek veren Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

2019

Gülistan YARAR



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

|   |      |
|---|------|
| ÖZET.....   | i    |
| ABSTRACT.....                                       | iii  |
| ÖN SÖZ.....   | v    |
| İÇİNDEKİLER.....                                    | vii  |
| ÇİZELGELER LİSTESİ.....                             | ix   |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....                               | xi   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR.....                        | xiii |
| EKLER DİZİNİ.....                                   | xv   |
| 1. GİRİŞ.....                                       | 1    |
| 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ.....                         | 7    |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....                          | 19   |
| 3.1. Materyal.....                                  | 19   |
| 3.1.1. Bitki materyali.....                         | 19   |
| 3.2. Yöntem.....                                    | 19   |
| 3.2.1. Tohumlara ışın uygulaması.....               | 19   |
| 3.2.2. Tohumların çimlendirilmesi.....              | 19   |
| 3.2.3. Morfolojik karakterizasyon.....              | 21   |
| 3.2.4. Moleküler karakterizasyon.....               | 22   |
| 3.2.4.1. Genomik DNA izolasyonu.....                | 22   |
| 3.2.4.2. DNA izolasyon protokolü.....               | 22   |
| 3.2.4.3. DNA miktarı ve saflığı.....                | 23   |
| 3.2.4.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR/PCR)..... | 25   |
| 3.2.4.5. Agaroz jel elektroforezi.....              | 27   |
| 3.2.4.6. Verilerin değerlendirilmesi.....           | 27   |
| 4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....                        | 29   |
| 5. SONUÇ.....                                       | 49   |
| KAYNAKLAR.....                                      | 51   |

|                 | <b>Sayfa</b> |
|-----------------|--------------|
| EKLER .....     | 57           |
| ÖZ GEÇMİŞ ..... | 67           |





## ÇİZELGELER LİSTESİ

| Çizelge  | Sayfa |
|--|-------|
| Çizelge 3.1. Mor havuç genotiplerinden izole edilen genomik DNA örneklerinin konsantrasyonları ve kalitesi .....                                   | 24    |
| Çizelge 3.2. Tez çalışmasında kullanılan SRAP primerleri ve baz dizilimleri .....  | 25    |
| Çizelge 3.3. SRAP markırında kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu bileşeni ..  | 25    |
| Çizelge 3.4. Tez çalışmasında kullanılan PCR koşulları (SRAP) .....  | 26    |
| Çizelge 3.5. Tez çalışmasında kullanılan ISSR primerleri ve baz dizilimleri .....  | 26    |
| Çizelge 3.6. ISSR PCR reaksiyon bileşeni .....   | 26    |
| Çizelge 3.7. ISSR PCR döngü koşulları .....  | 27    |
| Çizelge 4.1. Kontrol ve farklı gama ışını uygulanmış tohumların inkübatörde çimlenme ve saksı ortamında çıkış oranları .....                       | 31    |
| Çizelge 4.2. Farklı ışın dozlarına maruz bırakılmış bitkilere ait kök boyu, kök omuz genişliği ve yeşil aksam değer ortalamaları .....             | 32    |
| Çizelge 4.3. ISSR primerlerinin toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bigi içeriğine ait değerler ... | 38    |
| Çizelge 4.4. SRAP primerlerinin toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bigi içeriğine ait değerler ... | 40    |



## ŞEKİLLER LİSTESİ

| Şekil  | Sayfa |
|--|-------|
| Şekil 3.1. Gama ışını uygulanmış tohumların inkübatörde çimlendirilme görüntüsü .....  | 20    |
| Şekil 3.2. Saksı denemesinden görüntüler .....   | 20    |
| Şekil 3.3. Bitkilerde hasat sonrası farklı dozlarda gözlenen değişimler ( A: kontrol; B: 50; C: 100; D: 200; E: 300; F: 400; G: 500; H: 600) .....                       | 21    |
| Şekil 4.1. Hayatta kalma yüzdeleri kullanılarak elde edilen hayatta kalma oranı (%) eğrisi ve regresyon analizi sonucu elde edilen hayatta kalma oranı (%) doğrusu ..... | 30    |
| Şekil 4.2. Kök boyu değerlerine ait box-plot grafiği .....   | 33    |
| Şekil 4.3. Kök omuz genişliği değerlerine ait box-plot grafiği .....   | 33    |
| Şekil 4.4. Yeşil aksam boyu değerlerine ait box-plot grafiği .....   | 34    |
| Şekil 4.5. SRAP ve ISSR markırlarından elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü (a ve b) Me11 X Em4 SRAP primer kombinasyonu (c ve d) ISSR3 primeri .....     | 35    |
| Şekil 4.6. Jaccard benzerlik matrisine dayalı kontrol grubu (K1-1, K1-2, K2-1, K2-2, K3-1, K3-2, K4-1, K4-2, K5-1, K5-2, K6-1 ve K6-2) UPGMA dendrogramı .....           | 44    |
| Şekil 4.7. Kontrol grubu bitkilerin hasat sonrası görüntüsü .....  | 45    |
| Şekil 4.8. Jaccard benzerlik matrisine dayalı ISSR markırının UPGMA dendrogramı .....  | 46    |
| Şekil 4.9. Jaccard benzerlik matrisine dayalı SRAP markırının UPGMA dendrogramı .....  | 46    |
| Şekil 4.10. Jaccard benzerlik matrisine dayalı SRAP ve ISSR markırlarının UPGMA dendrogramı .....  | 47    |



## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

### Simgeler

### Açıklama

|     |                         |
|-----|-------------------------|
| °C  | Derece                  |
| Dk  | Dakika                  |
| Gy  | Gray                    |
| M   | Molar                   |
| ml  | Mililitre               |
| mM  | Milimolar               |
| ng  | Nanogram                |
| µl  | Mikrolitre              |
| rpm | Dakikadaki Devir Sayısı |
| sn  | Saniye                  |

### Kısaltmalar

### Açıklama

|                   |                                      |
|-------------------|--------------------------------------|
| A                 | Adenin                               |
| At                | Bağlanma Sıcaklığı                   |
| AFLP              | Amlified Fragment Length Polymorphic |
| C                 | Sitozin                              |
| CTAB              | Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide     |
| DNA               | Deoksiribonükleik Asit               |
| dNTP              | Deoksinükleotit Fosfatlar            |
| dH <sub>2</sub> O | Distile Su                           |
| EDTA              | Ethylene Diamino Tetra Acetic Acid   |
| G                 | Guanin                               |
| ISSR              | Inter Simple Sequence Repeat         |

**Kısaltmalar****Açıklama**

|                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>MgCl<sub>2</sub></b>  | Magnezyum Klorür                                  |
| <b>NaCl</b>              | Sodyum Klorür                                     |
| <b>PB</b>                | Presipitasyon Tamponu                             |
| <b>PCR</b>               | Polimeraz Chain Reaction                          |
| <b>pH</b>                | Power of Hydrogen                                 |
| <b>PIC</b>               | Polymorphic Information Content                   |
| <b>PZR</b>               | Polimeraz Zincir Reaksiyonu                       |
| <b>RAPD</b>              | Random Amplified Polymorphic DNA                  |
| <b>SRAP</b>              | Sequence Related Amplified Polymorphism           |
| <b>SSR</b>               | Simple Sequence Repeat                            |
| <b>STS</b>               | Sequence Tagged Site                              |
| <b>T</b>                 | Timin   |
| <b>Taq</b>               | Thermus aquaticus                                 |
| <b>Taq DNA Polimeraz</b> | Termo Stabil DNA Polimeraz Enzimi                 |
| <b>UPGMA</b>             | Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean |
| <b>UV</b>                | Ultraviyole                                       |

## EKLER DİZİNİ

|                                | <b>Sayfa</b> |
|--------------------------------|--------------|
| Ek 1. Morfolojik ölçümler..... | 57           |







## 1. GİRİŞ

Kültür havuçları (*Daucus carota* subsp. *sativus*) ( $2n=2x=18$ ) ekonomik ve besin içeriği bakımından Apiaceae familyasının kültürü yapılan en önemli üyesidir. Kültür havuçları Doğu/Asya grubu (var. *altorubens*) ve Batı grubu (var. *sativus*) olmak üzere iki farklı gruba ayrılmaktadır. Doğu/Asya grubu havuçları mor, pembe, turuncu-sarı antosiyanin pigmentine sahip ve sıklıkla dallanan kökler, tüylü ve az parçalı yapraklar ve erken çiçeklenmeye eğilimlidirler. Batı grubu havuçlar ise turuncu, sarı, kırmızı veya beyaz karotenoid içeren köklere sahiptirler; yaprakları az tüylü ve derin parçalıdır. Uzun süreli düşük sıcaklığa maruz bırakılmadıkları takdirde çiçeklenmeye daha az eğilim göstermektedirler (Rubatzky ve ark., 1999).

Havuç zengin bir A vitamini ve lif kaynağıdır. Özellikle dünya genelinde yaygın olarak yetiştirilen turuncu havuçlar yüksek oranda provitamin A içermektedir. A vitamininin öncü maddesi olan karotenler antioksidan ve tekli oksijen yakalayıcısı olarak sağlık açısından çok önemli fonksiyonlara sahiptir. Turuncu havuçta bulunan  $\alpha$ - ve  $\beta$ -karotenler A vitamininin öncüleridir ve bu havucu A vitamininin en önemli kaynağı yapmaktadır (Simon ve ark., 2009). Bununla birlikte sarı havuçlar ksantofil, kırmızı havuçlar likopen ve mor havuçlar da antosiyanin bakımından zengindirler. 1970'lerden günümüze kadar yapılan birçok araştırma sonucunda ürünlerde bulunan karotenoidler, antosiyaninler ve diğer flavonoidlerin kardiovasküler zararları azalttığı ve birçok kanser formuna karşı vücudu koruyucu özellikler taşıdığı ve göz hastalıkları riskini azalttığı bildirilmektedir (Ziegler 1989; Stavric, 1994; Simon, 1997; Forkmann ve Martens, 2001; Dietmar ve Bamedi 2001; Sulaeman ve ark. 2001; Sharoni ve ark. 2002, McKeivith 2005;). Turuncu havuçlar insanların günlük ihtiyaç duyduğu A vitaminini karşılayacak önemli bir sebze türüdür. Özellikle yüksek dozlarda kullanılan A vitamininin toksik etkisinin aksine havuç tüketimiyle vücuda alınan  $\beta$ -karoten enzimler yardımıyla kesilerek 2 molekül A vitaminine dönüştürülmekte ve toksik etki göstermemektedir. Bu sebeple günlük A vitamini ihtiyacının havuç tüketilerek sağlanması sağlıklı beslenme için önemlidir.

Suda çözünebilir renkli flavoaloidlerin bir alt sınıfı olan antosiyaninler, çok sayıda yüksek bitkinin farklı organlarına kırmızı, mavi ve mor pigmentini sağlamaktadır (Harborne ve Williams, 2000). Bu bitki pigmentleri, böcek, kuş gibi tozlayıcılar ve tohum dağıtıcılarının cazibesini çekmesi ve antioksidan özellikleri, ultraviyole (UV) ve yüksek yoğunluklu ışığa karşı koruma, kuraklık, yaralama, soğuk/sıcak ve fitopatogen saldırısı gibi önemli biyotik/abiyotik etmenlere karşı önemli rol oynamaktadırlar (Koes ve ark., 1993; Shirley, 1996). Ek olarak, antosiyanin açısından zengin meyve ve bitkilerin tüketimi, oksidatif strese karşı koruma, koroner kalp hastalığı, iltihap, bazı kanser türleri ve diğer yaşla ilişkili hastalıklar da dahil olmak üzere bir dizi sağlıkla ilgili koruyucu etkileri bulunmaktadır (Ross ve Kasum, 2002).

Renkli havuçlar bilinçli tüketicilerin talepleri doğrultusunda hızlı bir şekilde hem taze tüketimde hem sanayide hem de sağlık alanında kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle antosiyanince zengin olan mor havuçlar, antioksidan özelliğinden dolayı vücuttaki serbest radikalleri tutarak kan dolaşımı kökenli kalp riskini azalttığı, kolesterol düşürücü etkisi, antikanserojen özelliği ile tıbbi alanda ve doğal renk maddesi olarak gıda sanayisinde kullanılmaya başlaması ile büyük önem kazanmıştır. Mor havuçlar siyanidin-glikosid tipindeki antosiyaninlerce zengindir ve 100 gram taze kökte 17–18 mg antosiyanin bulunmaktadır (Montilla ve ark., 2011). Birçok çalışmada mor veya “siyah” havuçların hem asile hem de asile edilmemiş beş siyanidin pigmenti ile siyanidin glikozitlerini akümüle ettiği rapor edilmiştir (Kurilich ve ark., 2005; Harborne, 1976). Son yıllarda gıdalarda kullanılan sentetik gıda boyalarının Avustralya, Amerika ve birçok Avrupa ülkesinde yasaklanmış olması doğal gıda renklerine karşı talepleri arttırmıştır. Mor havucun hem yüksek miktarda antosiyanin içermesi hem de içerdiği bu antosiyaninin yüksek sıcaklık, ışık ve pH’da stabilitesini koruması doğal gıda boyası olarak kullanımını giderek popüler hale getirmiştir. Mor havuç ekstraktı çoğunlukla meyve suyu, şekerler, dondurma, hafif içecekler ve diğer fermente içecekler gibi gıdalarda FD&C Red #40 gibi sentetik boyalara alternatif olarak kullanılmaktadır (Montilla ve ark. 2011). Mor havuçlarda yüksek konsantrasyonda antosiyanin pigmenti bulunmaktadır. Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan mor havucun bir kısmı şalgam üretiminde kullanılırken büyük bir çoğunluğu meyve suyu konsantresi üretiminde kullanılmak üzere ekstrakte edilmekte ve bunun hemen hemen tamamı yurt dışına ihraç edilmektedir. Ülkemizde yetiştiricilikte

kullanılan tohumluğun tamamı köy popülasyonlarından oluşmakta ve köy popülasyonlarındaki heterojenlik verim ve kalitede problemlerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Heterojen yapıdaki popülasyonlarda kök büyüklükleri, antosiyanin içerikleri, erken çiçeklenme gibi verim ve kaliteyi etkileyen özelliklerde değişkenlik görülmektedir.

En eski tarımsal faaliyetlerden biri olan bitki ıslahı, insanlık kültürüne paralel olarak çok eski çağlarda (MÖ 10.000'de Neolitik devrimin başlarında) başlamıştır (Sikora ve ark., 2011; Xiong ve ark., 2015). Bitki ıslahının amacı, insanların gereksinimlerini karşılamak için bitkilerin genetik yapısını iyileştirmek ve değiştirmektir. Bitki ıslahı için genetik varyasyonlar gerekmektedir. Uzun yıllardır kullanılan geleneksel ıslah yöntemleri, bitkilerin genetik yapısındaki dar boğaza neden olmuştur. Bitki ıslahçıları genetik dar boğazı problemini aşmak için genetik mühendisliği ve mutasyon ıslahı gibi yeni teknikler kullanmaya başlamıştır. Islahçılar evrim boyunca kaybolan veya baskılanan karakterleri farklı ıslah teknikleri ile ortaya çıkarmayı amaçlamaktadır.

Mutasyonlar (genlerin yeni allellerini yaratan doğal süreç), bitkilerde ve diğer organizmalarda bulunan tüm genetik varyasyonların ana kaynağıdır (Kharkwal, 2012; Olasupo ve ark., 2016). Mutasyon ıslahında gen transferi yapılmaz, ancak kromozomlar kırılır veya DNA yapısında genler değiştirilir. Doğal bir mutasyonun oluşması yıllar alır, bu sebeple ıslah çalışmalarında fiziksel ve kimyasal mutajenler ile bir mutasyon oluşturma gerekmektedir. Mutasyonların indüksiyonu germplazmalarda sınırlı sayıda istenen genetik değişimlerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Fiziksel bir mutajen olan gama ışını, birçok bitki türünde çeşitliliğe sahip olmak ve yeni varyasyonlar yaratmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Mutasyon, genlerin kuşaklar arasında aktarılırken çevresel koşullar altında kalıcı olarak değiştiği süreçtir (Tüylü ve ark., 2009). Doğada meydana gelen değişimlere ilaveten farklı teknikler kullanılarak yapay mutasyonlar oluşturulabilmektedir. Mutasyona yol açan kimyasal veya fiziksel faktörler mutajenler ve kalıcı kalıtsal değişime uğramış canlılar mutantlar olarak adlandırılmaktadır. Mutasyonlar, kromozomların (Genom mutasyonu) miktarında veya yapısındaki değişimler ve / veya gen bazındaki değişiklikler olarak iki şekilde ortaya çıkmaktadır (Tüylü ve ark., 2009).

Van Harten'e göre, bitki mutasyonunun geçmişi M.Ö. 300'e kadar uzanmakta ve mutasyon terimi 1901'de ilk defa Hugo De Vries tarafından kullanılmıştır. Hugo De

Vries, kalıtımın rekombinasyon ve ayrılmadan farklı bir mekanizma tarafından değiştirilebileceğini bildirmiştir (Van Harten, 1998). Tarihi kayıtlara göre (“Lulan” adlı eski bir kitap), ilk spontan mutant bitkiler (tahıl bitkileri) 2317 yıl önce Çin'de bulunmuştur (Van Harten, 1998; Solanki ve ark., 2015). Bundan sonra, birkaç araştırmacı 1590-1968 yılları arasında bitkilerde spontan varyasyon olduğunu bildirmişlerdir (Solanki ve ark., 2015). Bununla birlikte, bitki ıslahı için indüklenen mutasyonların (X-ışınları yoluyla) ilk yayınları 1927'de Muller ve Stadler tarafından yayınlanmıştır (Pathirana, 2011; Kharkwal ve Shu, 2009). Bu çalışmalar sonucunda diğer bitki ıslah yöntemlerine yeni bir yaklaşım olarak mutasyon ıslahı eklenmiştir.

Mutasyon ıslahı terimi ilk olarak 1944'te Freisleben ve Lein tarafından bitkilerde ürün geliştirme ve mutant hatların gelişiminde indüksiyonun uygulanmasını açıklamak için kullanılmıştır (Forstera ve Shu, 2012). Yeni çeşitlerin geliştirilmesi ve beklenen üstün özelliklerin elde edilmesi için klasik ıslah yöntemleri halen etkili bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, mevcut popülasyonların kullanımı genlerde bir daralmaya yol açmaktadır. Bu durum ıslahçıları yeni ıslah tekniklerine yönlendirmektedir. Mutasyon ıslahı, doğada bulunmayan veya evrim boyunca kaybolan bazı istenen özellikleri elde etme şansı sağladığı için ıslahçılar tarafından alternatif bir yöntem olmuştur.

Mutasyon ıslah teknikleri, kimyasal, fiziksel ve biyolojik olarak gruplandırılmıştır. En çok kullanılan mutasyon ıslahı tekniği, DNA çift iplikçisi üzerinde kırılmalara yol açan ve ultraviyole (UV) ışığı, gama ışınları ve nötronlar gibi yüksek enerji radyasyon uygulamalarına sahip olan fiziksel mutajenlerdir. Kimyasalların kullanıldığı teknik, bazı DNA bazlarının yerine geçmesine neden olur (Koorneef, 2002). Nitröz asit (bir belirleyici madde), DNA arasına giren madde (silme, okuma çerçevesi kaymaları veya rasgele baz eklemeleri) ve alkilleyici ajanlar (değiştirilmiş baz oluşumuna neden olan bir etil grubunun eklenmesi) gibi kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Bunlar arasında en çok kullanılan kimyasal, yüksek frekansta gen mutasyonuna ve alçak frekansta kromozom sapmalarına neden olan alkilleyici bir kimyasal olan etil metan sülfonattır (EMS) (Lai ve ark., 2004). Somaklonal varyasyonlara neden olan doku kültürü teknikleri, biyolojik mutajenler olarak kullanılmaktadır. Somaklonal varyasyonlardan

elde edilen mutant frekansı klasik mutajenlerden daha düşük olmasına rağmen, etkin bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Koorneef, 2002).

Mutasyon ıslahı uygulamaları, genetik olarak değiştirilmiş organizma (GMO) uygulamalarına ve klasik ıslah yöntemlerine karşı güvenli ve ekonomik alternatif bir ıslah metodudur (Jain, 2010). *Nicotiana tabacum* mutasyon indüklenmesiyle elde edilen ilk ticari mutant türüdür (klorin tipi) (Solanki ve ark., 2015). Tüm dünyada son 50 yılda toleranslı bitki çeşitlerini geliştirmek için indüklenmiş mutasyonlar kullanılmaktadır (Kharwal ve Shu, 2009). Şu anda, 3246 kayıtlı mutajenik bitki çeşidi FAO / IAEA mutant veri tabanında bulunmaktadır (Mutant Data Base, 2017). Fiziksel mutajenler materyalden mutajenlerin temizlenmesine ihtiyaç duyulmaması, toksik olmaması ve uygulamadan sonra herhangi bir detoksifikasyona ihtiyaç duyulmadığı için kimyasal mutajenlere göre daha az risk taşımaktadır (Mba, 2013; Khan ve ark., 2000).

Bu çalışmada, ülkemiz mor havuç yetiştiriciliğinde Konya/Ereğli'den sonra önemli bir yetiştiricilik potansiyeline sahip Hatay bölgesinde yetiştirilen mor havuç popülasyonuna ait tohumlara farklı gama ışın dozları (0 Gy (kontrol), 50 Gy, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy ve 600 Gy) uygulanarak etkili gama mutasyon dozunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Mutagen uygulamasından sonra mutant bitkilerde, kök boyu, kök omuz genişliği ve yeşil aksam boyu gibi özellikler incelenmiştir. Ayrıca kontrol ve farklı ışın dozları uygulanan mutant bitkiler arasındaki farklılıklar SRAP ve ISSR moleküler markır teknikleri kullanılarak belirlenmeye çalışılmıştır.



## 2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Bitki ıslahında kullanılan en eski yöntemlerden biri mutasyon ıslahıdır. Son yıllarda mutasyon ıslahı bilim insanları ve bitki ıslahçıları tarafından yeniden popüler hale gelmiştir. Bitki ıslahçıları, uzun yıllar kullanılan klasik ıslah metotları ile bitki genetik yapısında meydana gelen dar boğazları gidermek için mutasyon ıslahı ve genetik mühendisliği gibi yeni teknikler kullanmaya başlamıştır. Mutasyon ıslah teknikleri, kimyasal, fiziksel ve biyolojik olarak gruplandırılmaktadır. En çok kullanılan mutagenler, DNA çift iplikçığı üzerinde kırılmalara yol açan, ultraviyole (UV) ışığı, gama ışınları ve nötronlar gibi yüksek enerji radyasyon uygulamalarına sahip olan fiziksel mutajenlerdir (Koorneef, 2002).

Havuç (*Daucus carota* L.) doku süspansiyon kültürü 0.5-40 krad gama ışınına tabi tutulmuştur. Düşük dozlarda (0.5 ve 1 krad) kallus yaş ağırlığı önemli ölçüde ve kuru ağırlığı az miktarda artmıştır. Hücre boyutu tüm dozlarda artmıştır. Hücre sayısı ve koloni oluşturma yeteneği azalmıştır. Radyasyon dozu ile mitotik indeks arasında negatif korelasyon ve doz ile mitotik anormallikler (multipolar ayırımlar, kromozom anormallikleri ve köprüler) arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Profaz sıklığı artmış, anafaz ve telofaz azalmıştır. Doku kültürü koşulları, havuç kökü uçlarına kıyasla anöploidi ve poliploidi oranını artırmıştır. Doku kültürlerinde anöploidi azalmış ve gama ışınlanması ile poliploidi artmıştır. Bir krad gama ışını sürgün oluşumunu uyarırken yüksek dozlar (20–40 arası) sürgün oluşumunu engellemiştir. Havuç hücre kültüründen rejeneren anormal bitki sıklığı (albino ve kökleri veya yaprak deformasyonu olan bitkiler) gama ışını ile artmıştır (Al-Safadi ve Simon, 1990).

Havuç doku kültürleri, çimlenmiş tohum ve kuru tohumlar gama ışınına maruz bırakılmıştır. Düşük dozlarda (0.5 ve 1 krad) ışınlama M<sub>1</sub> generasyonu havuç tohumlarında çimlenmeyi hızlandırmışken, yüksek dozlar düşürmüştür. Tohum ışınlanmasından sonra doz ve bitkilerin hayatta kalma oranları arasında yüksek bir negatif korelasyon gözlenmiştir. Tohumlara düşük doz gama ışını uygulaması bitki ebatı ve kök ağırlığında kontrol bitkilerine göre % 20 ile % 35 artış göstermiştir. Çimlenmiş tohumlarda yüksek doz uygulaması M<sub>1</sub> bitki büyüklüğünü % 50'den fazla azaltmışken, kuru tohumlara ışın uygulamasında daha düşük oranda azaltmıştır. Gama ışın dozunun

artması ile M<sub>1</sub> generasyonunda fenotipik varyasyonlar artmış ve tohum verimi düşmüştür. M<sub>2</sub> generasyonunda kök ağırlığı ve toplam çözülebilir maddeler oldukça farklılık göstermiştir. Toplam karoten içeriğinde çok az değişkenlik gözlemlenmişken, şeker tipinde (indirgenmişe karşı indirgenmemiş şeker) hiç değişiklik belirlenmemiştir. Kök rengi ve kök şeklinde varyasyon gözlenmiştir. Çimlenen tohum ve doku kültürü ışın uygulamasında M<sub>2</sub> varyasyonu kuru tohum uygulamasından daha fazla olmuştur. Putatif nokta mutasyonları gözlenmemiştir. Işınlanmamış havuç doku kültürleri önemli M<sub>2</sub> somaklonal varyasyonu vermemiştir. M<sub>2</sub> bitkilerinin ortalama kök ağırlığı özellikle kuru tohum muamelesinde artan gama ışını dozu ile artmıştır (Al-Safadi ve Simon, 1996).

Araştırma, şeker pancarında (*Beta vulgaris L.*)'nda somatik mutasyonları teşvik etmek için yapılmıştır. E- 145 şeker pancarı hattına ait meristem kültürleri oluşturulmuş ve bu kültürlere 0, 10, 25, 50, 75 ve 100 Gy'lik gama ışını uygulanmıştır. Işınlanmış meristem kültürlerinden rejenere olan bitkilerin ortalama taze ve kuru ağırlıkları tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre GR50 saptanmış ve E-145 hattı için optimum doz olarak 20 Gy belirlenmiştir. E-145 şeker pancarı hattına ait bitkilerin döllenmemiş ovüllerinden in vitro koşullarda elde edilen haploid şeker pancarlarına bu doz (20 Gy) uygulanmıştır. Işınlanmış haploid bitkiler vejetatif olarak çoğaltılmış ve M1V1-M1V3 generasyonları elde edilmiştir. Bu generasyonlarda köklenme yeteneklerine göre mutant bitkiler belirlenmiştir (Alikamanoğlu, 2002).

Nantes Forto (Avrupa menşeli) ve Brasilia (Rio Grande do Sul menşeli) havuç (*Daucus carota L. var. sativus* (Hoffm.) Thell) çeşitlerinin tohumları 0.0 (kontrol), 2.5, 5, 7.5 ve 10 Gy ve her bir doz için 11.5 Gy / h dozunda ışınlanmış ve aynı gün ve ışınlamadan altı gün sonra ekilmiştir. Brasilia çeşidi tüm uygulamalarda kontrolden daha fazla kök ağırlığı göstermiştir. Işınlama ile aynı gün ekimi yapılan tohumlarda 2.5 Gy doz uygulaması kontrolden yaklaşık %11.9 daha fazla kök ağırlığı yapmıştır. Işınlamadan altı gün sonra yapılan ekimlerde 2.5 Gy ve 10 Gy dozları kontrolden sırasıyla % 6 ve % 1.6 daha fazla kök ağırlığı göstermişken, diğer dozlar kontrolden daha az kök ağırlığına sahip olmuştur. Doz uygulamaları herhangi bir ticari kök standardını değiştirmemiştir (Bovi ve ark., 2003).

Üç nohut genotipine [Noor 91 (beyaz), Punjab 91 (kahverengi) ve C 141 (siyah)] ait tohumlar 40, 50 ve 60 Kr gama ışını uygulanmış ve mutajen uygulaması sonrası



gibberellik asit (GA3) muamelesi yapılmıştır. M<sub>2</sub> generasyonunda bitki boyu, primer ve sekonder dal sayısı, bitki başına bakla, baklarda tohum sayısı ve tane verimi genotipe, uygulamaya ve onların intereaksiyonuna bağlı önemli bir derecede etkilenmiştir. Bitki boyu, 50 Kr gama ışını haricinde, her iki muameleyle önemli ölçüde azalmıştır. Birincil dallar, kontrol ile kıyaslandığında gama ışını uygulananlarda önemli ölçüde artmıştır. GA3 uygulaması, birincil dalların sayısını 50 ve 60 Kr gama dozunda önemli ölçüde azaltmıştır. Gama ışını uygulaması kontrollere göre sekonder dalların sayısını önemli ölçüde azaltmıştır. GA3 muamelesi 40 ve 50 Kr dozlarında ışınlanmış popülasyona kıyasla ikincil dalları uyarmıştır. Bitki başına baklalar, kontrolle kıyaslandığında gama ışını uygulamalarında önemli ölçüde artmıştır. GA3 uygulaması 40 ve 60 Kr'de bitki başına baklaları önemli ölçüde azaltırken, bu oran 50 Kr gama ışınmasında artmıştır. Kapsül başına tohum sayısı gama ışın uygulaması ile kontrol karşılaştırıldığında pek değişmezken, GA3 muamelesinde belirgin bir artış göstermiştir. Tane verimi kontrol ile kıyaslandığında gama ışın uygulamasında önemli ölçüde artmıştır (Khan ve ark., 2005).

Üç farklı pirinç çeşidinin (Shua-92, Sarshar ve IR-8) tohumları, farklı gama ışın dozları (150, 200 ve 250 Gy Kobalt-60) ile ışınlanmış ve farklı dozlarda ışın uygulamasının büyüme şekli ve fizyolojik (klorofil içeriği ve iyon konsantrasyonu) tepkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Tüm çeşitlerin M<sub>2</sub> generasyonuna ait tohumları, ebeveynleri ile birlikte toplanmış ve iki haftalık süre boyunca su kültürü koşulları altında farklı seviyelerde tuzluluk (0, 50 ve 75mM NaCl) ortamında yetiştirilmiştir. Tüm ebeveynlerde bitki boyu, yaprak alanı ve taze ağırlığında önemli düşüşler gözlenmiştir. Ebeveynlerden hiçbiri 75 mM NaCl tuzluluk ortamında hayatta kalmayı başaramamıştır. Farklı ışın dozu uygulamaları karşılaştırıldığında 150 Gy'in hem yüksek tuzluluk seviyesinde (75mM NaCl) hayatta kalma bakımından nispeten etkili olduğu, hem de biyokütle üretiminde bir artış sergilediğini ve bu bitkilerin iyonik tepkileri üzerinde belirgin etkileri olduğunu göstermiştir. Bu çalışma sonucunda, ışınlamaya bağlı olarak klorofil ve K'nın artışının ve Na alımının azalmasının tuzlu koşullar altında daha iyi büyümeyi sağladığı sonucu çıkmıştır (Shereen ve ark., 2009).

Afrika kadife çiçeği tohumları 'Pusa Narangi Gainda', mutasyonu teşvik etmek için 0, 100, 200, 300 ve 400 gray gama ışınları ile ışınlanmıştır. Tohumlar ışınlamadan hemen sonra ekilmiş ve 30 günlük fideler yataklara aktarılmıştır. Gama ışın dozunda

artma ile, hayatta kalma yüzdesi, bitki boyu, dal sayısı, yaprak sayısı, yaprak boyu, bitki yayılımı, gövde çapında azalma, yaprak ve çiçek anormalliklerinde artma gözlenmiştir. LD<sub>50</sub> değeri hayatta kalma oranı ile belirlenmiştir. Yaprak anormallikleri kayışimsı yaprak tekstürü, düzensiz gelişmiş yaprak kalınlığı, tüy yaprakçıklarının asimetrik gelişimi, pinna sayısında azalma, klorofil varyasyonu, soluk ve derin yeşil yapraklar, dar yapraklar ve küçük yapraklar şeklinde kendini göstermiştir. Anormal yaprak ve bitkilerin yüzdesi, gama ışınlarının dozu arttıkça artmıştır. Sapın fasitasyonu tüm uygulamalarda görülen yaygın bir anormallik olarak belirlenmiştir. Tomurcuklanmaya başlama günü, erken renklenme ve tam çiçeklenmeye kadar geçen gün gama ışınlarına maruz kalmayla önemli ölçüde gecikmiştir. Çiçek boyutu, uzunluğu ve ağırlığı en düşük dozda en yüksek çıkmıştır. Çiçek anormallikleri ve anormal çiçek başları olan bitkilerin yüzdesi artan gama ışını dozu ile artmıştır. Çiçek anormalliği, çiçeklerde çizgiler ve çiçeklerin asimetrik gelişimini içermiştir. Gama ışınımının uyarıcı etkisi, çalışılan karakterlerin hemen hemen hepsinin, büyüme ve verim özellikleri de dahil olmak üzere, pozitif korelasyon gösterdiği 100 Gy'de gözlemlenmiştir. Afrika kadife çiçeği çeşidi Pusa Narangi Gainda'da 100 gray gama ışınına maruz kalmanın daha yüksek verim ve pazarlanabilir çiçeklenme ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (Singh ve ark., 2009).

Pirinçte gama ışını ile mutasyon teşvikini analiz etmek için yapılan çalışmada, glutöz endosperm (wx), klorofil b eksikliği, endosperm protein eksikliği, gibberellin ile ilişkili cücelik ve kısaltılmış plastokron gibi fenotipleri ifade eden mutasyon türlerini açığa çıkarmak için tarama yapılmıştır. Nükleotid sekans analizi, gama ışınları tarafından indüklenen en sık mutasyonun, özellikle küçük boyutta delesyon olduğunu göstermiştir. 24 mutasyondan 15'i küçük delesyonlar (1-16 bp), dördü büyük delesyonlar (9.4–129.7 kbp), üçü tek-baz yer değiştirme ve ikisi inversiyon şeklinde olmuştur. 100 bp-8 kbp uzunluğundaki delesyonlar bulunamamıştır, bu da gama ışınının 100 bp ila 8 kbp uzunluğunda delesyonu indüklemesinin mümkün olmadığını, ancak 1 ile birkaç 10 bp arasında veya yaklaşık 10 kbp veya daha fazla delesyonu başlatma olasılığının yüksek olduğunu göstermiştir (Morita ve ark., 2009).

Sorghum iyi bir gıda kaynağı, hayvan besini ve etanol ham maddesidir. Endonezya'da alternatif yenilenebilir enerji kaynakları araştırılmakta ve sorghum ümit verici biyoenerji olarak biyoetanol kaynağı kabul edilmektedir. Endonezya'nın batı

kesimindeki çoğu tarım arazisi özellikle Sumatera ve Kalimantan'da kurak ve asit toprağın hakimiyetindedir. Asitli topraklarda tarımsal üretimin temel kısıtlaması Al toksisitesi ve eksikliğidir. Bu nedenle, kuru tarım sisteminde sorgum yetiştiriciliğinin geliştirilmesi için bu tür koşullara karşı toleranslı çeşitler gerekmektedir. Asit toprak toleransı için sorgum ıslahı, PATIM-BATAN'da gama ışınması ile indüklenen mutasyonlar kullanılarak yürütülmüştür. Islah çalışmasının amacı, asidik toprak koşullarına toleranslı sorghum genotiplerini araştırmak ve biyoetanol üretimi açısından değerlendirmek olarak hedeflenmiştir. Mutantlar da dahil olmak üzere 66 ıslah materyali, Lampung'da pH'sı 4.2 ve % 39 Al içeren toprakta toleransı açısından taranmıştır. On sorghum genotipi asitli toprak koşullarında yüksek verimli olarak tanımlanmıştır. Mutant hatlar GH-ZB-41-07, YT30-39-07, B-76 ve B-92, kontrol bitkilerinden (Durra, Mandau ve Numbu) daha fazla tane verimine ( $> 4.5$  t / ha) sahip çıkmıştır. Sorgum mutantları ZH30-29-07, ZH30-30-07 ve ZH30-35-07 tane temelli etanol verimi 2,000 l / ha'ı aşarak ümit verici bulunmuştur. Bu arada, tatlı sorgum mutantları ZH30-35-07, ZH30-30-07 ve ZH30-29-07, sırasıyla % 11.59, % 11.95 ve % 10.50 oranında briks içeriğine sahip çıkmıştır. Bu mutant hatların asitli topraklarda oldukça toleranslı olmaları sebebiyle sorgum ıslahında gelecekte ümit verici olduğu düşünülmektedir (Human ve ark., 2010).

Tuza dayanıklı patates mutantları (*Solanum tuberosum* L. 'Marfona') gama ışını uygulamasıyla elde edilmiştir. Marfona patates bitkisinin boğum eksplantlarına farklı dozlarda gama ışını uygulanmış ve M1V2 ve M1V3 klonal generasyonlar geliştirilmiştir. Tuza toleranslı mutantların seçimi, 50, 100 ve 125 mM NaCl içeren in vitro seleksiyon ortamlarında yapılmıştır. Kontrol ve mutant bitkiler arasındaki moleküler düzeydeki farklılıklar, RAPD-PCR yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve seçilen primerlere göre polimorfizm oranı % 89.66 olarak hesaplanmıştır. Kontroller ve mutantlar arasındaki genetik mesafeler de hesaplanmış ve dendrogramlar oluşturulmuştur. Mutantların ortalaması genetik bakımından kontrol bitkilerinin ortalamasından % 27.5 farklı bulunmuştur. Kontrol ve mutantlar arasında karşılaşılan en büyük fark % 47 olarak belirlenmiş ve bu 20 veya 30 Gy gama ışını uygulaması ile elde edilen mutant bitkiler ve 100 mM NaCl içeren seleksiyon ortamında rejenere edilen bitkilerde tespit edilmiştir (Yaycılı ve Alikamanoğlu, 2012).

Bitki ıslahının ana amacı genetik çeşitliliği arttırmaktır. Mutasyon indüksiyonu, bitki ıslahında seleksiyon, rekombinasyon veya bu yaklaşımların bir kombinasyonu ile ilişkili genetik çeşitliliği artırma yöntemidir. Bu çalışma, farklı dozlarda Gama ışınlarının (150, 200, 250, 300 ve 350 Gy ve sıfır doz kontrolü) susamda morfolojik özellikler üzerindeki etkilerini karşılaştırmayı amaçlamıştır. Tek dallı Naz çeşidinin M1'e ait küme analizleri mutasyonları 8 genotipik grup içinde sınıflamış ve tek dallı Naz çeşidi mutasyon sonucunda daha fazla farklılık gösterdiği rapor edilmiştir. Ölçülen özelliklerde maksimum dağılım, bitki verimi, kapsül sayısı ve kapsül uzunluğu sırasıyla 55.29, 47.64 ve 39.61 varyasyon katsayıları olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, ıslah programlarında klasik metotlara eklenen yeni gen kaynağının değerlendirilebileceği ve gelecek generasyonlarda kullanılacağını bildirmişlerdir (Ghanei ve ark., 2013).

Gama ışını, etil metan sülfonat (EMS) ve bunların kombine uygulamaları ile mutasyon indüksiyonu, domatesin birbirinden çok farklı üç genotipinde (EC620176, EC620177 ve Patharkutchi) çalışılmıştır. Mutajen dozları arttıkça M1 generasyonunda çimlenme yüzdesinde, fide boyu ve polen fertilitesinde sürekli bir azalma meydana gelmiştir. M<sub>1</sub> generasyonunda gama ışını ve EMS kombinasyonu daha fazla hasara neden olmuşken bunu EMS ve gama uygulamalarının yalnız uygulamaları takip etmiştir. EC620176, EC620177 ve Patharkutchi için LD50 dozu, Gama ışını için sırasıyla 67.3 Gy, 290.9 Gy ve 303.8 Gy, EMS uygulaması için sırasıyla % 0.10, % 0.17 ve % 0.38 olarak belirlenmiştir. En yüksek mutasyon sıklığı, gama ışını ve ardından kombine mutajenler ve EMS uygulamasında belirlenmiştir. Genotip ve mutagen, her ikisinde mutant oluşumu üzerine etkili olmuştur. Düşük doz / konsantrasyonların mutajenik etkinliği, istenen mutantların üretilmesinde daha yüksek dozlarla karşılaştırıldığında daha fazla olmuştur. En yüksek mutajenik etkinliği Gama ışını uygulamasından alınmış bunu tek EMS ve kombine mutajenler izlemiştir. Domateste en etkili geniş makro-mutasyon teşviki 50-150 Gy gama ışınından bunu % 0,05-0,10 EMS ve bunların kombinasyonu takip etmiştir. M<sub>2</sub> generasyonundan alınan Patharkutchi genotipinde çiçekten dışarı çıkan stigma, koyu yeşil meyve, priform meyveye sahip bodur beş mutant, EC620177'den gelen multipar talkım ve EC620176'dan klorofil eksikliği mutantları domates ıslah programlarında kullanımları için umut vaat etmektedir (Sikder ve ark., 2013).

Naval ve ark. (2013), hurma ıslahında genetik varyabiliteyi artırmak için gama-ışını ile mutasyon üzerine çalışmışlardır. Rojo Brillante hurma çeşidine ait sürgün tomurcuklarına Cobalt-60 kaynağından 15 ile 20 Gy (A uygulaması) ve doğrusal akselatör ile 20 ile 25 Gy (B uygulaması) farklı gama ışın dozları uygulamışlardır. Genetik varyabilite 420 bitkide 4 AFLP primer kombinasyonu kullanılarak analiz edilmiştir. Hayatta kalma ve mutasyon indüksiyonu kombinasyonunda belirlenen en uygun gama ışın dozu 20 Gy belirlenmiş ve A uygulaması % 29.8 polimorfik lokus ve B uygulaması % 45.8 polimorfik lokus ile sonuçlanmıştır.

Bitkisel ürünlerde mutasyon ıslahı, soya fasulyesi gibi dar genetik tabana sahip ürünlerin geliştirilmesinde etkili bir yaklaşımdır. Bu çalışmanın temel amacı, farklı dozlarda gama ışınının farklı morfo-agronomik özellikler üzerindeki etkisini belirlemektir. Çeşitli türlerde faydalı mutantlar elde etmek için birçok fiziki mutajen kullanılmıştır. Mutasyon ıslahının rolü, çeşitli bitki türünde istenen özellikler için genetik çeşitliliği arttırmaktadır. Soya fasulyesine (*Glycine max* (L.) Mrr.) var. Co1. mutasyon indüksiyonu için fiziksel mutajenlerden Gama ışınının farklı dozları (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 KR) uygulanmıştır. Agronomik ve morfolojik özelliklerden; çimlenme yüzdesi, ilk çiçeklenme günü, kök uzunluğu, sürgün uzunluğu, fide hayatta kalma, bitki başına meyve sayısı, meyve boyu, bitki başına tane verimi, bitki yaş ağırlığı, bitki kuru ağırlığı ve 100 tohum ağırlığı gibi ölçümler M1, M2, M3 ve M4 nesillerinde incelenmiştir. Gama ışını uygulama dozu arttıkça, M1 popülasyonlarında değerlendirilen agronomik ve morfolojik özelliklerin çoğunda önemli ölçüde azalma ortaya çıkmıştır. M2, M3 ve M4 popülasyonlarında soya fasulyesinde morfoloji ve verim bileşenlerinde önemli artışlar görülmüştür. Bitki boyu, bitki başına küme sayısı, bitki başına tane sayısı ve bitki başına tane verimi gibi verim parametreleri, 50 KR gama ışınında orta ve yüksek ortalama değer olarak kaydedilmiştir (Gobinath ve Pavadai, 2015).

*Typhonium flagelliforme* Lodd., antikanser olarak kullanımda yüksek bir potansiyele sahip olan Endonezya'da doğal olarak yetişen bir bitkidir, ancak Endonezya'daki genetik çeşitliliği düşüktür. Gama ışını, genetik çeşitliliği arttırmak için kullanılmaktadır. Bu araştırmanın amacı gama ışınları tarafından ışınlanmış birinci nesil (MV1) *Typhonium flagelliforme* mutantlarının in vitro kültürünü elde etmek ve RAPD moleküler belirteçler ile genetik değişiklikleri tespit etmektir. Işınlamada mutasyon teşvik

etmek ve LD50 değerini elde etmek için Co-60 kullanılmıştır. Kallus rejenerasyonu ile MV1 bitkileri elde edilmiş ve genetik değişimlerin belirlenmesi için RAPD moleküler markırı kullanılmıştır. Dokuz parça kallustan başarılı bir şekilde bitkicikler rejenera edilmiş ve 6 Gy'de 59 bitkicik üretilmiştir. Kallustan elde edilmiş 11 mutant bitkideki genetik değişiklikler 10 RAPD primeri kullanılarak belirlenmeye çalışılmış ve 69 band elde edilmiştir. OPE-20 ve OPC-5 primerleri sırasıyla 11 ve 8 polimorfik bant ile en yüksek genetik değişikliği göstermiştir. Dokuz polimorfik primer, 250 bp ile 2 500 bp arasında genetik değişiklik göstermiştir. Bu araştırma, kallustan elde edilmiş 11 mutant bitkide mutasyon teşviki, rejenerasyon ve genetik değişimi belirlemede başarılı olmuştur (Sianipar ve ark., 2015).

İyonlaştırıcı radyasyon kullanarak mutajenez ile genetik ve ıslah kaynaklarında yeni özelliklerin geliştirilmesi yaygın olarak kullanılmaktadır. X ve gama ışınları kullanılarak mutasyon ıslahı biberde denenmesine rağmen, diğer iyonlaştırıcı radyasyonun etkinliği ve farklı radyasyon biçimlerinin mutajenik etkilerinin karşılaştırmalı analizi hakkında bilgi sınırlıdır. Bu nedenle, Kore yerel acı biber çeşidi olan Yuwol-cho'da gama ışınlarının ve bir karbon ışınının (bir ağır iyon ışını) biyolojik etkinliği ve mutajenez yeterliliği araştırılmıştır. Farklı radyasyon dozlarında hayatta kalma ve sürgün büyüme oranları LD50'nin yaklaşık 140 ve 35 Gy olduğunu ve RD50'nin gama ışınları ve karbon ışınları için sırasıyla 80 ve 32 Gy olduğunu göstermiştir. Mutasyon ıslahı için optimal dozların sırasıyla gama ışınları ve karbon ışınları için 80-100 ve 15-20 Gy olarak hesaplanmıştır. Ayrıca gama ışını (100 Gy) ile 1.836 hat ve karbon ışını (20 Gy) ile 154 hat içeren M<sub>2</sub> popülasyonu geliştirilmiştir. Cüce veya erkek steril bireylerin oranı, karbon ışınının mutajenik etkisinin gama ışınlarından daha yüksek olduğunu göstermiştir. Her bir popülasyondaki bireyler çeşitli gelişimsel mutasyonlarla fenotipik analiz yoluyla tanımlanmış ve mutasyonlar dört gruba (bitki yapısı ve gelişiminde, yaprakta, çiçekte veya meyvelerde mutasyonlar) kategorize edilmiştir. Bu çalışma, iyonlaştırıcı radyasyon kullanarak mutasyon ıslahı için temel bilgiler sunmakta ve biberde farklı karakterler ile ilişkili genlerin tanımlanması için yararlı materyaller sağlamaktadır (Jo ve ark., 2016).

Kipas Putih soya fasulyesi tohumları 100 Gy, 200 Gy ve 300 Gy ışın dozunda gama ışını ile muamele edilerek M<sub>2</sub> generasyonunda mutant tip ve sayısı çalışılmıştır.

Sonuçlar, M2 generasyonunda klorofil mutantları (viridis, xantha, waxy ve variegata), yaprakçık mutantları (unifoliate, bifoliate, quadrifoliate, pentafoliate, dar-rugose yaprakçık, buruşmuş yaprak), steril mutantlar (gelişmemiş rasim çiçeği, yarı sterilite ve tam sterilite) gibi çeşitli tür ve sayıda soya fasülyesi mutantının bulunduğu göstermiştir. M<sub>2</sub> generasyonundaki bazı mutant tipler gama ışını uygulamalarının bitkilerde genetik çeşitliliği geliştirmek için etkin bir şekilde kullanılabileceğini açıkça göstermiştir (Nilahayati ve ark., 2016).

Patates (*Solanum tuberosum* L.) dünya çapında önemli bir sebze ve temel gıda ürünü olup, çoğunlukla vejetatif olarak çoğaltılır. Patates ıslahı sorunlu olduğu için mutasyon ıslahı ile çeşit geliştirme cazip gelmektedir. Bu amaç için in vitro kültür sistemleri ve özellikle mikro yumruların üretimi idealdir. Radyo-duyarlılık testi (büyüme azalması, GR ve ölümcül doz, LD) mutasyonun teşvik etmesi için ışınlama dozunun (Gy) belirlenmesini sağlamaktadır. In vitro teknikleri içeren üç şema, patateste mutasyon indüksiyonu için test edilmiştir; 1) yapraksız kesimlerin ışınlanması ve daha sonra kimeraların seçilmesi ve M1V2 (veya daha fazla nesil) bitkiciklerden mikro yumrular veya bitkicik üretmek, 2) yapraklı kesimlerin ışınlanması ve mutant mikro-yumruların doğrudan indüksiyonu ve 3) mikro yumruların indüksiyonu ve ışınlanması. Gama ışınının patates genotipleri arasında değişkenlik gösterdiği kaydedilmiştir. Farklı dokularda mutasyon indüksiyonu için uygun ışın dozları optimize edilmiştir; kesim büyümesi (GR<sub>50</sub>, 9-6 ila 20.6 Gy), kesilmiş yumru yeterliliği (LD<sub>50</sub>, 7.3 ila 13 Gy) ve mikro-yumru filizlenme yeterliliği (LD<sub>50</sub>, 20.6 ile 54.8 Gy). Mikro yumruların in vitro kesimlere göre mutasyon indüksiyonuna daha dirençli olduğu bulunmuştur. Bu çalışma farklı bitki dokusu / propagül ve patates genotiplerinin gama ışınlamasına yatkınlığını göstermiştir (Bado ve ark., 2016).

Mutajenler çeşit geliştirmede yeni genetik farklılığın oluşturulması için kullanılmaktadır. Tarımsal ürünlerde etkili mutasyonun teşviki için optimum mutajenik uygulama gerekmektedir. Bu nedenle, börülce genotiplerinde uygun gama ışını dozu araştırılmıştır. Sekiz börülce genotipine ait tohumlara 100, 200, 300, 400 ve 500 Gy'lik <sup>60</sup>Co gama ışını uygulanmıştır. Işın uygulamasının, tohum çimlenmesi, hayatta kalan fide ve M1 generasyonunun büyüme yapısının üzerindeki etkilerini değerlendirmek için tohumlar saksılara ekilmiştir. Veriler tanımlayıcı istatistikler kullanılarak analiz

edilmiştir. Ife Brown (IB) genotipi ve türevlerinde düşük çimlenme oranı (%10-%45) en yüksek dozlarda (500-400Gy) kaydedilmişken, IT90K-284-2 genotipinde tüm uygulamalarda yüksek çimlenme oranı (%74-%94) gözlenmiştir. Hayatta kalan fide yüzdesi gama dozları ile ters ilişkili olarak belirlenmiştir. Börülce genotiplerinde LD<sub>50</sub> değeri tohum çimlenmesi için 329-1054 Gy ve hayatta kalan fide için 149-620 Gy gibi geniş bir aralık belirlenmiştir. Düşük LD<sub>50</sub> değeri tohum çimlenme için 329-516 Gy ve hayatta kalan fide için 149-357 Gy pürüzlü kabuklu tohumlarda elde edilmişken, en yüksek LD<sub>50</sub> değeri tohum çimlenmesinde 521-1054 Gy ve hayatta kalan fide için 449-620 Gy ışın dozu pürüzsüz kabuklu tohumlarında kaydedilmiştir. Tohum çimlenmesi ve hayatta kalan fide için uygun LD<sub>50</sub> değeri kabuk kalınlığı (0.899-0.937) ile yüksek derecede ilişkili bulunmuştur. Börülce tohumlarına düşük dozda (100Gy) gama ışını uygulaması M<sub>1</sub> fidelerinde birincil ve ikincil yaprak alanı, fide boyu ve 6 haftalık bitki boyu gibi özelliklerde artış sağlamıştır. 200 Gy ve üzeri dozlar, bitki gücü ve tohum oluşumunda azalmalara neden olmuştur. Düşük gama ışın uygulaması (100 Gy) fide gücü ve vejetatif gelişimini ve börülce M<sub>1</sub> generasyonun verimini iyileştirebileceği rapor edilmiştir (Olasupo ve ark., 2016).

Çalışmanın amacı, gama ışınının *Helichrysum bracteatum* L. bitkilerinin iki generasyonunda (M1 ve M2) büyüme ve çiçeklenme özelliklerine etkisini araştırmaktır. Ayrıca, elde edilen mutantlar arasında DNA polimorfizmi için RAPD ve ISSR teknikleri kullanılmıştır. *H. bracteatum* L. tohumlarına sekiz doz gama ışını (5-40 Gy) uygulanmıştır. Tüm gama ışını dozlarının, bitki boyu, bitki başına dal sayısı gibi vejetatif gelişme üzerine kontrol ile kıyaslandığında önemli etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. En yüksek ortalama bitki boyu ve dal sayısı düşük dozda (5 Gy) elde edilirken, yüksek dozlarda azalma gözlenmiştir. En yüksek doz (40 Gy) bazı morfolojik varyasyonlara neden olmuştur. 5 ve 10 Gy dozlar, çiçeklenme tarihini ve çiçek sayısını sırasıyla M1 ve M2 generasyonlarında maksimum artırmıştır. Mutantlar 15, 20 ve 25 Gy doz uygulanan bitkilerden elde edilmiştir. Gama ışını incelenen mutantlar arasında DNA seviyesinde değişikliklere neden olmuştur. UPGMA kümeleme analizi, gama ışın uygulaması ve kontrol bireyleri arasındaki genetik ilişkiyi iki ana kümeye ayırmıştır. Bu çalışma, RAPD ve ISSR markörlerinin gama ışını uygulanmış mutantlar ve uygulanmamış bitkiler



arasındaki DNA polimorfizminin saptanmasında güvenilir ve tekrarlanabilir olduğunu göstermiştir (El-Khateeb ve ark., 2017).

*Sophora davidii* (Franch.) Kom. ex Pavol önemli bir tıbbi bitki ve ekolojik değeri olan bir yem bitkisidir. Farklı gama ışın dozlarının (20–140 Kr) *S. davidii*'de tohum çimlenmesi ve fide morfolojisi üzerindeki etkileri incelenmiştir ve mutantlar arasında DNA polimorfizmini tanımlamak için ISSR markörleri kullanılmıştır. Tohum çimlenmesi, gövde çapı ve bitki başına dal sayısı bakımından önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Kök çapı ve bitki başına dal sayısı gibi agronomik özellikler 80 Kr dozunda ve tohum çimlenmesi 20 Kr dozunda yüksek kaydedilmiştir. ISSR analizinde toplam 183 skorlanabilir bant elde edilmiş, bunların 94'ü (% 51.37) polimorfik özellik göstermiştir. Polimorfizm yüzdesi %14.29-%93.33 aralığında ortalama % 45.69 hesaplanmıştır. Mutantlar arasındaki genetik çeşitlilik düzeyini gösteren Jaccard farklılık katsayıları 0.6885'ten 1.000'e kadar değişmiştir. Oluşturulan dendrogram, bireyleri beş kümeye ayırmıştır. Sonuç olarak, gama ışını ile tohumların ışınlanmasının yeterli sayıda indüklenmiş mutasyon oluşturduğu ve ISSR analizinin mutantların tanımlanması için kullanışlı bir moleküler belirteç olduğu sonucuna varılmıştır (Wang ve ark., 2017).

Farklı büyüme ile ilişkili noktalarda gama ışınlarının indüklediği değişiklikler bir model bitki olarak pamuk kullanılarak analiz edilmiştir. Bu amaçla, dört pamuk genotipi (Gomal-93, Bt-131, Bt-121 ve Bt-CIM-602) kuru tohumları 10, 15, 20 ve 25 Kilo Radyum (KR) dozlarında Co-60 kaynaklı gama ışınlarına maruz bırakılmıştır. Işınlanmış tohum numuneleri muamele edilmiş tohumlar olarak kabul edilirken, her genotipin ışınlanmamış tohumları kontrol olarak kullanılmıştır. Arazi denemeleri, serada şansa bağlı blok deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Bitki boyu, bitki dal sayısı, bitkide koza sayısı, lif inceliği ve tohum verimi gibi bazı agronomik özellikler üzerinde ışınlama etkileri gözlenmiştir. Varyans analizi (ANOVA) farklı ışın uygulamasının, genotipler ve uygulama x genotip interaksiyonu açısından bitki boyu, bitkide dal sayısı, bitkide koza sayısı ve bitkide tohum verimi bakımından önemli farklılıklar ortaya çıkarmıştır. Yüksek gama ışınları (20 ve 25 KR) parametrelerin çoğunu olumsuz yönde etkilemiştir. Gama ışını uygulamaları etkisi altındaki tüm genotiplerde bitki boyunda önemli bir azalma gözlenmiştir. Artan ışın oranı, bitkide dal sayısında olumsuz etki yaratmıştır. Bununla birlikte, Bt-121'de dallarına, uygulama görülerinde

kontrole göre artmıştır. Benzer şekilde, tohumlarına 20 KR dozu uygulanmış Gomal-93, Bt-131 ve Bt -121 fidelerinde koza sayısının arttığı gözlenmiştir. Işın uygulanmış tohumlardan geliştirilen bitkilerde büyüme parametrelerinde gelişim olabileceği rapor edilmiştir (Khan ve ark., 2017).

*Zinnia elegans*, çeşitli çiçek renkleri, çiçek tipleri ve bitki boyu ile otsu bir yıllık bitkidir. *Zinnia elegans* saksı bitkisi ve ayrıca peyzaj bitkisi olarak popülerdir. *Zinnia*'nın ticari değeri, çiçek rengi ve şekli gibi yeni özelliklerle artırılabilir. Bitki özelliklerinin üstün özelliklerle geliştirilmesi tekniklerinden biri de gama ışını kullanarak mutasyonları tetiklemektir. Bu sebeple, üç farklı gama ışın dozu (75 Gy, 100 Gy ve 125 Gy) yeni ve değişik *Zinnia elegans* var. Dreamland çeşitleri elde etmek için kullanılmıştır. Uygulanan gama ışınlarının tohum çimlenmesi, fidelerin büyümesi ve hayatta kalması, bitkilerin yüksekliği üzerindeki etkileri incelenmiştir. Tüm üç gama ışını dozunun *Zinnia elegans* tohumlarının çimlenmesini ve hayatta kalmasını azalttığı belirlenmiştir. Gama ışınlarının yüksek dozlarının, tohumların çimlenmesi ve hayatta kalması ve fidelerin boyunda negatif etki gösterdiği rapor edilmiştir. Üçüncü nesil mutantlarda bitki boyu, çiçek sayısı ve çiçek çapı gibi fenotipik varyasyonlar kontrole göre oldukça anlamlı bulunmuştur. Değişik form ve renk ile sekiz çiçek varyasyonu elde edilebilmiştir (Pallavi ve ark., 2017).

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Bitki materyali**

Tez çalışmasında bitkisel materyal olarak Hatay ilinde geleneksel yetiştiriciliği yapılan mor havuç popülasyonuna ait tohumlar kullanılmıştır. Araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Laboratuvarları ve ALATA Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü uygulama arazilerinde yürütülmüştür.

#### **3.2. Yöntem**

##### **3.2.1. Tohumlara ışın uygulaması**

Tohumlara gama radyasyonu ile ışın uygulaması Türkiye Atom Enerjisi Kurumu'nda (TAEK) gerçekleştirilmiştir. Uygun ışın dozunun belirlenmesinde her bir ışın dozu için yaklaşık 1000 adet tohum petri kaplarına yerleştirilmiş ve 0 Gy (kontrol), 50 Gy, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy ve 600 Gy dozlarında gama (<sup>60</sup>Co) radyasyonu uygulanmıştır.

##### **3.2.2. Tohumların çimlendirilmesi**

Kontrol ve farklı ışın dozlarına tabi tutulmuş havuç tohumlarında çimlendirme testleri yapılmıştır. Çimlendirme testleri, her uygulama 10 tekrarlı (10 petri) ve her tekrarda 20 adet tohum olacak şekilde düzenlenmiştir. Tohumlar steril petri kaplarına yerleştirilmiş steril kurutma kağıtları arasına ekilerek nemlendirilmiş ve 23°C'ye ayarlanmış inkübatöre konulmuştur (Şekil 3.1). Tüm petrilerin nemleri 1 ay boyunca düzenli olarak kontrol edilmiş ve günlük tohum çimlenme sayıları kaydedilmiştir.



Şekil 3.1. Gama ışını uygulanmış tohumların inkübatörde çimlendirilme görüntüsü.

Kontrol ve farklı gama ışınları uygulanmış havuç tohumlarında çıkış oranlarının belirlenmesi amacıyla saksı denemesi kurulmuştur. Deneme, her uygulama 6 tekrarlı ve her tekrarda 10 tohum olacak şekilde 1/2oranında torf- perlit karışımı içeren 11.5 litrelik saksılara ekimler yapılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2). Tohum ekiminden sonra sulama ve bakım işlemleri düzenli olarak yapılmış ve toprak yüzeyine çıkışlar günlük olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3.2. Saksı denemesinden görüntüler.

### 3.2.3. Morfolojik karakterizasyon

Farklı ışın dozlarının havuç bitkilerinde meydana getirdiği morfolojik farklılıkları belirlemek amacıyla kontrol ve 7 farklı gama ışın dozu uygulanmış tohumlar 15 Ekim 2018 tarihinde ALATA Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü araştırma arazisine ekilmiştir. Çalışma her uygulama 3 tekrarlı ve her tekrarda 20 tohum olacak şekilde Tesadüf Parselleri Deneme Planına göre kurulmuştur. Yetiştiricilik süresince gerekli bakım, gübreleme ve sulama işlemleri yapılmıştır. Havuçlar Nisan ayında hasat edilmiş, kontrol ve M1 bitkilerinde kök boyu (cm), kök omuz genişliği (cm) ve yeşil aksam uzunluğu cetvel ve kumpas yardımıyla ölçülmüştür (Şekil 3.3).



A: kontrol; B: 50; C: 100; D:200; E: 300; F: 400; G: 500; H: 600

Şekil 3. 3. Bitkilerde hasat sonrası farklı dozlarda gözlenen değişimler.



### 3.2.4. Moleküler karakterizasyon

#### 3.2.4.1. Genomik DNA izolasyonu

Kontrol ve farklı ışın dozları uygulanmış mutant bitkiler arasındaki moleküler farklılıkların belirlenmesi amacıyla her bir gruptan 12 bitkiye ait genç yapraklar alınmış ve bir gün süreyle -85'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Derin dondurucuda 24 saat muhafaza edilen örnekler 2 gün süre ile liyoflizatörde (CHRIST-ALPHA 2-4 LD plus) kurutulmuş ve Tissue Lyser'da (QIAGEN-Tissue LyserII) öğütülmüştür.

#### 3.2.4.2. DNA izolasyon protokolü

DNA izolasyonu Doyle ve Doyle'nin (1990) bildirmiş olduğu yöntem ve Boiteux ve ark. (1999)'nın yaptığı minor modifikasyonuna göre yapılmış olup aşağıdaki aşamalar uygulanmıştır.

- Yaklaşık 200 mg öğütülmüş doku 2 ml'lik PCR tüpüne yerleştirilmiştir.
- Su banyosu 65°C'ye ayarlanmıştır.
- 1 ml ekstraksiyon tamponu [50 mM Tris-HCl, pH8.0, 700 mM NaCl, 10 mM EDTA, %1 (w/v) CTAB (cetyltriethylammoniumbromide), %1 (v/v) beta-mercaptoethanol] ve 1 µl RNase eklenerek vortex ile iyice karıştırılmıştır.
- Dokular 30 dakika su banyosunda bekletilmiş ve ardından bir sonraki aşama için soğumaya bırakılmıştır.
- Soğumuş doku üzerine 1000 µl chloroform: isoamyl (24:1 hacim) çözeltisi ilave edilmiş ve ters-düz edilerek iyice karışması sağlanmıştır.
- 14000 rpm'de 5 dk. santrifüj yapılmıştır.
- Üst faz pipetle çekilerek temiz bir 2 ml'lik tüpe aktarılmıştır.
- Üzerine 100 µl CTAB (%10 w/v) eklenmiş ve iyice karıştırmak için ters-düz edilmiştir.

- İyice karıştırılmış tüplere 1000 µl chloroform: isoamyl (24: 1 hacim) eklenmiş ve ters-düz edilerek iyice karışması sağlanmıştır.
- 14000 rpm'de 5 dk. santrifüj yapılmıştır.
- Üst faz pipetle çekilerek temiz bir 2 ml'lik tüpe aktarılmıştır.
- Çözelti üzerine 1000 µl PB (presipitasyon tamponu) tamponu [50 mM Tris-HCl, pH8.0, 10 mM EDTA, %1 (w/v) CTAB (cetyltriethylammoniumbromide)] eklenerek hafifçe ters-düz edilmiştir.
- Çözelti 30 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
- 1400 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır.
- Pelet üzerine 400 µl 1 M NaCl ilave edilmiştir.
- 60 °C su banyosunda 20 dk bekletilmiştir.
- Su banyosundan çıkarılan pelet üzerine 1000 µl %95 soğuk etil alkol (ETOH) eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır.
- Çözelti -20°C'de gece boyunca bekletilmiştir.
- 1400 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır.
- Çökelti üzerine 500 µl %70'lik ETOH eklenmiştir.
- 1400 rpm'de 5 dk santrifüj edilerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır.
- Çökelti 37°C'de 30 dk tüplerin kapakları açık bir şekilde inkübe edilerek kuruması sağlanmıştır.
- Kurumuş DNA pelet üzerine 100 µl steril distile H<sub>2</sub>O ilave edilmiştir.

### 3.2.4.3. DNA miktarı ve saflığı

Polimeraz zincir reaksiyonlarında kullanılacak DNA'nın miktarı ve saflığı önem arz etmektedir. İzolasyon sonrası DNA konsantrasyonu NanoDrop (Thermo Scientific-

Nanodrop2000) ile ölçülmüş (Çizelge 3.1) ve polimeraz zincir reaksiyonları için 25 ng/µl'ye seyreltilmiştir.

Çizelge 3.1. Mor havuç genotiplerinden izole edilen genomik DNA örneklerinin konsantrasyonları ve kalitesi

| <u>Etiket Numarası</u> | <u>DNA Miktarı (ng/µl)</u> | <u>Kalitesi(260/280)</u> | <u>Etiket Numarası</u> | <u>DNA Miktarı (ng/µl)</u> | <u>Kalitesi(260/280)</u> |
|------------------------|----------------------------|--------------------------|------------------------|----------------------------|--------------------------|
| 01-1                   | 337                        | 2.05                     | 200-6-2                | 1276.4                     | 2.08                     |
| 01-2                   | 426.3                      | 1.89                     | 300-1-1                | 4154.8                     | 1.97                     |
| 02-1                   | 1718.1                     | 1.88                     | 300-1-2                | 1553.7                     | 1.93                     |
| 02-2                   | 169.9                      | 1.9                      | 300-2-1                | 1619                       | 2.05                     |
| 03-1                   | 660.9                      | 1.87                     | 300-2-2                | 1475.6                     | 2.07                     |
| 03-2                   | 217.6                      | 2.01                     | 300-3-1                | 2709                       | 2.05                     |
| 04-1                   | 143.1                      | 1.96                     | 300-3-2                | 975.2                      | 1.9                      |
| 04-2                   | 227.4                      | 2.08                     | 300-4-1                | 1214.1                     | 1.92                     |
| 05-1                   | 244.4                      | 1.92                     | 300-4-2                | 187.7                      | 2.05                     |
| 05-2                   | 1047.7                     | 1.9                      | 300-5-1                | 2746.2                     | 2.03                     |
| 06-1                   | 447.3                      | 2.05                     | 300-5-2                | 793                        | 2.04                     |
| 06-2                   | 919.7                      | 2                        | 300-6-1                | 1930.6                     | 2.05                     |
| 50-1-1                 | 2102.5                     | 1.91                     | 300-6-2                | 1332.2                     | 1.95                     |
| 50-1-2                 | 992.9                      | 1.97                     | 400-1-1                | 397.8                      | 2.04                     |
| 50-2-1                 | 580.7                      | 1.89                     | 400-1-2                | 2426.5                     | 2.03                     |
| 50-2-2                 | 295.2                      | 1.99                     | 400-2-1                | 1216.6                     | 1.99                     |
| 50-3-1                 | 907.2                      | 1.92                     | 400-2-2                | 1223.5                     | 1.91                     |
| 50-3-2                 | 1044.3                     | 1.95                     | 400-3-1                | 1068.8                     | 2.1                      |
| 50-4-1                 | 811                        | 1.87                     | 400-3-2                | 1745.8                     | 1.96                     |
| 50-4-2                 | 489.2                      | 1.96                     | 400-4-1                | 6257.4                     | 2                        |
| 50-5-1                 | 343.2                      | 1.92                     | 400-4-2                | 2696.7                     | 2                        |
| 50-5-2                 | 1105.8                     | 1.98                     | 400-5-1                | 992                        | 1.99                     |
| 50-6-1                 | 756.9                      | 2.07                     | 400-5-2                | 2692.6                     | 1.95                     |
| 50-6-2                 | 1250.5                     | 1.95                     | 400-6-1                | 2393.2                     | 1.98                     |
| 100-1-1                | 1495.3                     | 2.04                     | 400-6-2                | 3163.6                     | 2.11                     |
| 100-1-2                | 909.3                      | 2.05                     | 500-1-1                | 521.3                      | 2.03                     |
| 100-2-1                | 2220.1                     | 2.01                     | 500-1-2                | 242.7                      | 1.99                     |
| 100-2-2                | 1118                       | 2.05                     | 500-2-1                | 1354.3                     | 1.96                     |
| 100-3-1                | 1022.7                     | 2.04                     | 500-2-2                | 295                        | 2                        |
| 100-3-2                | 231.7                      | 1.99                     | 500-3-1                | 809.3                      | 2.07                     |
| 100-4-1                | 1908.1                     | 2.09                     | 500-3-2                | 73.6                       | 2.07                     |
| 100-4-2                | 1077                       | 1.92                     | 500-4-1                | 1660.3                     | 1.98                     |
| 100-5-1                | 898.4                      | 2.03                     | 500-4-2                | 652.1                      | 2.03                     |
| 100-5-2                | 1581.8                     | 2                        | 500-5-1                | 3955.1                     | 2.13                     |
| 100-6-1                | 2570.1                     | 2.02                     | 500-5-2                | 1002.3                     | 2.12                     |
| 100-6-2                | 1014.6                     | 1.89                     | 500-6-1                | 1496.2                     | 2.1                      |
| 200-1-1                | 1666.7                     | 1.91                     | 500-6-2                | 2679.2                     | 2.08                     |
| 200-1-2                | 478.5                      | 2                        | 600-1-1                | 878.2                      | 2.05                     |
| 200-2-1                | 422.8                      | 2.05                     | 600-1-2                | 1107.9                     | 2.09                     |
| 200-2-2                | 125.8                      | 2.07                     | 600-2-1                | 464.2                      | 2.02                     |
| 200-3-1                | 1650.6                     | 2.07                     | 600-2-2                | 935.6                      | 2.09                     |
| 200-3-2                | 411.9                      | 2.06                     | 600-3-1                | 1052                       | 2.05                     |
| 200-4-1                | 411.2                      | 1.99                     | 600-4-1                | 417.2                      | 1.98                     |
| 200-4-2                | 777.4                      | 2.06                     | 600-4-2                | 677.5                      | 2.07                     |
| 200-5-1                | 574.4                      | 2.03                     | 600-5-1                | 1037.5                     | 2.1                      |
| 200-5-2                | 387.6                      | 2                        | 600-5-2                | 299.5                      | 1.97                     |
| 200-6-1                | 1896.7                     | 2.09                     | 600-6-1                | 456.9                      | 1.99                     |



### 3.2.4.4. Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR/PCR)

Bu çalışmada SRAP ve ISSR markırları kullanılmıştır. SRAP markır tekniğinde 5 ileri ve 8 geri primerden oluşan 9 farklı kombinasyon kullanılmıştır. Kullanılan SRAP primerlerine ait baz dizilimleri Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Tez çalışmasında kullanılan SRAP primerleri ve baz dizilimleri

| Forward primer                 | Reverse primer                  |
|--------------------------------|---------------------------------|
| <b>Me1:</b> TGAGTCCAAACCGGATA  | <b>Em1:</b> GACTGCGTACGAATTAAT  |
| <b>Me2:</b> TGAGTCCAAACCGGAGC  | <b>Em3:</b> GACTGCGTACGAATTGAC  |
| <b>Me3:</b> TGAGTCCAAACCGGAAT  | <b>Em4:</b> GACTGCGTACGAATTTGA  |
| <b>Me5:</b> TGAGTCCAAACCGGAAG  | <b>Em7:</b> GACTGCGTACGAATTGAG  |
| <b>Me11:</b> TGAGTCCAAACCGGACT | <b>Em9:</b> GACTGCGTACGAATTTCA  |
|                                | <b>Em12:</b> GACTGCGTACGAATTCAT |
|                                | <b>Em15:</b> GACTGCGTACGAATTCTT |
|                                | <b>Em16:</b> GACTGCGTACGAATTGAT |

SRAP PZR reaksiyonları her tüp için 20 µl olacak şekilde hazırlanmıştır (Çizelge 3.3). Reaksiyonlar thermal cycler cihazında (Applied Biosystem-Veriti) gerçekleştirilmiştir. SRAP PZR koşulu Li ve Quiros (2001)’a göre ayarlanmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.3. SRAP markırında kullanılan polimeraz zincir reaksiyonu bileşeni

| PCR Bileşeni               | Kullanılan miktar (µl) |
|----------------------------|------------------------|
| dH <sub>2</sub> O          | 7.3                    |
| Primer R (5mM)             | 2                      |
| Primer F                   | 2                      |
| Buffer                     | 2                      |
| MgCl <sub>2</sub> (25mM)   | 2.5                    |
| dNTP (2.5mM)               | 2                      |
| TaqPolimeraz (5UFermentas) | 0.2                    |
| gDNA (25 ng/ µl)           | 2                      |
| Toplam reaksiyon hacmi     | 20                     |

Çizelge 3.4. Tez çalışmasında kullanılan PCR koşulları (SRAP)

| Sıcaklık | Süre     | Döngü |
|----------|----------|-------|
| 94 °C    | 5 dakika | 1     |
| 94 °C    | 1 dakika | 5     |
| 35 °C    | 1 dakika |       |
| 72 °C    | 1 dakika |       |
| 94 °C    | 1 dakika | 35    |
| 50 °C    | 1 dakika |       |
| 72 °C    | 5 dakika |       |
| 4 °C     | ∞        |       |

Moleküler düzeyde farklılıkların belirlenmesi için kullanılan diğer bir markır tekniği olan ISSR markır tekniğinde 5 primer kullanılmıştır. Primerlere ait baz dizilimleri ve yapışma sıcaklıkları Çizelge 3.5’te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Tez çalışmasında kullanılan ISSR primerleri ve baz dizilimleri

| No | Primer Adı | Dizi                | Baz Sayısı | Yapışma Sıcaklığı (°C) |
|----|------------|---------------------|------------|------------------------|
| 1  | 812        | GAGAGAGAGAGAGAGAA   | 17         | 50.4                   |
| 2  | ISSR-3     | ACTGACTGACTGACTG    | 16         | 49.2                   |
| 3  | ISSR-4     | GACAGACAGACAGACA    | 16         | 49.2                   |
| 4  | Sola-9     | (AC) <sub>8</sub> G | 17         | 52.8                   |
| 5  | Sola-11    | GAGCAACAACAACAACAA  | 18         | 49.1                   |

ISSR analizlerinde PCR döngü ve koşulları Yıldız ve ark. (2011)’e göre yapılmıştır (Çizelge 3.6; Çizelge 3.7).

Çizelge 3.6. ISSR PCR reaksiyon bileşeni

| PCR Bileşeni               | Kullanılan miktar (µl) |
|----------------------------|------------------------|
| dH <sub>2</sub> O          | 6.3                    |
| Primer (5mM)               | 5                      |
| Buffer                     | 2                      |
| MgCl <sub>2</sub> (25mM)   | 2.5                    |
| dNTP (2.5mM)               | 2                      |
| TaqPolimeraz (5UFermentas) | 0.2                    |
| gDNA (25 ng/ µl)           | 2                      |
| Toplam reaksiyon hacmi     | 20                     |

Çizelge 3.7. ISSR PCR döngü koşulları

| Sıcaklık                        | Süre     | Döngü |
|---------------------------------|----------|-------|
| 94 °C                           | 3 dakika | 1     |
| 94 °C                           | 1 dakika |       |
| 44-56 (primere göre değişmekte) | 1 dakika | 45    |
| 72 °C                           | 2 dakika |       |
| 72 °C                           | 7 dakika | 1     |
| 4 °C                            | ∞        |       |

### 3.2.4.5. Agaroz jel elektroforezi

Elde edilen PZR ürünleri 1xTAE tampon çözeltisi kullanılarak hazırlanan %2'lik agaroz jelde 120 V / 5 saat koşularak yürütülmüştür. Ayrışan bantların büyüklüğü 200-20000 baz çifti aralığında DNA markırı (ThermoFisher, 21 ZipRuler Express DNA Ladder) kullanılarak belirlenmiştir. Jel görüntüleri 0.5 µg/ml konsantrasyonda ethidium bromit ile boyanmış ve UV ışığı altında fotoğrafları çekilmiştir.

### 3.2.4.6. Verilerin değerlendirilmesi

Her bir SRAP ve ISSR markırları ile çoğaltılan PCR ürünlerinin jel görüntüleri incelenerek parlak ve diğerlerinden net şekilde ayrılmış bantlar skorlanmış, zayıf bantlar yapay bantların skorlanmasını önlemek için dikkate alınmamıştır. Bantlar ikili skora sistemine göre bant varlığında 1 yokluğunda 0 olarak sınıflandırılmıştır. Çoğaltılan her bir markır için toplam bant sayısı, polimorfik bant sayısı her doz grubu için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Polimorfizm bilgi içerik (PIC, Polymorphism Information Content) değerleri Laborda ve ark. (2005)'na göre her doz grubu için ayrı ayrı hesaplanmıştır. Genotipler arasındaki uzaklık Jaccard benzerlik katsayısı alınarak hesaplandıktan sonra UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) ile dendrogram oluşturulmuştur. Toplam bant, polimorfik bant, polimorfizm yüzdesi, polimorfizm bilgi içeriği, gözlenen allel sayısı, etkili allel sayısı, Nei'nin gen dağılımı ve Shannon'un bilgi içeriği değerleri POPGEN bilgisayar programı ile hesaplanmıştır.

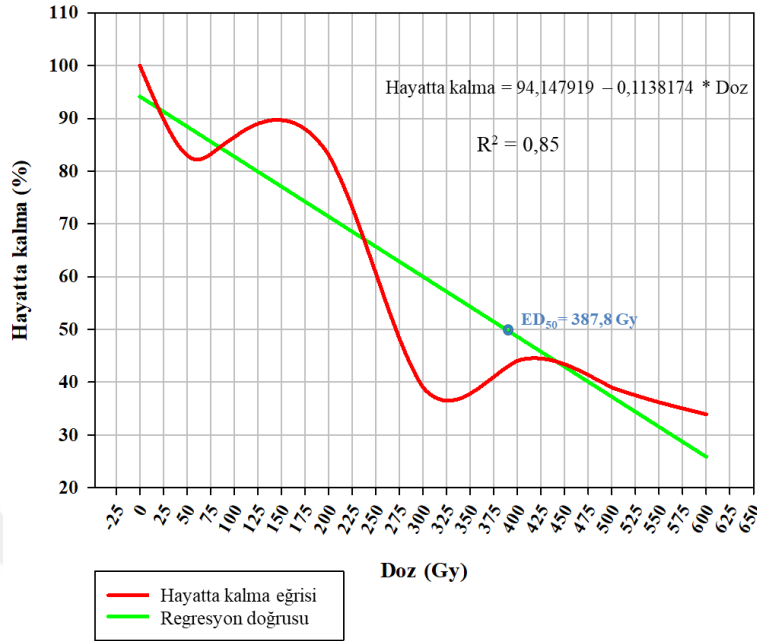
Morfolojik ve moleküler verilerin analizi için SAS GLM (varyans analizi) prosedürü kullanılmıştır. Varyans analizi sonucunda önemli bulunan dozlar arasındaki

farklılığı belirlemek için Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Ayrıca dozlar arasındaki benzerliği belirlemek için kümeleme analizi (Cluster analysis) kullanılarak dendogram oluşturulmuştur.



#### 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Farklı gama ışın dozları uygulanan mor havuç tohumlarında etkili dozun belirlenmesi için yapılan saksı denemesi sonucu elde edilen hayatta kalma yüzdeleri kullanılarak hayatta kalma eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 4.1). Hayatta kalma yüzdeleri regresyon analizine tabi tutularak, regresyon doğrusu elde edilmiş ve uygun regresyon denklemi tahmin edilmiştir. Oluşturulan bu denkleme göre hayatta kalma eğrisi Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Formülde %50 hayatta kalma oranına tekabül eden doz uygun ışın dozu olarak tespit edilmektedir. Elde edilen regresyon doğrusuna göre %50 hayatta kalma doz oranı 387.8 Gy olmuştur. Grafikte verilen regresyon denkleminde; doz 1 Gy arttığında hayatta kalma oranı 0.1138174 kat azalmaktadır. Bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Doz ile hayatta kalma süresi arasındaki Pearson korelasyon kat sayısı -0.922 (%-99.2) olarak elde edilmiş olup, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Naval ve ark (2013) hurma bitkisinde gama ışını ile mutasyon yaratmak üzerine yaptıkları bir çalışmada hayatta kalma ve mutasyon indüksiyonu için en uygun gama ışını dozunu 20 Gy olarak belirlemişlerdir. Jo ve ark. (2016) biber mutasyon ıslahı çalışmasında farklı radyon dozları kullanmış ve hayatta kalma ve sürgün büyüme oranları LD<sub>50</sub>’nin yaklaşık 140 ve 35 Gy olduğunu bildirmişlerdir. Biber mutasyon ıslahı için optimal dozların 80-100 Gy olduğunu rapor etmişlerdir. Bado ve ark. (2016) patates mutasyon ıslahında, mutasyon indüksiyonu için farklı doku tiplerine farklı ışın dozları uygulamışlar ve uygun ışın dozları optimize etmişlerdir. Çalışmada kesim büyümesi GR<sub>50</sub> 9.6- 20.6 Gy, kesilmiş yumru yeterliliği LD<sub>50</sub> 7.3- 13 Gy ve mikro yumru filizleme yeterliliği için LD<sub>50</sub> 20.6-54.8 Gy olarak belirlemişlerdir. Olasupo ve ark. (2016) 8 börülce genotipine 5 farklı gama ışını (100, 200, 300, 400 ve 500 Gy) uygulamış ve ışın uygulamasının tohum çimlenmesi, hayatta kalan fide ve M1 generasyonunda büyüme yapısını incelemişlerdir. Börülce genotiplerinde LD<sub>50</sub> değeri tohum çimlenmesi için 329-1054 Gy ve hayatta kalan fide için 149-620 Gy gibi geniş bir aralıkta olduğunu bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında da mor havuç popülasyonu için hayatta kalma doz oranı 387.8 Gy olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Hayatta kalma yüzdeleri kullanılarak elde edilen hayatta kalma oranı (%) eğrisi ve regresyon analizi sonucu elde edilen hayatta kalma oranı (%) doğrusu.

Saksıda çimlenme ve inkübatörde çimlenme oranları bakımından uygulamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Saksı denemesinde; kontrol grubu ve 50 Gy, 100 Gy, 200 Gy ışın uygulanmış gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmüştür ( $p > 0.05$ ). Bununla birlikte 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy ve 600 Gy ışın uygulanmış doz gruplarının da kendi aralarında istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmüştür. Saksı denemesinde hayatta kalma oranları kullanılarak yapılan analiz tablosu (Çizelge 4.1) incelendiğinde hayatta kalma oranının en fazla kontrol grubunda (%98.3) olduğu, en düşük hayatta kalma oranının (%33.3) ise 600 Gy ışın dozu uygulanmış grupta olduğu görülmektedir. Tez çalışmasına benzer sonuçlar Al-Safadi ve Simon (1996)'ın havuç tohumlarına 0.5 ve 1 Krad gama ışını uyguladıkları çalışmada elde edilmiştir. Araştırmacılar tohum ışınlanmasından sonra doz ve bitkilerin hayatta kalma oranları arasında yüksek bir negatif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.

İnkübatörde çimlendirme denemesinde; kontrol grubu ve 50 Gy, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy ve 600 Gy ışın uygulanmış doz gruplarında görülen farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Ayrıca; 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy doz uygulanmış gentiplerinde görülen farklılığın da istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

İnkübatörde 23 °C’de yapılan çimlendirme oranı analizinde en yüksek çimlenme oranı (%98.5) 200 Gy ışın uygulanmış tohum grubunda tespit edilmişken, en düşük çimlenme oranı (%85.5) ise 500 Gy ışın uygulanmış tohum grubunda görülmüştür. Ancak yüksek dozlarda çimlenme süresi düşük dozlara göre çok daha uzun sürmüştür. Kontrol (0), 50 Gy ve 100 Gy uygulanmış tohumlarda çimlenme 10 gün sürmüştür, 200 Gy, 300 Gy ve 400 Gy’de 14 gün, 500 Gy ve 600 Gy doz uygulanmış tohumlarda 24 gün sürmüştür. Benzer sonuç Al-Safadi ve Simon (1996)’ın havuçta yapmış oldukları çalışmada rapor edilmiştir. Araştırmacılar düşük dozlarda ışın uygulanmasının havuç tohumlarında çimlendirmeyi hızlandırdığını yüksek dozların düşürdüğünü bildirmişlerdir. Aynı şekilde Kumar ve Mishra (2004)’nin bamyada yaptıkları bir çalışmada artan gama ışın dozuyla birlikte çimlenme yüzdesinin düştüğü rapor edilmiştir. Genellikle yüksek ışın uygulaması Gynnosperm (açık tohumlular) ve Angiosperm (kapalı tohumlular) tohumlarında çimlenmeyi inhibe etki gösterirken düşük uygulama tohum çimlenme yüzdesini artırmaktadır (Dhakshanamoorthy ve ark., 2011). Bu uyartımların hücre bölünmesi oranındaki artış (Zaka ve ark., 2004) ve oksin aktivasyonu (Gunckel ve Sparrow, 1961) ilgili olduğu hipotezleri bulunmaktadır (Dhakshanamoorthy ve ark., 2011).

Çizelge 4.1. Kontrol ve farklı gama ışını uygulanmış tohumların inkübatörde çimlenme ve saksı ortamında çıkış oranları

| Dozlar          | Saksıda çıkış oranı (%) | İnkübatörde çimlendirme oranı (%) |
|-----------------|-------------------------|-----------------------------------|
| K               | 98.33±4.08 <b>a</b>     | 98.00±4.22 <b>a</b>               |
| 50              | 81.67±11.69 <b>a</b>    | 98.00±10.05 <b>a</b>              |
| 100             | 85.00±13.78 <b>a</b>    | 98.00±4.83 <b>a</b>               |
| 200             | 81.67±22.29 <b>a</b>    | 98.50±4.74 <b>a</b>               |
| 300             | 38.33±14.72 <b>b</b>    | 93.00±9.77 <b>ab</b>              |
| 400             | 43.33±17.51 <b>b</b>    | 93.00±6.75 <b>ab</b>              |
| 500             | 38.33±11.69 <b>b</b>    | 85.50±11.17 <b>b</b>              |
| 600             | 33.33±15.05 <b>b</b>    | 92.00±9.77 <b>ab</b>              |
| P (önem düzeyi) | 0.001                   | 0.006                             |

Kontrol bitikleri ve mutant bitkiler arasındaki morfolojik farklılıkların belirlenmesi için yapılan denemeler Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü’nde yürütülmüştür. Hasat dönemine kadar tüm gerekli sulama, gübreleme ve bakım işlemleri yapılmıştır. Nisan 2018’de havuçlar gruplar halinde elle hasat edilmiştir. Hasat edilen

bitkilerin morfolojik farklılıklarının tespiti için 3 tekerrürlü her tekerrürde 20 bitki olacak şekilde yapılarak ölçümler (Çizelge: Ek1) toplamda 60 bitkide cetvel ve kumpas yardımıyla yapılmıştır. Ancak bazı doz gruplarında hayatta kalan bitki sayısı 60'ın altında kalmıştır. Bu sebeple 300 Gy, 500 Gy ve 600 Gy doz gruplarında hayatta kalan tüm bitkilerde ölçüm yapılmıştır. Çizelge 4.2'de görüleceği üzere en uzun kök boyu ortalaması 22.4 cm ile 100 Gy doz grubundan alınmışken, en düşük kök boyu ortalaması 15.9 cm ile 500 Gy ışın dozu grubundan alınmıştır. Bir diğer morfoloji özellik olan kök omuz genişliğinde en yüksek değer (5.9 cm) 50 Gy doz grubundan, en düşük değer (4.5 cm) 400 Gy doz grubundan alınmıştır. Yeşil aksam yüksekliği bakımından Çizelge 4.2 incelendiğinde en yüksek değer (62.3 cm) 100 Gy doz grubundan elde edildiği ve en düşük değer (45 cm) 600 Gy doz grubundan elde edildiği görülmektedir. Al-Safadi ve Simon (1996) havuç doku kültürleri, çimlenmiş tohum ve kuru tohumlara 0.5 ve 1 krad gama ışını uygulamış ve tohumlara düşük doz gama ışını uygulamasının bitki ebatı ve kök ağırlığında kontrol bitkilerine göre %20 ile %35 artırdığını bildirmişlerdir. Ancak, Bovi ve ark. (2003)'nın Nantes Forto ve Brasilia havuç çeşitlerinin tohumlarına 0., 2.5, 5, 7.5 ve 10 Gy ışın uyguladıkları çalışmada farklı sonuç çıkmıştır. Araştırmada Brasilia çeşidinin tüm uygulamalarda kontrolden daha fazla kök ağırlığı gösterdiği bildirilmiştir. Bu tez çalışmasında da incelenen 3 morfolojik özellikte de en yüksek değerler 50 Gy ve 100 Gy doz gruplarından alınmış doz yükseldikçe değerlerde düşüşler başlamıştır.

Çizelge 4.2. Farklı ışın dozlarına maruz bırakılmış bitkilere ait kök boyu, kök omuz genişliği ve yeşil aksam değer ortalamaları

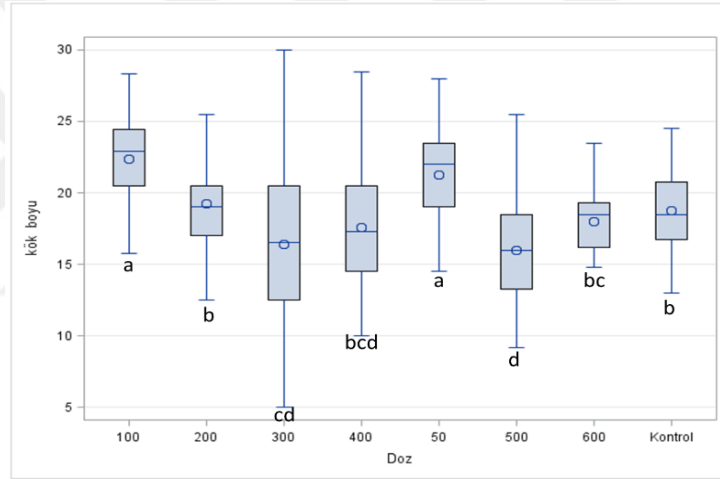
| Dozlar  | Kök Boyu (cm) |                         | Kök Omuz Genişliği (cm) |                       | Bitki Yeşil Aksam Boyu (cm) |                        |
|---------|---------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------------|------------------------|
|         | N             | Ortalama                | N                       | Ortalama              | N                           | Ortalama               |
| Kontrol | 60            | 18.720±0.331 <b>b</b>   | 60                      | 5.194±0.126 <b>bc</b> | 60                          | 56.741±0.897 <b>b</b>  |
| 50      | 60            | 21.267±0.437 <b>a</b>   | 60                      | 5.907±0.150 <b>a</b>  | 60                          | 61.325±1.257 <b>a</b>  |
| 100     | 60            | 22.386±0.395 <b>a</b>   | 60                      | 5.494±0.126 <b>ab</b> | 60                          | 62.300±1.331 <b>a</b>  |
| 200     | 60            | 19.264±0.423 <b>b</b>   | 60                      | 4.746±0.151 <b>cd</b> | 60                          | 61.659±1.081 <b>a</b>  |
| 300     | 43            | 16.360±0.840 <b>cd</b>  | 43                      | 4.655±0.255 <b>cd</b> | 43                          | 55.020±1.647 <b>b</b>  |
| 400     | 60            | 17.553±0.511 <b>bed</b> | 60                      | 4.503±0.163 <b>d</b>  | 60                          | 50.916±0.954 <b>c</b>  |
| 500     | 39            | 15.987±0.525 <b>d</b>   | 39                      | 4.576±0.239 <b>cd</b> | 39                          | 49.310±1.503 <b>cd</b> |
| 600     | 13            | 18.015±1.095 <b>bc</b>  | 13                      | 4.872±0.397 <b>cd</b> | 13                          | 45.761±3.405 <b>d</b>  |

P (önem düzeyi) 0.05

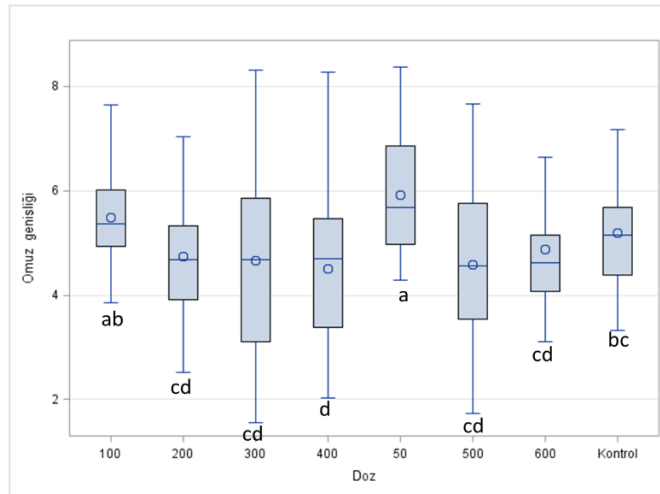
Kontrol ve farklı doz gruplarına ait M1 bitkilerinde kök boyu, kök omuz genişliği ve yeşil aksam boyu ortalama oranları bakımından gruplar arasındaki fark istatistiksel



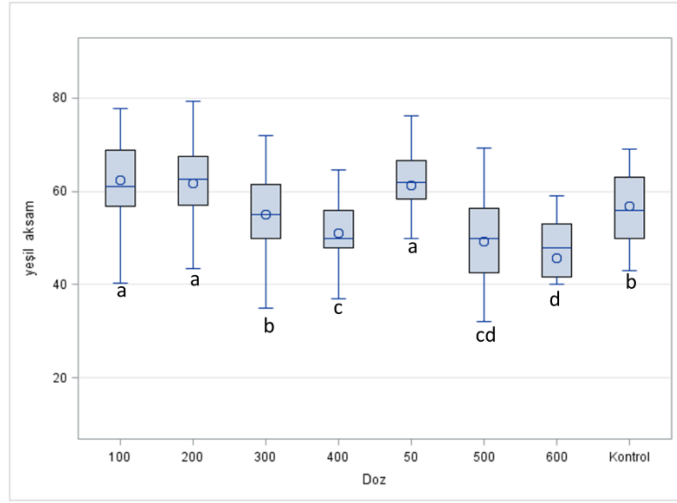
olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Kök boyu değerlerine bakıldığında 50 Gy ve 100 Gy doz grubu arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubu, 200 Gy, 400 Gy, 600 Gy doz gruplarında görülen farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Şekil 4.2). Kök omuz genişliği ortalama oranları bakımından 50 Gy ve 100 Gy doz gruplarının aralarında görülen farklılığın istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptanmıştır. 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy ve 600 Gy doz gruplarında da görülen farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Şekil 4.3) ( $p > 0.05$ ). Yeşil aksam boyu ortalamaları bakımından kontrol grubu ve 300 Gy doz grupları arasındaki farklılık ve 500 Gy, 600 Gy doz grupları arasındaki istatistiksel farklılıklar da önemsiz bulunmuştur (Şekil 4.4).



Şekil 4.2. Kök boyu değerlerine ait box-plot grafiği.

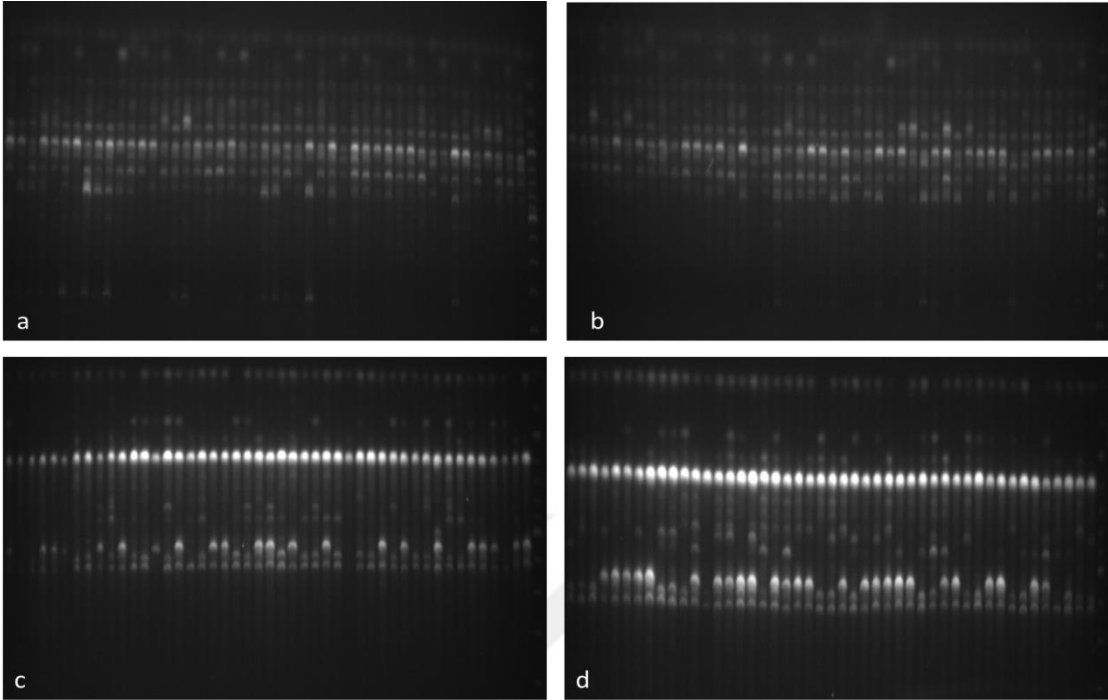


Şekil 4.3. Kök omuz genişliği değerlerine ait box-plot grafiği.



Şekil 4.4. Yeşil aksam boyu değerlerine ait box-plot grafiği.

Kontrol ve farklı gama ışın dozları uygulanmış mutant havuç grupları arasındaki genetik farklılıkların belirlenmesi amacıyla SRAP ve ISSR moleküler markır analizleri yapılmıştır. SRAP analizlerinde 5 ileri 8 geri primerden oluşan 9 primer kombinasyonu kontrol ve farklı ışın dozları uygulanmış 7 gruba ait 94 bitkide taranmıştır. SRAP analizlerinde toplam 65 skorlanabilir bant elde edilmiş ve bunun 56 tanesi polimorfik özellik göstermiştir. Me11 x EM4 SRAP primer kombinasyonunun 94 bitkiden elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntüleri Şekil 4.5’de verilmiştir. Yine aynı şekilde ISSR analizlerinde 4 primer kontrol ve mutant bitki gruplarından oluşan 96 bitkide analiz edilmiş ve 28’i polimorfik olmak üzere toplam 35 bant elde edilmiştir. ISSR3 primerinin 94 bitkide uygulanması sonucu elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü Şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.5. SRAP ve ISSR markırlarından elde edilen PCR amplifikasyon ürünlerinin görüntüsü (a ve b) Me11 X Em4 SRAP primer kombinasyonu (c ve d) ISSR3 primeri

Kontrol ve farklı ışın dozu uygulanmış mutant havuç gruplarındaki moleküler farklılıkların belirlenmesi amacıyla yapılmış olan SRAP ve ISSR analizlerinde toplam 84 adet polimorfik bant elde edilmiştir. Her iki markır sisteminde de toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bilgi içeriğine ait değerler kontrol ve her doz grubu için ayrı ayrı hesaplanmıştır. ISSR analizine ait Çizelge 4.3. incelendiğinde kontrol ve doz gruplarına göre primer başına düşen ortalama bant sayısı ve primer başına düşen polimorfik bant sayısının değiştiği görülmektedir. En yüksek primer başına ortalama bant sayısı (8.25 bant) 100 Gy ve 400 Gy doz gruplarından alınmışken en düşük primer başına ortalama bant sayısı (6 bant) 600 Gy doz grubundan alınmıştır. En yüksek primer başına ortalama polimorfik bant sayısını (6 bant) 100 Gy doz grubu vermişken en düşük primer başına ortalama polimorfik bant sayısını (3.5 bant) 600 Gy doz grubu vermiştir. Toplam bant sayısı bakımından ISSR primerleri incelendiğinde; en yüksek bant sayısı (10 adet) ISSR3 primerinden 50 Gy ve 100 Gy gruplarında, en düşük bant sayısı (4 adet) Sola11 primerinden 600 Gy dozunda elde edilmiştir. ISSR primerleri polimorfizm oranı bakımından incelendiğinde ise, Sola 9 (50

Gy, 100 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy), Sola 11 (300 Gy, 600 Gy), primerlerinin %50'nin altında olduğu ve ISSR4 (0 Gy, 50 Gy, 100 Gy ve 300 Gy) %100 ve diğer primerlerin ise %50 - %91 aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerleri incelendiğinde ISSR markırı için en düşük değer (0.21) 50 Gy grubunda Sola9 primerinden, en yüksek değer ise 0.78 ile 600 Gy grubundan ISSR3 primerinden elde edilmiştir. Gözlenen allel sayısının gruplar arasında ortalama değerlerine bakıldığında en yüksek değer (1.67) 100 Gy grubundan en düşük değer (1.39) 600 Gy grubundan elde edilmiştir. Etkili allel sayısı bakımından incelendiğinde en yüksek değer (1.42) 100 Gy doz grubundan en düşük değer (1.23) 600 Gy doz grubunda tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki ortalama  $h$  değerleri incelendiğinde en yüksek değer (0.25) 100 Gy grubundan en düşük değer (0.13) 600 Gy grubundan elde edildiği görülmektedir. Shannon bilgi içeriği ( $I$ ) bakımından gruplar incelendiğinde en yüksek değer (0.37) yine 100 Gy grubundan elde edilmişken en düşük değer (0.20) 600 Gy doz grubundan elde edilmiştir. SRAP analizine ait Çizelge 4.4. incelendiğinde kontrol ve farklı doz gruplarında primer başına düşen ortalama bant sayısı ve primer başına düşen polimorfik bant sayısının değiştiği görülmektedir. En yüksek primer başına ortalama bant sayısı (6.7 bant) 100 Gy ve 400 Gy doz gruplarından alınmışken en düşük primer başına ortalama bant sayısı (4.9 bant) 600 Gy doz grubundan alınmıştır. Primer başına ortalama polimorfik bant sayıları gruplar bazında incelendiğinde en yüksek değer (5.1 bant) 50 Gy doz grubundan elde edilmişken en düşük değer (3 bant) 600 Gy doz grubundan alınmıştır. SRAP markırında en yüksek bant sayısı 13 adet ile Me2 X Em16 primerinden 100 ve 400 Gy olan dozlarında, en düşük bant sayısı (2 adet) Me1 X Em3 primerinde kontrol grubundan elde edilmiştir.

SRAP primerlerinde % polimorfizm oranları incelendiğinde Me2 X Em9 (500 Gy ve 600 Gy), Me5 X Em15 (300 Gy, 400 Gy, 500 Gy ve 600 Gy) primer kombinasyonlarının %50'nin altında, Me3 X Em1 (0 (Kontrol) , 50 Gy, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy ve 600 Gy) %100 polimorfizm gösterdiği anlaşılmaktadır.

Polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerleri incelendiğinde SRAP markırı için en düşük değer (0.20) 500 Gy grubunda Me5 X Em15 primer kombinasyonundan alınırken, en yüksek değerler (0.83) 500 Gy doz grubunda Me3 X Em1 primer kombinasyonundan elde edilmiştir. Gruplar arasında gözlenen allel sayısının ortalama değerlerine

bakıldığında en yüksek değer (1.69) 50 Gy ve 200 Gy gruplarında, en düşük değer (1.41) 600 Gy grubundan elde edilmiştir. Gruplar etkili allel sayısı bakımından incelendiğinde en yüksek değer (1.42) 50 Gy doz grubundan alınmışken, en düşük değer (1.26) 600 Gy doz grubunda tespit edilmiştir. Gruplar arasındaki ortalama  $h$  değerleri incelendiğinde en yüksek değer (0.25) 50 Gy grubundan, en düşük değer (0.15) 600 Gy grubundan elde edildiği görülmektedir. Gruplar Shannon bilgi içeriği ( $I$ ) bakımından incelendiğinde en yüksek değer (0.39) 50 Gy grubundan elde edilirken, en düşük değer (0.23) 600 Gy doz grubundan elde edilmiştir.

Tez çalışmamızda, hem ISSR hem de SRAP analizlerinde primer başına en düşük toplam bant sayısı 600 Gy dozlarda elde edilmiştir. Bu durum yüksek gama ışını uygulamasının havuç bitki hücrelerinde DNA zararlanmaları meydana getirmiş olacağını düşündürmektedir. Bant kayıplarının gama ışını tarafından uyartılmış tek ve ikili zincir kırılmaları, bazların modifikasyonu, bazların yerleşmemesi, oksidaze olmuş bazlar, büyük eklentiler gibi DNA zararlanmalarından, nokta mutasyonlar ve/veya kromozomların yeniden düzenlemelerinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Dhaksanamorthy ve ark., 2011). Tez çalışmasında en yüksek ortalama bant sayısı ise 100 Gy ve 400 Gy dozlardan elde edilmiştir. Yeni PZR amplifikasyon ürünleri homolog rekombinasyonlar, büyük sekans kayıpları (delesyonlar), mutasyonlar nedeniyle bazı oligonükleotit değişimleriyle açığa çıkmaktadır (Atienzar ve ark., 1999). Gama ışını uygulamasının DNA polimorfizmi ile sonuçlandığı yeni bantların oluşması veya bant kayıpları mutasyona sebep olmaktadır.

Çizelge 4.3. ISSR primerinin toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bilgi içeriğine ait değerler

| Primer       | Doz (Gy) | Toplam Bant | Polimorfik Bant | Polimorfizm (%) | PIC   | n <sub>a</sub> | n <sub>e</sub> | h     | I     |
|--------------|----------|-------------|-----------------|-----------------|-------|----------------|----------------|-------|-------|
| <b>ISSR3</b> | 0        | 7           | 5               | 71.429          | 0.669 | 1.5            | 1.276          | 0.169 | 0.257 |
|              | 50       | 10          | 8               | 80              | 0.664 | 1.8            | 1.476          | 0.294 | 0.442 |
|              | 100      | 10          | 9               | 90              | 0.615 | 1.9            | 1.551          | 0.33  | 0.493 |
|              | 200      | 7           | 6               | 85.714          | 0.619 | 1.6            | 1.336          | 0.2   | 0.302 |
|              | 300      | 5           | 4               | 80              | 0.575 | 1.4            | 1.32           | 0.175 | 0.251 |
|              | 400      | 9           | 7               | 77.777          | 0.582 | 1.7            | 1.396          | 0.231 | 0.351 |
|              | 500      | 9           | 8               | 88.888          | 0.592 | 1.8            | 1.447          | 0.266 | 0.404 |
|              | 600      | 6           | 5               | 83.333          | 0.785 | 1.5            | 1.281          | 0.168 | 0.254 |
| <b>ISSR4</b> | 0        | 7           | 7               | 100             | 0.631 | 1.777          | 1.544          | 0.315 | 0.462 |
|              | 50       | 8           | 8               | 100             | 0.671 | 1.888          | 1.608          | 0.345 | 0.507 |
|              | 100      | 7           | 7               | 100             | 0.571 | 1.777          | 1.501          | 0.296 | 0.44  |
|              | 200      | 7           | 5               | 71.428          | 0.361 | 1.555          | 1.254          | 0.154 | 0.241 |
|              | 300      | 7           | 7               | 100             | 0.537 | 1.777          | 1.23           | 0.169 | 0.287 |
|              | 400      | 8           | 7               | 87.5            | 0.471 | 1.777          | 1.448          | 0.263 | 0.397 |
|              | 500      | 8           | 7               | 87.5            | 0.641 | 1.777          | 1.418          | 0.27  | 0.412 |
|              | 600      | 8           | 6               | 75              | 0.445 | 1.666          | 1.387          | 0.225 | 0.339 |
| <b>Sola9</b> | 0        | 7           | 4               | 57.142          | 0.302 | 1.5            | 1.273          | 0.175 | 0.267 |
|              | 50       | 7           | 3               | 42.857          | 0.213 | 1.375          | 1.248          | 0.144 | 0.213 |
|              | 100      | 8           | 3               | 37.5            | 0.276 | 1.375          | 1.171          | 0.116 | 0.182 |
|              | 200      | 8           | 5               | 62.5            | 0.326 | 1.625          | 1.295          | 0.194 | 0.303 |
|              | 300      | 7           | 2               | 28.571          | 0.224 | 1.25           | 1.23           | 0.119 | 0.168 |

Çizelge 4.3. ISSR primerinin toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bilgi içeriğine ait değerler (devam)

|                 |     |      |      |               |             |             |             |             |             |
|-----------------|-----|------|------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                 | 400 | 8    | 3    | 37.5          | 0.268       | 1.375       | 1.067       | 0.057       | 0.107       |
|                 | 500 | 7    | 2    | 28.571        | 0.221       | 1.25        | 1.218       | 0.116       | 0.164       |
|                 | 600 | 6    | 3    | 50            | 0.27        | 1.375       | 1.239       | 0.145       | 0.215       |
|                 | 0   | 6    | 3    | 50            | 0.447       | 1.375       | 1.172       | 0.103       | 0.162       |
|                 | 50  | 7    | 4    | 57.142        | 0.39        | 1.5         | 1.241       | 0.161       | 0.251       |
|                 | 100 | 8    | 5    | 62.5          | 0.469       | 1.625       | 1.45        | 0.251       | 0.367       |
| <b>Sola11</b>   | 200 | 7    | 4    | 57.142        | 0.477       | 1.5         | 1.34        | 0.189       | 0.277       |
|                 | 300 | 7    | 3    | 42.857        | 0.313       | 1.375       | 1.325       | 0.173       | 0.245       |
|                 | 400 | 8    | 4    | 50            | 0.337       | 1.5         | 1.325       | 0.196       | 0.29        |
|                 | 500 | 8    | 4    | 50            | 0.336       | 1.5         | 1.29        | 0.173       | 0.261       |
|                 | 600 | 4    | 0    | 0             | 0           | 1           | 1           | 0           | 0           |
|                 | 0   | 27   | 19   |               |             |             |             |             |             |
|                 | 50  | 32   | 23   |               |             |             |             |             |             |
|                 | 100 | 33   | 24   |               |             |             |             |             |             |
| <b>Toplam</b>   | 200 | 29   | 20   |               |             |             |             |             |             |
|                 | 300 | 26   | 16   |               |             |             |             |             |             |
|                 | 400 | 33   | 21   |               |             |             |             |             |             |
|                 | 500 | 32   | 21   |               |             |             |             |             |             |
|                 | 600 | 24   | 14   |               |             |             |             |             |             |
| <b>Ortalama</b> | 0   | 6.75 | 4.75 | 69.643±22.112 | 0.512±0.170 | 1.538±0.170 | 1.316±0.159 | 0.190±0.089 | 0.287±0.126 |
|                 | 50  | 8    | 5.75 | 69.999±25.180 | 0.484±0.223 | 1.641±0.243 | 1.393±0.180 | 0.236±0.099 | 0.353±0.143 |
|                 | 100 | 8.25 | 6    | 72.500±28.210 | 0.483±0.151 | 1.669±0.226 | 1.418±0.170 | 0.248±0.094 | 0.370±0.136 |
|                 | 200 | 7.25 | 5    | 69.196±12.489 | 0.446±0.132 | 1.570±0.055 | 1.306±0.040 | 0.184±0.021 | 0.281±0.029 |
|                 | 300 | 6.5  | 4    | 62.857±32.909 | 0.412±0.171 | 1.450±0.227 | 1.276±0.053 | 0.159±0.027 | 0.238±0.050 |
|                 | 400 | 8.25 | 5.25 | 63.194±23.364 | 0.414±0.140 | 1.588±0.184 | 1.309±0.169 | 0.187±0.191 | 0.286±0.127 |
|                 | 500 | 8    | 5.25 | 63.740±29.567 | 0.447±0.202 | 1.582±0.260 | 1.343±0.108 | 0.206±0.075 | 0.310±0.120 |
|                 | 600 | 6    | 3.5  | 52.083±37.500 | 0.375±0.329 | 1.385±0.283 | 1.227±0.163 | 0.134±0.096 | 0.202±0.144 |

**PIc:** polimorfizm bilgi içeriği; **n<sub>a</sub>:** gözlenen allel sayısı; **n<sub>c</sub>:** etkili allel sayısı; **h:** Nei'nin gen dağılımı; **I:** Shannon'un bilgi indeksi

Çizelge 4.4. SRAP primerlerinin toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bilgi içeriğine ait değerler

| Primer            | Doz (Gy) | Toplam Bant | Polimorfik Bant | Polimorfizm (%) | PIC   | n <sub>a</sub> | n <sub>e</sub> | h     | l     |
|-------------------|----------|-------------|-----------------|-----------------|-------|----------------|----------------|-------|-------|
| <b>Me2 X Em1</b>  | 0        | 6           | 4               | 66.666          | 0.613 | 1.444          | 1.256          | 0.151 | 0.228 |
|                   | 50       | 8           | 6               | 75              | 0.532 | 1.666          | 1.387          | 0.223 | 0.337 |
|                   | 100      | 7           | 5               | 71.428          | 0.593 | 1.555          | 1.376          | 0.219 | 0.322 |
|                   | 200      | 8           | 5               | 62.5            | 0.526 | 1.555          | 1.307          | 0.194 | 0.295 |
|                   | 300      | 4           | 2               | 50              | 0.449 | 1.222          | 1.147          | 0.084 | 0.125 |
|                   | 400      | 8           | 6               | 75              | 0.597 | 1.666          | 1.343          | 0.209 | 0.322 |
|                   | 500      | 7           | 5               | 71.428          | 0.528 | 1.555          | 1.296          | 0.176 | 0.269 |
|                   | 600      | 5           | 3               | 60              | 0.53  | 1.333          | 1.216          | 0.122 | 0.181 |
| <b>Me2 X Em9</b>  | 0        | 6           | 4               | 66.666          | 0.604 | 1.571          | 1.39           | 0.226 | 0.332 |
|                   | 50       | 7           | 5               | 71.428          | 0.474 | 1.714          | 1.483          | 0.281 | 0.415 |
|                   | 100      | 7           | 4               | 57.142          | 0.43  | 1.571          | 1.428          | 0.242 | 0.35  |
|                   | 200      | 7           | 5               | 71.428          | 0.507 | 1.714          | 1.217          | 0.158 | 0.267 |
|                   | 300      | 6           | 4               | 66.666          | 0.513 | 1.571          | 1.163          | 0.119 | 0.203 |
|                   | 400      | 7           | 4               | 57.142          | 0.462 | 1.571          | 1.34           | 0.21  | 0.316 |
|                   | 500      | 5           | 2               | 40              | 0.261 | 1.285          | 1.257          | 0.134 | 0.19  |
|                   | 600      | 4           | 1               | 25              | 0.214 | 1.142          | 1.126          | 0.067 | 0.094 |
| <b>Me2 X Em12</b> | 0        | 6           | 4               | 66.666          | 0.359 | 1.714          | 1.482          | 0.275 | 0.404 |
|                   | 50       | 6           | 3               | 50              | 0.31  | 1.571          | 1.485          | 0.261 | 0.371 |
|                   | 100      | 6           | 3               | 50              | 0.281 | 1.571          | 1.359          | 0.212 | 0.316 |
|                   | 200      | 6           | 4               | 66.666          | 0.417 | 1.714          | 1.532          | 0.287 | 0.416 |
|                   | 300      | 6           | 3               | 50              | 0.335 | 1.571          | 1.506          | 0.265 | 0.375 |
|                   | 400      | 6           | 4               | 66.666          | 0.294 | 1.714          | 1.417          | 0.25  | 0.377 |
|                   | 500      | 6           | 4               | 66.666          | 0.37  | 1.714          | 1.58           | 0.305 | 0.436 |
|                   | 600      | 6           | 3               | 50              | 0.308 | 1.571          | 1.381          | 0.217 | 0.32  |



Çizelge 4.4. SRAP primerlerinin toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bilgi içeriğine ait değerler (devam)

|                   |     |    |    |        |       |       |       |       |       |
|-------------------|-----|----|----|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Me5 X Em15</b> | 0   | 4  | 3  | 75     | 0.677 | 1.75  | 1.481 | 0.27  | 0.4   |
|                   | 50  | 4  | 3  | 75     | 0.34  | 1.75  | 1.442 | 0.263 | 0.398 |
|                   | 100 | 4  | 3  | 75     | 0.322 | 1.75  | 1.377 | 0.229 | 0.354 |
|                   | 200 | 4  | 3  | 75     | 0.302 | 1.75  | 1.29  | 0.187 | 0.302 |
|                   | 300 | 4  | 1  | 25     | 0.222 | 1.25  | 1.2   | 0.111 | 0.159 |
|                   | 400 | 4  | 1  | 25     | 0.206 | 1.25  | 1.236 | 0.121 | 0.169 |
|                   | 500 | 4  | 1  | 25     | 0.198 | 1.25  | 1.245 | 0.124 | 0.172 |
|                   | 600 | 4  | 1  | 25     | 0.24  | 1.25  | 1.117 | 0.08  | 0.125 |
| <b>Me2 X Em16</b> | 0   | 9  | 7  | 77.777 | 0.678 | 1.538 | 1.286 | 0.17  | 0.26  |
|                   | 50  | 12 | 11 | 91.666 | 0.601 | 1.846 | 1.472 | 0.276 | 0.419 |
|                   | 100 | 13 | 9  | 69.23  | 0.593 | 1.692 | 1.496 | 0.276 | 0.403 |
|                   | 200 | 11 | 10 | 90.909 | 0.554 | 1.769 | 1.404 | 0.245 | 0.376 |
|                   | 300 | 12 | 9  | 75     | 0.699 | 1.692 | 1.275 | 0.185 | 0.298 |
|                   | 400 | 13 | 9  | 69.23  | 0.606 | 1.692 | 1.395 | 0.239 | 0.361 |
|                   | 500 | 12 | 8  | 66.666 | 0.562 | 1.615 | 1.423 | 0.241 | 0.354 |
|                   | 600 | 10 | 7  | 70     | 0.658 | 1.538 | 1.292 | 0.181 | 0.276 |
| <b>Me3 X Em7</b>  | 0   | 6  | 5  | 83.333 | 0.428 | 1.714 | 1.335 | 0.21  | 0.328 |
|                   | 50  | 7  | 5  | 71.428 | 0.385 | 1.714 | 1.247 | 0.176 | 0.291 |
|                   | 100 | 7  | 5  | 71.428 | 0.353 | 1.714 | 1.386 | 0.23  | 0.35  |
|                   | 200 | 6  | 5  | 83.333 | 0.435 | 1.714 | 1.376 | 0.222 | 0.34  |
|                   | 300 | 7  | 5  | 71.428 | 0.434 | 1.714 | 1.395 | 0.25  | 0.38  |
|                   | 400 | 7  | 5  | 71.428 | 0.382 | 1.714 | 1.276 | 0.194 | 0.314 |
|                   | 500 | 6  | 5  | 83.333 | 0.506 | 1.714 | 1.431 | 0.245 | 0.367 |
|                   | 600 | 5  | 4  | 80     | 0.397 | 1.571 | 1.389 | 0.218 | 0.321 |
| <b>Me11 X Em4</b> | 0   | 6  | 5  | 83.333 | 0.71  | 1.833 | 1.391 | 0.254 | 0.397 |
|                   | 50  | 5  | 4  | 80     | 0.568 | 1.666 | 1.421 | 0.252 | 0.375 |
|                   | 100 | 6  | 5  | 83.333 | 0.688 | 1.833 | 1.355 | 0.238 | 0.379 |
|                   | 200 | 5  | 4  | 80     | 0.72  | 1.666 | 1.5   | 0.284 | 0.412 |
|                   | 300 | 6  | 5  | 83.333 | 0.747 | 1.833 | 1.449 | 0.273 | 0.417 |
|                   | 400 | 6  | 5  | 83.333 | 0.668 | 1.833 | 1.588 | 0.338 | 0.494 |
|                   | 500 | 5  | 4  | 80     | 0.595 | 1.666 | 1.421 | 0.243 | 0.36  |
|                   | 600 | 4  | 3  | 75     | 0.475 | 1.5   | 1.281 | 0.166 | 0.253 |

Çizelge 4.4. SRAP primerlerinin toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bilgi içeriğine ait değerler (devam)

|                  |     |    |    |        |       |       |       |       |       |
|------------------|-----|----|----|--------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                  | 0   | 2  | 1  | 50     | 0.444 | 1.166 | 1.133 | 0.074 | 0.106 |
|                  | 50  | 4  | 3  | 75     | 0.684 | 1.5   | 1.226 | 0.134 | 0.211 |
|                  | 100 | 5  | 4  | 80     | 0.687 | 1.666 | 1.361 | 0.229 | 0.35  |
|                  | 200 | 5  | 4  | 80     | 0.683 | 1.666 | 1.445 | 0.25  | 0.367 |
| <b>Me1 X Em3</b> | 300 | 3  | 2  | 66.666 | 0.581 | 1.333 | 1.196 | 0.108 | 0.163 |
|                  | 400 | 4  | 3  | 75     | 0.532 | 1.5   | 1.297 | 0.182 | 0.274 |
|                  | 500 | 4  | 3  | 75     | 0.684 | 1.5   | 1.321 | 0.189 | 0.282 |
|                  | 600 | 3  | 2  | 66.666 | 0.383 | 1.333 | 1.274 | 0.15  | 0.214 |
|                  | 0   | 5  | 5  | 100    | 0.667 | 1.714 | 1.478 | 0.278 | 0.411 |
|                  | 50  | 6  | 6  | 100    | 0.782 | 1.857 | 1.61  | 0.341 | 0.497 |
|                  | 100 | 5  | 5  | 100    | 0.753 | 1.714 | 1.529 | 0.297 | 0.432 |
|                  | 200 | 5  | 5  | 100    | 0.727 | 1.714 | 1.576 | 0.311 | 0.446 |
| <b>Me3 X Em1</b> | 300 | 6  | 6  | 100    | 0.689 | 1.857 | 1.47  | 0.277 | 0.422 |
|                  | 400 | 5  | 5  | 100    | 0.695 | 1.714 | 1.425 | 0.256 | 0.383 |
|                  | 500 | 7  | 7  | 100    | 0.825 | 2     | 1.678 | 0.381 | 0.56  |
|                  | 600 | 3  | 3  | 100    | 0.653 | 1.428 | 1.266 | 0.16  | 0.239 |
|                  | 0   | 52 | 38 |        |       |       |       |       |       |
|                  | 50  | 59 | 46 |        |       |       |       |       |       |
|                  | 100 | 60 | 43 |        |       |       |       |       |       |
|                  | 200 | 57 | 45 |        |       |       |       |       |       |
|                  | 300 | 54 | 37 |        |       |       |       |       |       |
| <b>Toplam</b>    | 400 | 60 | 42 |        |       |       |       |       |       |
|                  | 500 | 56 | 39 |        |       |       |       |       |       |
|                  | 600 | 44 | 27 |        |       |       |       |       |       |

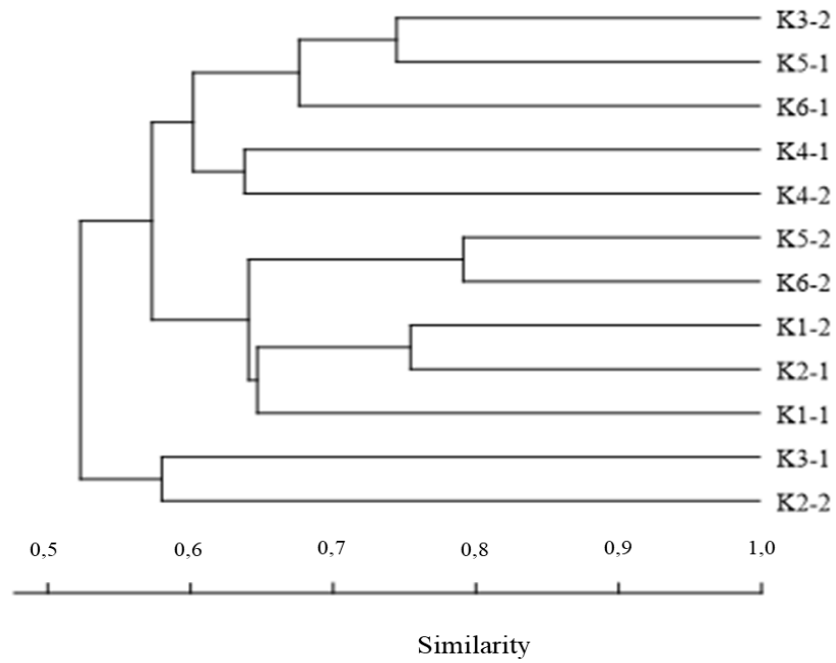
Çizelge 4.4. SRAP primerlerinin toplam skorlanan bant sayısı, polimorfik bant sayısı, % polimorfizm ve polimorfizm bilgi içeriğine ait değerler (devam)

|                 |     |     |     |               |             |             |             |             |             |
|-----------------|-----|-----|-----|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                 | 0   | 5.8 | 4.2 | 74.382±14.149 | 0.575±0.130 | 1.605±0.204 | 1.359±0.119 | 0.212±0.069 | 0.318±0.103 |
|                 | 50  | 6.5 | 5.1 | 76.613±13.941 | 0.519±0.159 | 1.698±0.116 | 1.419±0.120 | 0.245±0.061 | 0.368±0.082 |
|                 | 100 | 6.7 | 4.8 | 73.062±14.527 | 0.522±0.178 | 1.674±0.093 | 1.407±0.064 | 0.241±0.028 | 0.362±0.037 |
| <b>Ortalama</b> | 200 | 6.3 | 5   | 78.871±11.732 | 0.541±0.147 | 1.696±0.062 | 1.405±0.120 | 0.237±0.051 | 0.358±0.061 |
|                 | 300 | 6   | 4.1 | 65.344±21.670 | 0.519±0.177 | 1.560±0.241 | 1.311±0.144 | 0.186±0.081 | 0.282±0.121 |
|                 | 400 | 6.7 | 4.7 | 69.200±20.390 | 0.493±0.170 | 1.628±0.170 | 1.368±0.104 | 0.222±0.060 | 0.334±0.088 |
|                 | 500 | 6.2 | 4.3 | 67.566±22.635 | 0.503±0.199 | 1.586±0.230 | 1.406±0.147 | 0.226±0.082 | 0.332±0.121 |
|                 | 600 | 4.9 | 3   | 61.296±24.760 | 0.429±0.164 | 1.407±0.152 | 1.260±0.096 | 0.151±0.154 | 0.225±0.080 |

**PIC:** polimorfizm bilgi içeriği; **n<sub>a</sub>:** gözlenen allel sayısı; **n<sub>e</sub>:** etkili allel sayısı; **h:** Nei'nin gen dağılımı; **I:** Shannon'un bilgi indeksi

Kontrol grubunun kendi içerisindeki genetik çeşitliliği, diğer bir ifade ile mutajen etkisi olmadan, populasyon içi genetik çeşitliliği belirlemek için yapılan moleküler analizler sonucunda elde edilen dendogram Şekil 4.6'da verilmiştir.

Dendogram incelendiğinde kontrol bitkilerinden oluşan populasyonun öncelikle iki ana gruba ayrıldığı görülmektedir. İlk alt grup sadece iki genotipten oluşurken diğer alt grup kendi içerisinde daha farklı alt gruplara ayrılarak dallanmaktadır. Dendograma göre kontrol grubu içerisinde önemli ölçüde genetik varyasyon bulunduğu tespit edilmiştir.



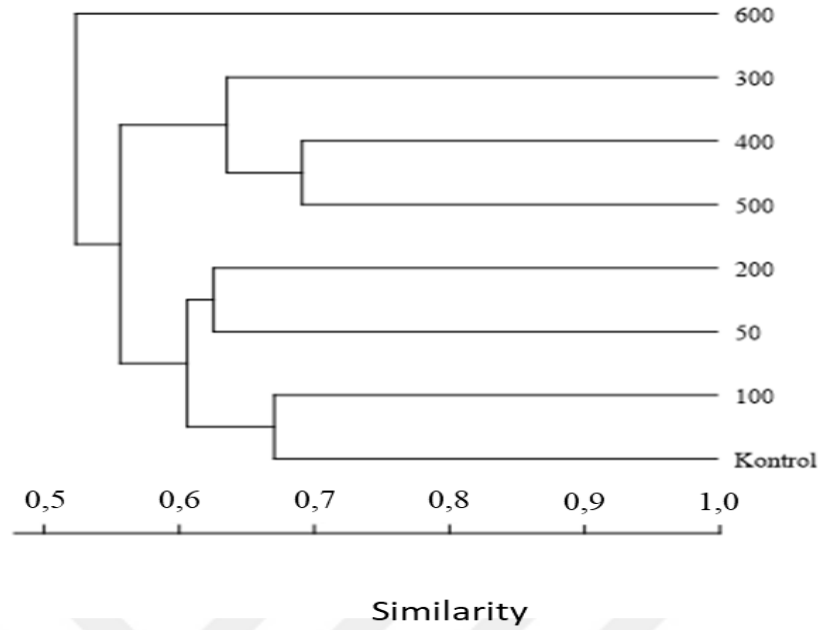
Şekil 4.6. Jaccard benzerlik matrisine dayalı kontrol grubu (K1-1, K1-2, K2-1, K2-2, K3-1, K3-2, K4-1, K4-2, K5-1, K5-2, K6-1 ve K6-2) UPGMA dendrogramı.



Şekil 4.7. Kontrol grubu bitkilerin hasat sonrası görüntüsü.

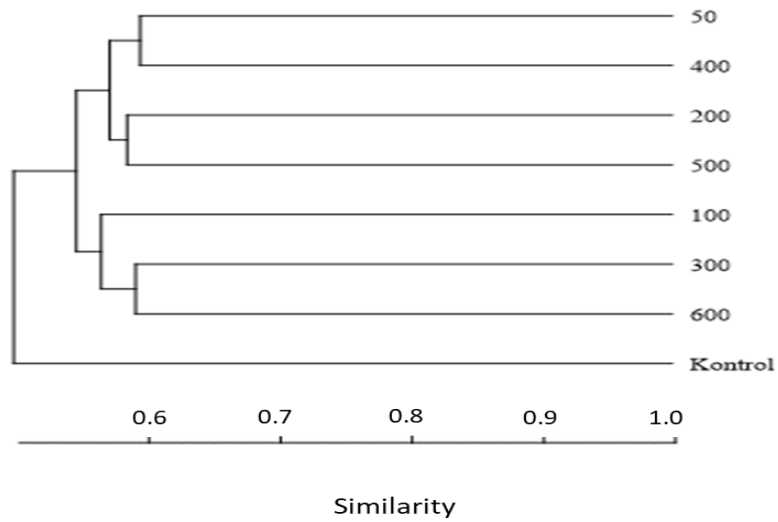
Kontrol ve mutant bitkiler arasındaki moleküler farklılıkların belirlenmesi için yapılan ISSR ve SRAP analizleri sonucunda üretilen markırlar temel alınarak hem ayrı ayrı hem de birleştirilmiş dendrogramlar oluşturulmuştur.

ISSR markır temelli dendrogram (Şekil 4.8) incelendiğinde belirgin üç grup oluştuğu görülmektedir. En yüksek doz olan 600 Gy M1 bitkileri kontrol ve diğer M1 bitkilerinden farklı bir grup oluşturmuştur. İkinci ana grupta diğer yüksek ışın doz grupları (300 Gy, 400 Gy ve 500 Gy) yer almıştır. Üçüncü grupta ise Kontrol grubu ile birlikte 50 Gy, 100 Gy ve 200 Gy grupları toplanmıştır. Benzer sonuç Dhakshanamoorthy ve ark. (2011)'in yaptıkları çalışmada bildirilmiştir. Araştırmacılar RAPD markırları ile oluşturulan dendrogramda 3 grup oluştuğunu ve kontrol grubunun 10 Kr, 15 Kr ve 20 Kr mutant bitkileri ile aynı grupta yer aldığını rapor etmişlerdir. Dhakshanamoorthy ve arkadaşlarının RAPD markırları ile oluşturduğu dendrogramın bu tez çalışmasında ISSR markırları ile oluşturulan dendrogramdan farklı olarak en düşük gama ışın dozuna (5 Kr) maruz kalan mutant bitkiler kontrol ve diğer mutantlardan ayrı bir grup oluşturmuştur.



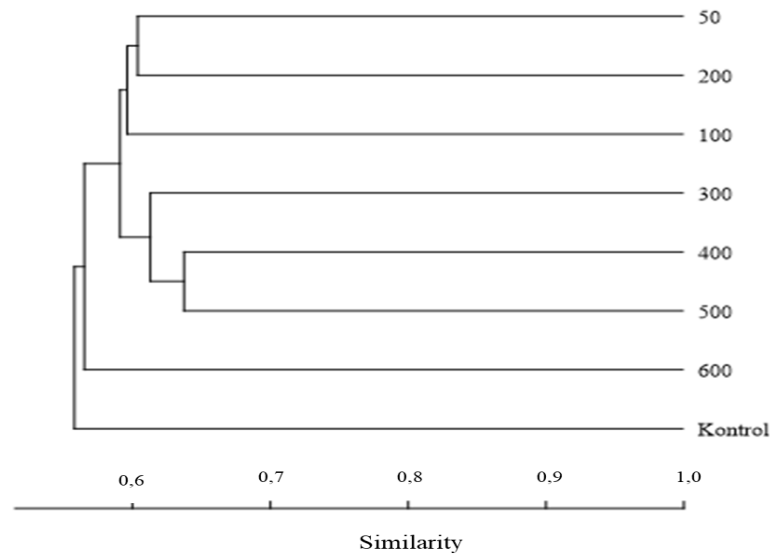
Şekil 4.8. Jaccard benzerlik matrisine dayalı ISSR markırının UPGMA dendrogramı.

SRAP markırı kullanılarak oluşturulan dendogramda (Şekil 4.9) üç ana grup oluşmuştur. Kontrol grubu yalnız başına bir grup oluşturmuşken 100 Gy, 300 Gy ve 600 Gy mutant bitkiler bir grupta 50 Gy, 200 Gy, 400 Gy ve 500 Gy grubuna ait mutant bitkiler diğer bir grupta toplanmıştır. SRAP markırı kontrol bitkileri ve mutant bitkilerini birbirinden ayırabilmiştir.



Şekil 4.9. Jaccard benzerlik matrisine dayalı SRAP markırının UPGMA dendrogramı.

Her iki moleküler analiz tekniğine ait markırlar kullanılarak oluşturulan dendrogramda (Şekil 4.10) kontrol grubu ve 600 Gy ışına tabi tutulmuş mutant bitkilerin birbirine ve diğer tüm doz gruplarına olan uzaklığı belirgin bir biçimde görülmektedir. JACARD benzerlik matrisi temeline dayalı oluşturulan dendrogramda 3 ana grup oluşmuştur; a) kontrol, b) 600 Gy doz mutantları bir grup, c) 3. ana grup iki alt grup oluşturmuş ve 50 Gy, 100Gy ve 200 Gy mutant bitkiler bir alt grupta, 300 Gy, 400 Gy ve 500 Gy mutant bitkiler diğer bir alt grupta toplanmıştır. SRAP ve ISSR markırlarına göre oluşturulan dendrogram kontrol ve gama ışını uygulanmış mutantlar arasındaki genetik mesafenin farklı olduğunu ve 600 Gy grubu mutantların diğer doz gruplarında ayrıldığını göstermektedir. Dhakshanamoorthy ve ark. (2011)'inin *Jatropha curcas* L.'de yaptıkları çalışmada RAPD markırları ile oluşturdukları dendrogramda 3 ana grubun oluştuğunu ve kontrol, 10, 15 ve 20 Kr doz mutantlarının bir grupta, 25 Kr dozunun bir grupta ve 5 Kr doz grubunun diğer bir grupta yer aldığını bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasında her iki markır temelli oluşturulmuş dendrogramda kontrol grubu tüm mutant gruplarından ayrı bir grup oluşturmuş ve mutant grup içerisinde en yüksek doz olan 600 Gy grubu diğer doz mutantlarından ayrılmıştır. Bu sonuç ISSR ve SRAP markırlarının birlikte havuç bitkilerinde mutant bitkileri ayırmada güçlü özellik gösterdiğini kanıtlamaktadır.



Şekil 4.10. Jaccard benzerlik matrisine dayalı SRAP ve ISSR markırlarının UPGMA dendrogramı.





## 5. SONUÇ

Dünya’da olduğu gibi ülkemizde de havuç bitkisi sebze üretim ve tüketimi açısından önemli bir pozisyona sahiptir. Havuç en çok tüketilen bitkiler arasında yer almakta, çeşitli tüketim şekillerinin bulunması ve sağlık açısından önemli bir besin kaynağı olması nedeni ile tüketim hacmi her geçen gün daha da artmaktadır. Ülkemizde de tüm dünyada olduğu gibi turuncu havuç yetiştiriciliği daha popülerdir. Ancak ülkemizde çok çeşitli değerlendirme şekillerinin bulunması nedeni ile mor havuç yetiştiriciliği de yapılmaktadır. Çoğunlukla Konya/Ereğli ve Hatay bölgelerinde yapılan mor havuç üretimindeki materyal o bölgelerdeki yerel popülasyonlardır. Bu popülasyonlarda var olan verim, renk, erken çiçeklenme ve kalite gibi özelliklerin iyileştirilmesi için bu yerel popülasyonların ıslah edilerek pazarda istenen özelliklere sahip çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir.

Bitki ıslahında klasik yöntemler kullanılarak varyasyonların sağlanması ve elde edilen varyasyonlarla yeni çeşit adaylarının belirlenmesi uzun bir süreç gerektirmekteyken mutasyon ıslahı çalışmaları çok daha kısa sürede mutant çeşitlerin elde edilmesine olanak sağlamaktadır. Mutasyon ıslahında çeşitli mutajenik kaynaklar kullanılarak bitkisel materyallerde genetik varyasyonların oluşması amaçlanmaktadır. Mutasyon ıslahı fiziksel ve kimyasal mutajen uygulaması ile sağlanabilmektedir.

Farklı gama ışın dozları uygulanan mor havuç tohumlarında etkili mutajen dozunun belirlenmesi ve kontrol bitkileri ile mutant M1 bitkileri arasındaki morfolojik/moleküler karakterizasyonun belirlenmesi amacıyla bu tez yapılmıştır. Elde edilen sonuçları;

1. Kontrol ve mutant tohumlarının çimlenerek hayatta kalma oranları kullanılarak yapılan analizlerde etkili mutajen dozu 387.5 Gy olarak hesaplanmıştır.

2. Çalışmanın ikinci aşamasında, kontrol ve farklı ışın dozları uygulanmış mutant bitkilere ait kök uzunluğu, kök omuz genişliği ve yeşil aksam uzunluğu ölçülmüş ve gama ışınının havuç morfolojik özelliklerini farklı şekillerde etkilediği belirlenmiştir. Doz oranları arttıkça mutant bitkilerde kök boyu, omuz genişliği ve yeşil aksam uzunluğunun olumsuz yönde etkilendiği saptanmıştır.

3. Kontrol ve farklı doz grupları arasındaki polimorfizmi belirlemek amacıyla SRAP ve ISSR markırları kullanılmıştır. Dokuz SRAP primer kombinasyonu ve 4 ISSR primerinden toplam 100 bant elde edilmiş ve bunun 84 (%84) tanesi polimorfik özellik göstermiştir. SRAP markırında en yüksek bant sayısı (13) Me2 X Em16 primer kombinasyonundan 100 Gy ve 400 Gy dozlarında, en düşük bant sayısı (2) Me1 X Em3 primer kombinasyonunda kontrol grubunda elde edilmiştir. ISSR markırında ise en yüksek bant sayısı (10) 50 Gy ve 100 Gy dozlarında ISSR3 primerinden, en düşük bant sayısı (4) Sola11 primerinden 600 Gy dozunda elde edilmiştir. PIC değerleri her bir doz grubu için ayrı hesaplanmıştır ve SRAP markırları için 0,20 ile 0,83 arasında, ISSR markırları için ise 0,21 ile 0,78 arasında değişim göstermiştir.

4. JACARD benzerlik matrisi temeline dayalı oluşturulan dendrogramda 3 ana grup oluşmuştur; a) kontrol (0), b) 600 Gy doz mutantları bir grup, c) 3. ana grup iki alt grup oluşturmuş ve 50 Gy, 100Gy ve 200 Gy mutant bitkiler bir alt grupta, 300 Gy, 400 Gy ve 500 Gy mutant bitkiler diğer bir alt grupta toplanmıştır.

Bitki ıslah programlarında mutagenik uygulamalar giderek popüler hale gelmiştir. Bu tez çalışmasında hem mor havuç tohumlarında etkili mutajen dozu tespit edilmiş hem de ISSR ve SRAP markır tekniklerinin kontrol ve gama ışını uygulanmış popülasyonlar arasındaki genetik varyasyonu belirlemede başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Al-Safadi, B., Simon, P.W., 1990. The effect of gamma irradiation on the growth and cytology of carrot (*Daucus carota* L.) tissue culture. *Environmental and Experimental Botany*, **39(3)**: 361-371.
- Al-Safadi, B., Simon, P.W., 1996. Gamma irradiation-induced variation in carrots (*Daucus carota* L.). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **121 (4)**: 599-603.
- Alikamanoğlu, S., 2002. Efficiency of the gamma irradiation in the induction of in vitro somatic mutations. *Journal of Cell and Molecular Biology*, **1**: 19-24.
- Anonim., 2017. Mutant Data Base. <https://mvd.iaea.org/>
- Atienzar, F.A., Conradi, M., Evenden, A.J., Jha, A.N., Depledge, M.H., 1999. Qualitative assessment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: comparison of genomic template stability with key fitness parameter in *Daphnia magna* exposed to benzo (a) pyrene, Environ. *Toxicol Chem.* **18**: 2275-2282.
- Bado, S., Rafiri, M.A., El-Achouri, K., Sapey, E., Nielen, S., Ghanim, A.M.A., Forster, B.P., Iaimer, M., 2016. *In vitro* methods for mutation induction in potato (*Solanum tuberosum* L.). *African Journal of Biotechnology*, **15(39)**: 2132-2145.
- Boiteux LS, Fonseca MEN and Simon P.W., 1999. Effects of plant tissue and DNA purification methods on randomly amplified polymorphic DNA based genetic fingerprinting analysis in carrot. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **124**:32-38.
- Bovi, J.E., Valter, A., Neto, J.T., 2003. Use of low doses of cobalt-60 gamma radiation on carrot seeds and their effect on plant growth and yield. *IX International Symposium on Timing of Field Production in Vegetable Crops*. 10.17660/ActaHortic.2003.607.5.
- Dhakshanamoorthy, D., Selvaraj, R., Chidambaram, A.L.A., 2011. Induced mutagenesis in *Jatropha curcas* L. using gamma rays and detection of DNA polymorphism through RAPD marker. *Comptes Rendus Biologies*, **334**: 24-30.
- Dietmar, E.B., Bamedi, A., 2001. Carotenoid esters in vegetables and fruits: a screening with emphasis on beta-cryptoxanthin esters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 2064–2067.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, **12**:13-15.
- El-Khateeb, M.A., Eid, R.A., Mahfouze, H.A., Ashor, H.A., Mabrouk, R.M.S., 2017. Induction of mutation with gamma radiation in *Helichrysum bracteatum* L. and identification of mutants by molecular markers. *Middle East Journal of Agriculture Research*, **6(2)**: 282-293.
- Forkmann, G., ve Martens, S., (2001). Metabolik Engineering and Applications of Flavonoids. *Current Opinion in Biotechnology*, **12**:155-160.
- Forstera, B.P., Shu, Q.Y., 2012. Plant mutagenesis in crop improvement: *Basic terms and applications*. *Plant mutation breeding and biotechnology*, Edited by Q.Y. Shu, B.P. Forster, H. Nakagawa. Chapter I.

- Ghanei, Z., Kazemitabar, S.K., Zarini, H.N., 2013. Effect of gamma irradiation on morphological traits of three varieties of sesame crop in M<sub>1</sub> generation (*Sesamum indicum* L.). *Int. J. Adv. Biol. Biom. Res.*, **1** (12): 1679-1685.
- Gobinath, P., Pavadai, P., 2015. Effect of gamma rays on morphology, growth, yield and biochemical analysis in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *World Scientific News*, **23**: 1-12.
- Gunckel, J.E., Sparrow, A.H., 1961. Ionizing radiation: Biochemical, physiological and morphological aspects of their effects on plants'. In: *Encycl Plant Physiol.* (Ed.) W. Ruhland. *Springer-verlag, Berlin*. **XVI**: 555-611
- Harborne J.B., 1976. A unique pattern of anthocyanins in *Daucus carota* and other Umbelliferae. *Biochem Syst Ecol*, **4**:31–35.
- Harborne, J.B., Williams, C.A., 2000. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, **55**:481–504.
- Human, S., Trikoesoemaningtyas, Sihono, Sungkono, 2010. Development of sorghum tolerant to acid soil using induced mutation with gamma irradiation. *Atom Indonesia*, **36**(1): 11-15.
- Jain, S.M., 2010. Mutagenesis in crop improvement under the climate chang. *Romania Biptechnological Letters*, **15**(2): 88-106.
- Jo, Y.D., Kim, S.H., Hwang, J.E., Kim, Y.S., Kang, H.S., Kim, S.W., Kwon, S.J., Ryu, J., Kim, J.B., Kang, S.Y., 2016. Construction of mutation populations by gamma-ray and carbon beam irradiation in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Hortic. Environ. Biotechnol.* **57**(6): 606-614.
- Khan, S.J., Khan, H.U., Khan, R.D., Iqbal, M.M., Zafar, Y., 2000. Development of sugarcane mutants through *in vitro* mutagenesis. *Pakistan Journal of Niological science*, **3**(7): 1123-1125.
- Khan, M.R., Qureshi, A.S., Hussain, S.A., Ibrahim, A., 2005. Genetic variability induced by gamma irradiation and its modulation with gibberellic acid in M<sub>2</sub> generation of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Pak. J., Bot.*, **37**(2): 285-292.
- Khan, S., Hamza, A., Khan, F., Subhan, M., Khan, A., Shah, I.A., Shakir, S.K., 2017. Effect of gamma irradiation on some growth attributes in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Pakistan Journal of Agricultural Research*, **30** (3): 233-241.
- Kharwal, M.C., Shu, Y., 2009. The role of induced mutations in World food security. In: Shu QY, editor. *Induced Plant Mutations in the Genomics Era*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations: 33-38.
- Kharkwal, M.C., 2012. A brief history of plant mutagenesis. In: Shu QY, Forster BP, Nakagawa H, editors. *Plant Mutation Breeding and Bitechnology*. Wallingford: CABI, 21-30.
- Koes, R.E., Quattrocchio, F., Mol, J.N.M., 1993. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *Bioessays*, **16**:123–132.
- Koornneef, M., 2002. Gene identification: Classical mutagenesis in higher plants. *Molecular Plant Biology*, Edited by Philip M. Gilmartin and Chris Bowler, Oxford University Press.
- Kumar, A., Mishra, M.N., 2004. Effect of gamma-rays, EMS and NMU on germination, seedling vigour, pollen viability and plant survival in M<sub>1</sub> and M<sub>2</sub> generation of Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Adv Plant Sci*, **17**(1): 295-297.

- Kurilich, A.C., Clevidence, B.A., Britz, S.J., Simon, P.W., Novotny, J.A., 2005. Plasma and urine responses are lower for acylated vs nonacylated anthocyanins from raw and cooked purple carrots. *J Agric Food Chem*, **5**:6537–6542.
- Laborda, P., Oliveira, K., Garcia, A., Paterniani, M., Souza, A., 2005. Tropical maize germplasm: What can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers?. *Theor Appl Genet* **111**:1288-1299
- Lai, Y.P., Huang, J., Li, J., Wu, Z.R., 2004. A new approach to random mutagenesis in vitro. *Biotechnological and Bioengineering*, **86(6)**: 622-627.
- Li, G., Quiros, C.F. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica. *Theor Appl Genet*, **103**: 455-461
- Mba, C., 2013. Induced mutations unleash the potentials of plant genetic resources for food and agriculture. *Agronomy*, **3**: 200-231.
- McKevith, B. 2005. A carrot a day to keep cancer away. *Nutrition Bulletin*, **30**: 117–119.
- Montilla E.C., Arzaba M.R., Hillebrand S., Winterhalter P. 2011. Anthocyanin composition of black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) cultivars antonina, beta sweet, deep purple, and purple haze, *J Agric Food Chem* **59**: 3385-3390.
- Morita, R., Kusaba, M., Iida, S., Yamaguchi, H., Nishio, T., Nishimura, M., 2009. Molecular characterization of mutations induced by gamma irradiation in rice. *Genes Genet. Syst.*, **84**: 361-370.
- Naval, M.M., Zuriaga, E., Badenes, M.L., 2013. AFLP analysis of mutations induced by gamma irradiation in ‘Rojo Brillante’ persimmon. *ISHS Acta Horticulturae* **996**. *V International Symposium on Persimmon*. [10.17660/ActaHortic.2013.996.13](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.996.13)
- Nilahayati, Rosmayati, Hanafiah, D.S., Harahap, F., 2016. Gamma irradiation induced chlorophyll and morphological mutation in Kipas Putih soybean. *International Journal of Science: Basic and Applied Research*, **30(3)**: 74-79.
- Olasupo, F.O., Olori, C.O., Forster, B.P., Bado, S., 2016. Mutagenic effects of gamma radiation on eight accessions of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp). *American Journal of Plant Sciences*, **7**: 339-351.
- Pallavi, B., Nivas, S.K., D’Souza, L., Ganapathi, T.R., Hegde, S., 2017. Gamma rays induced variations in seed germination, growth and phenotypic characteristics of *Zinnia elegans* var. Dreamland. *Adv. Hort. Sci.*, **31(4)**: 267-273.
- Pathirana, R., 2011. Plant mutation breeding in agriculture. *CAB Reviews Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources*, **6(032)**: 1-20. DOI: 10.1079/PAVSNR20116032.
- Ross, J.A., Kasum, C.M., 2002. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr*, **22**:19–34.
- Rubatzky, V. E., Quiros, C. F., Simon, P.W., 1999 . Carrots and related vegetable *umbelliferae*, crop production science in horticulture. *CABI Publishing*, **7**:1-8.
- Sharoni, Y., Danilenko, M., Walfisch, H.A., Amir, H., Nahum, A., Ben-Dor, A., Hirsch, K., Khanin, M., Steiner, M., Agemy, L., Zango, G. and Levy, J. 2002. Role of gene regulation in the anticancer activity of carotenoids. *Pure and Applied Chemistry*, **74**: 1469–1477.
- Shereen, A., Ansari, R., Mumtaz, S., Bughio, H.R., Mujtaba, S.M., Shirazi, M.U., Khan, M.A., 2009. Impact of gamma irradiation induced changes on growth and

- physiological responses of rice under saline conditions. *Pak. J. Bot.*, **41(5)**: 2487-2495.
- Shirley, B.W., 1996. Flavonoid biosynthesis: “new” functions for an “old” pathway. *Trends Plant Sci*, **1**:377–382.
- Sianipar, N.F., Ariandana, Maarisit, W., 2015. Detection of gamma-irradiated mutant of rodent tuber (*Typhonium flagelliforme* Lodd.) in vitro culture by RAPD molecular marker. *Procedia Chemistry* **14**: 285-294.
- Sikder, S., Biswas, P., Hazra, P., Akhtar, S., Chattopadhyay, A., Badigannavar, A.M., D’Souza, S.F., 2013. Induction of mutation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by gamma irradiation and EMS. *Indian J. Genet.*, **73(4)**: 392-399.
- Sikora, P., Chawade, A., Larsson, M., Olsson, J., Olsson, O., 2011. Mutagenesis as a tool in plant genetics, functional genomics, and breeding. *International Journal of Plant Genomics, Volume 2011*, Article ID 314829. Doi:10.1155/2011/314829.
- Simon, P.W., 1997. 1997. Plant pigments for color and nutrition. *HortScience*, **32 (1)**: 12-13.
- Simon, P.W., Pollak, L., Clevidence, B., Holden, J., Haytowitz, D., 2009. Plant breeding for human nutrition. *Plant Breeding Reviews* **31**: 325–392.
- Singh, V.N., Banerji, B.K., Dwivedi, A.K., Verma, A.K., 2009. Effect of gamma irradiation on African marigold (*Tagetes erecta* L.) cv. Pusa Narangi Gainda. *J. Hortl. Sci.*, **4(1)**: 36-40.
- Solanki, R.K., Gill, R.K., Verma, P., Singh, S., 2015. Mutation breeding in pulses: An overview. In: Khan S, Kozgar MI. *Breeding of Pulse Crops, 1st ed.* Ludhiana: Kalyani Publishers, 85-103.
- Stavric, B., 1994. Quercetin in our diet: From potent mutagen to probable anticarcinogen. *Clin. Biochem.* **27**:245–248.
- Sulaeman, A., Keeler, L., Giraud, D.W., Taylor, S.L., Wehling, R.L., Driskell, J.A. 2001. Carotenoid content and physicochemical and sensory characteristics of carrot chips deep fried in different oils at several temperatures. *Food and Chemical Toxicology*, **66**: 1257–1264.
- Tüylü, B.A., Sivas, H., İncesu, Z., Ergene, E., 2009. *Genetik*. TC. Anadolu Üniversitesi Yayını No: 1953, Eskişehir.
- Van Harten, A.M., 1998. *Mutation Breeding Theory And Practical Applications*. Cambridge University Press, London, UK.
- Wang, P., Zhang, Y., Zhao, L., Mo, B., Luo, T., 2017. Effect of gamma rays on *Sophora davidii* and detection of DNA polymorphism through ISSR marker. *BioMed research International*, <https://doi.org/10.1155/2017/8576404>
- Xiong, J., Ding, J., Li, Y., 2015. Genome-editing Technologies and their potential application in horticultural crop breeding. *Horticulture Research*. 2:1-10.DOI: 10.1038/hortres.2015.19.
- Yaycı, O., Alikamanoğlu, S., 2012. Induction of salt-tolerant potato (*Solanum tuberosum* L.) mutants with gamma irradiation and characterization of genetic variations via RAPD-PCR analysis. *Turk J Biol.*, **36**: 405-412.
- Yıldız, M., Ekbiç, E., Keles, D., Şensoy, S., Abak, K., 2011. Use of ISSR, SRAP and RAPD markers to assess genetic diversity in Turkish melons. *Scientia Horticulturae*. 130: 349-353

- Zaka, R., Chenal, C., Misset, M.T., 2004. Effect of low doses of short-term gamma radiation on growth and development through two generations of *Pisum sativum*. *Sci Total Environ.* **320**: 9-121.
- Ziegler, R.G. 1989. A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer, *Journal of Nutrition*, **119**: 116–122.







## EKLER

### EK-1. Morfolojik ölçümler

| Bitki No | Doz     | Kök Boyu (Cm) | Omuz Genişliği (Mm) | Omuz Genişliği (Cm) | Bitki Yeşil Aksam (cm) |
|----------|---------|---------------|---------------------|---------------------|------------------------|
| 1        | Kontrol | 24.5          | 54.68               | 5.468               | 63                     |
| 2        | Kontrol | 19.5          | 42.75               | 4.275               | 55                     |
| 3        | Kontrol | 17            | 54.03               | 5.403               | 50                     |
| 4        | Kontrol | 18            | 47.55               | 4.755               | 53                     |
| 5        | Kontrol | 21            | 43.92               | 4.392               | 57                     |
| 6        | Kontrol | 20.5          | 54.46               | 5.446               | 48.5                   |
| 7        | Kontrol | 20.4          | 43.67               | 4.367               | 53                     |
| 8        | Kontrol | 16            | 38.34               | 3.834               | 55                     |
| 9        | Kontrol | 23.5          | 52.16               | 5.216               | 52                     |
| 10       | Kontrol | 17            | 59.75               | 5.975               | 62                     |
| 11       | Kontrol | 21.5          | 57.73               | 5.773               | 68                     |
| 12       | Kontrol | 23            | 47.98               | 4.798               | 50                     |
| 13       | Kontrol | 19            | 52.59               | 5.259               | 50                     |
| 14       | Kontrol | 19            | 52.12               | 5.212               | 50                     |
| 15       | Kontrol | 21            | 54.07               | 5.407               | 63                     |
| 16       | Kontrol | 16            | 49.35               | 4.935               | 48                     |
| 17       | Kontrol | 16            | 51.99               | 5.199               | 57                     |
| 18       | Kontrol | 13            | 50.35               | 5.035               | 69                     |
| 19       | Kontrol | 22            | 71.49               | 7.149               | 66                     |
| 20       | Kontrol | 18            | 56.31               | 5.631               | 64                     |
| 21       | Kontrol | 16            | 52.64               | 5.264               | 60                     |
| 22       | Kontrol | 20            | 49.51               | 4.951               | 58                     |
| 23       | Kontrol | 18.5          | 66.47               | 6.647               | 48                     |
| 24       | Kontrol | 19            | 56.51               | 5.651               | 56                     |
| 25       | Kontrol | 19            | 58.41               | 5.841               | 50                     |
| 26       | Kontrol | 23            | 70.57               | 7.057               | 65                     |
| 27       | Kontrol | 18            | 63.65               | 6.365               | 61                     |
| 28       | Kontrol | 16            | 53                  | 5.3                 | 43                     |
| 29       | Kontrol | 16.3          | 33.4                | 3.34                | 50                     |
| 30       | Kontrol | 21            | 59.81               | 5.981               | 52                     |
| 31       | Kontrol | 19            | 43.51               | 4.351               | 54                     |
| 32       | Kontrol | 22            | 41.02               | 4.102               | 56                     |
| 33       | Kontrol | 16.5          | 33.3                | 3.33                | 43                     |
| 34       | Kontrol | 15            | 45.3                | 4.53                | 60                     |
| 35       | Kontrol | 19            | 43.92               | 4.392               | 50                     |

**EK-1. Morfolojik ölçümler (devam)**

|    |         |      |       |       |      |
|----|---------|------|-------|-------|------|
| 36 | Kontrol | 16   | 51.48 | 5.148 | 63   |
| 37 | Kontrol | 18   | 51.54 | 5.154 | 59   |
| 38 | Kontrol | 18   | 58.79 | 5.879 | 62   |
| 39 | Kontrol | 24   | 77.36 | 7.736 | 63   |
| 40 | Kontrol | 19   | 57    | 5.7   | 65   |
| 41 | Kontrol | 17   | 39.5  | 3.95  | 56   |
| 42 | Kontrol | 18.5 | 71.27 | 7.127 | 53   |
| 43 | Kontrol | 17   | 38.82 | 3.882 | 55   |
| 44 | Kontrol | 20   | 43.96 | 4.396 | 55   |
| 45 | Kontrol | 17   | 51.44 | 5.144 | 55   |
| 46 | Kontrol | 21   | 42.73 | 4.273 | 61   |
| 47 | Kontrol | 23   | 53.75 | 5.375 | 46   |
| 48 | Kontrol | 19   | 42.29 | 4.229 | 55   |
| 49 | Kontrol | 14   | 46.78 | 4.678 | 68.5 |
| 50 | Kontrol | 18   | 66.61 | 6.661 | 57   |
| 51 | Kontrol | 16   | 38.74 | 3.874 | 50   |
| 52 | Kontrol | 18   | 47.21 | 4.721 | 66   |
| 53 | Kontrol | 16   | 53.07 | 5.307 | 65   |
| 54 | Kontrol | 16.5 | 42.76 | 4.276 | 65   |
| 55 | Kontrol | 18   | 71.72 | 7.172 | 55   |
| 56 | Kontrol | 21   | 48.94 | 4.894 | 68   |
| 57 | Kontrol | 16   | 48.94 | 4.894 | 67.5 |
| 58 | Kontrol | 22   | 68.73 | 6.873 | 50   |
| 59 | Kontrol | 19   | 47.66 | 4.766 | 61   |
| 60 | Kontrol | 17   | 49.24 | 4.924 | 44   |
| 1  | 50      | 22   | 50.34 | 5.034 | 54   |
| 2  | 50      | 28   | 70.97 | 7.097 | 82.2 |
| 3  | 50      | 21.5 | 67.16 | 6.716 | 75.4 |
| 4  | 50      | 21.5 | 64.8  | 6.48  | 68.8 |
| 5  | 50      | 15.4 | 52.05 | 5.205 | 57   |
| 7  | 50      | 24.2 | 71.35 | 7.135 | 21.9 |
| 8  | 50      | 22.3 | 50.83 | 5.083 | 64   |
| 9  | 50      | 16.6 | 49.72 | 4.972 | 65.8 |
| 10 | 50      | 16.3 | 49.55 | 4.955 | 62   |
| 11 | 50      | 17.2 | 44.02 | 4.402 | 58.4 |
| 12 | 50      | 16.4 | 42.81 | 4.281 | 58.5 |
| 13 | 50      | 16.5 | 78.03 | 7.803 | 75   |
| 14 | 50      | 25.3 | 66.72 | 6.672 | 58   |
| 15 | 50      | 20   | 49.38 | 4.938 | 63   |
| 16 | 50      | 19.5 | 49.43 | 4.943 | 67.5 |

**EK-1. Morfolojik ölçümler (devam)**

|    |    |      |       |       |      |
|----|----|------|-------|-------|------|
| 17 | 50 | 22   | 45.88 | 4.588 | 55   |
| 18 | 50 | 23   | 82.22 | 8.222 | 65   |
| 19 | 50 | 20   | 67.03 | 6.703 | 57   |
| 20 | 50 | 19.5 | 68.96 | 6.896 | 67.5 |
| 21 | 50 | 23   | 70.71 | 7.071 | 70   |
| 22 | 50 | 17.4 | 58.72 | 5.872 | 76.2 |
| 23 | 50 | 19.8 | 51.81 | 5.181 | 68   |
| 24 | 50 | 24.4 | 72.99 | 7.299 | 60   |
| 25 | 50 | 22.3 | 56.87 | 5.687 | 22.8 |
| 26 | 50 | 18.2 | 43.72 | 4.372 | 64.2 |
| 27 | 50 | 24   | 63.61 | 6.361 | 61   |
| 28 | 50 | 19   | 46.37 | 4.637 | 69   |
| 29 | 50 | 24.7 | 43.18 | 4.318 | 67   |
| 30 | 50 | 20   | 56.88 | 5.688 | 65   |
| 31 | 50 | 14.8 | 75.9  | 7.59  | 66.6 |
| 32 | 50 | 20.4 | 52.09 | 5.209 | 61   |
| 33 | 50 | 22.5 | 47.25 | 4.725 | 55   |
| 34 | 50 | 22.3 | 50.5  | 5.05  | 59.8 |
| 35 | 50 | 25   | 67.49 | 6.749 | 63   |
| 36 | 50 | 28   | 46    | 4.6   | 58.9 |
| 37 | 50 | 22.7 | 63.06 | 6.306 | 60   |
| 38 | 50 | 22.9 | 57.3  | 5.73  | 61.7 |
| 39 | 50 | 20.5 | 64.97 | 6.497 | 65.3 |
| 40 | 50 | 24   | 62.48 | 6.248 | 55   |
| 41 | 50 | 22.5 | 54.49 | 5.449 | 62.9 |
| 42 | 50 | 22.5 | 50.98 | 5.098 | 67   |
| 43 | 50 | 27.4 | 65.84 | 6.584 | 56.2 |
| 44 | 50 | 18.3 | 53.86 | 5.386 | 50   |
| 45 | 50 | 14.5 | 58.34 | 5.834 | 58.6 |
| 46 | 50 | 17.5 | 43.78 | 4.378 | 63   |
| 47 | 50 | 24.5 | 77.76 | 7.776 | 64   |
| 48 | 50 | 25.5 | 69.77 | 6.977 | 65.5 |
| 49 | 50 | 16   | 83.68 | 8.368 | 63   |
| 50 | 50 | 22.8 | 55.18 | 5.518 | 62   |
| 51 | 50 | 22.4 | 52.94 | 5.294 | 68.1 |
| 52 | 50 | 22.4 | 45.41 | 4.541 | 62   |
| 53 | 50 | 23.9 | 78.5  | 7.85  | 60   |
| 54 | 50 | 22   | 52.38 | 5.238 | 69   |
| 55 | 50 | 17   | 54.24 | 5.424 | 59.4 |
| 56 | 50 | 27   | 81.66 | 8.166 | 59   |

**EK-1. Morfolojik ölçümler (devam)**

|    |     |      |       |       |      |
|----|-----|------|-------|-------|------|
| 57 | 50  | 23   | 51.88 | 5.188 | 58   |
| 58 | 50  | 20   | 43.31 | 4.331 | 50   |
| 59 | 50  | 19   | 69.5  | 6.95  | 50   |
| 60 | 50  | 23.5 | 68.5  | 6.85  | 65   |
| 1  | 100 | 22.3 | 47    | 4.7   | 61   |
| 2  | 100 | 25   | 67.69 | 6.769 | 65   |
| 3  | 100 | 22   | 60.85 | 6.085 | 74.5 |
| 4  | 100 | 23.7 | 78.55 | 7.855 | 59.4 |
| 5  | 100 | 26.8 | 57.43 | 5.743 | 73   |
| 6  | 100 | 25   | 59.76 | 5.976 | 55   |
| 7  | 100 | 28.3 | 62.53 | 6.253 | 59   |
| 8  | 100 | 22   | 63.29 | 6.329 | 66.5 |
| 9  | 100 | 24.7 | 83.94 | 8.394 | 55   |
| 10 | 100 | 24.2 | 54.18 | 5.418 | 56   |
| 11 | 100 | 24.2 | 67.32 | 6.732 | 66.2 |
| 12 | 100 | 23.8 | 58.85 | 5.885 | 55   |
| 13 | 100 | 22   | 51.47 | 5.147 | 56   |
| 14 | 100 | 25   | 55.58 | 5.558 | 57   |
| 15 | 100 | 24.2 | 51.79 | 5.179 | 88.5 |
| 16 | 100 | 20.5 | 45.94 | 4.594 | 57   |
| 17 | 100 | 27.5 | 72.7  | 7.27  | 55   |
| 18 | 100 | 24.7 | 49.7  | 4.97  | 53   |
| 19 | 100 | 23   | 55.52 | 5.552 | 72   |
| 20 | 100 | 24.8 | 53.3  | 5.33  | 59   |
| 21 | 100 | 20.3 | 51    | 5.1   | 55.5 |
| 22 | 100 | 24.2 | 61.91 | 6.191 | 65   |
| 23 | 100 | 17.8 | 60.55 | 6.055 | 60.5 |
| 24 | 100 | 28.2 | 76.54 | 7.654 | 53   |
| 25 | 100 | 18.7 | 59    | 5.9   | 64.8 |
| 26 | 100 | 15.8 | 51.01 | 5.101 | 57   |
| 27 | 100 | 22   | 49.24 | 4.924 | 70   |
| 28 | 100 | 20.5 | 41.38 | 4.138 | 67.4 |
| 29 | 100 | 24   | 71.33 | 7.133 | 66   |
| 30 | 100 | 16.3 | 45.07 | 4.507 | 59.5 |
| 31 | 100 | 12   | 61.98 | 6.198 | 63.7 |
| 32 | 100 | 19.3 | 49.59 | 4.959 | 72.6 |
| 33 | 100 | 20   | 45.4  | 4.54  | 70   |
| 34 | 100 | 19.8 | 50.65 | 5.065 | 71.3 |
| 35 | 100 | 19   | 38.46 | 3.846 | 43.3 |
| 36 | 100 | 22   | 57.21 | 5.721 | 64.7 |

**EK-1. Morfolojik ölçümler (devam)**

|    |     |      |       |       |      |
|----|-----|------|-------|-------|------|
| 37 | 100 | 22.7 | 48.42 | 4.842 | 77.4 |
| 38 | 100 | 22   | 45.32 | 4.532 | 60.8 |
| 39 | 100 | 23.8 | 55.78 | 5.578 | 77   |
| 40 | 100 | 18   | 30.35 | 3.035 | 40.3 |
| 41 | 100 | 23   | 51.38 | 5.138 | 75   |
| 42 | 100 | 21   | 44.29 | 4.429 | 61   |
| 43 | 100 | 23.5 | 44.43 | 4.443 | 61   |
| 44 | 100 | 25   | 54.34 | 5.434 | 21.6 |
| 45 | 100 | 23.7 | 59.8  | 5.98  | 64.7 |
| 46 | 100 | 22.8 | 51.94 | 5.194 | 59.5 |
| 47 | 100 | 18.8 | 52.49 | 5.249 | 56   |
| 48 | 100 | 20.7 | 47.46 | 4.746 | 57   |
| 49 | 100 | 25   | 58.8  | 5.88  | 77.5 |
| 50 | 100 | 23.8 | 60.73 | 6.073 | 77.8 |
| 51 | 100 | 21.5 | 56.21 | 5.621 | 73   |
| 52 | 100 | 25.5 | 51.4  | 5.14  | 73   |
| 53 | 100 | 17.8 | 49.27 | 4.927 | 67.5 |
| 54 | 100 | 23.7 | 61.79 | 6.179 | 61   |
| 55 | 100 | 20.8 | 48.32 | 4.832 | 56.5 |
| 56 | 100 | 25   | 57.67 | 5.767 | 57   |
| 57 | 100 | 23.4 | 52.79 | 5.279 | 50   |
| 58 | 100 | 25.3 | 57.14 | 5.714 | 60   |
| 59 | 100 | 20.3 | 49.77 | 4.977 | 67.5 |
| 60 | 100 | 22.5 | 38.87 | 3.887 | 58.5 |
| 1  | 200 | 29   | 70.44 | 7.044 | 61   |
| 2  | 200 | 18.5 | 40.22 | 4.022 | 43.5 |
| 3  | 200 | 20.5 | 44.68 | 4.468 | 25.5 |
| 4  | 200 | 21   | 81.6  | 8.16  | 64   |
| 5  | 200 | 29   | 49.74 | 4.974 | 63   |
| 6  | 200 | 19.5 | 59.6  | 5.96  | 57.4 |
| 7  | 200 | 20.3 | 38.37 | 3.837 | 53   |
| 8  | 200 | 21   | 56.37 | 5.637 | 72.5 |
| 9  | 200 | 20.4 | 43.83 | 4.383 | 59.5 |
| 10 | 200 | 17   | 45.13 | 4.513 | 62.9 |
| 11 | 200 | 18.8 | 61.35 | 6.135 | 67.5 |
| 12 | 200 | 16   | 51.34 | 5.134 | 62.5 |
| 13 | 200 | 17.6 | 42.74 | 4.274 | 61   |
| 14 | 200 | 21.5 | 39.19 | 3.919 | 62   |
| 15 | 200 | 18   | 26.14 | 2.614 | 53   |
| 16 | 200 | 17   | 35.84 | 3.584 | 63.5 |

**EK-1. Morfolojik ölçümler (devam)**

|    |     |      |       |       |      |
|----|-----|------|-------|-------|------|
| 17 | 200 | 25.5 | 61.68 | 6.168 | 66   |
| 18 | 200 | 19   | 66.12 | 6.612 | 62   |
| 19 | 200 | 22.3 | 49.24 | 4.924 | 66   |
| 20 | 200 | 16   | 35.31 | 3.531 | 69   |
| 21 | 200 | 14   | 29.08 | 2.908 | 56   |
| 22 | 200 | 16   | 45.45 | 4.545 | 69.8 |
| 23 | 200 | 20   | 45.41 | 4.541 | 66.8 |
| 24 | 200 | 23   | 41.82 | 4.182 | 65.7 |
| 25 | 200 | 24.7 | 61.91 | 6.191 | 62.7 |
| 26 | 200 | 23.5 | 66.39 | 6.639 | 63   |
| 27 | 200 | 19.5 | 49.47 | 4.947 | 71.8 |
| 28 | 200 | 19.5 | 32.02 | 3.202 | 55   |
| 29 | 200 | 20.5 | 54.12 | 5.412 | 69.2 |
| 30 | 200 | 23   | 53.27 | 5.327 | 62.5 |
| 31 | 200 | 19   | 43.5  | 4.35  | 50   |
| 32 | 200 | 19.5 | 48.02 | 4.802 | 65.5 |
| 33 | 200 | 22   | 53.03 | 5.303 | 63   |
| 34 | 200 | 19.5 | 44.75 | 4.475 | 55   |
| 35 | 200 | 16   | 43.96 | 4.396 | 71   |
| 36 | 200 | 16   | 52.25 | 5.225 | 62   |
| 37 | 200 | 19   | 27.87 | 2.787 | 57   |
| 38 | 200 | 20   | 29.41 | 2.941 | 59   |
| 39 | 200 | 17.5 | 51.54 | 5.154 | 57   |
| 40 | 200 | 13.5 | 25.29 | 2.529 | 57   |
| 41 | 200 | 15   | 48.3  | 4.83  | 60   |
| 42 | 200 | 20   | 66.09 | 6.609 | 71   |
| 44 | 200 | 20.5 | 57.19 | 5.719 | 65   |
| 45 | 200 | 18   | 49.4  | 4.94  | 71   |
| 46 | 200 | 18.5 | 38.12 | 3.812 | 60   |
| 47 | 200 | 15.5 | 46.28 | 4.628 | 61.5 |
| 48 | 200 | 17.7 | 48.79 | 4.879 | 70   |
| 49 | 200 | 18   | 49.5  | 4.95  | 53   |
| 50 | 200 | 17   | 42.21 | 4.221 | 69   |
| 51 | 200 | 12.5 | 38.3  | 3.83  | 56.3 |
| 52 | 200 | 20.3 | 42.35 | 4.235 | 58   |
| 53 | 200 | 17   | 62.53 | 6.253 | 79.3 |
| 54 | 200 | 22   | 38.97 | 3.897 | 55   |
| 55 | 200 | 23   | 46.75 | 4.675 | 55   |
| 56 | 200 | 18   | 30.84 | 3.084 | 48   |
| 57 | 200 | 19.5 | 50.02 | 5.002 | 70.5 |

**EK-1. Morfolojik ölçümler (devam)**

|    |     |      |       |       |      |
|----|-----|------|-------|-------|------|
| 58 | 200 | 15.5 | 59.5  | 5.95  | 71.5 |
| 59 | 200 | 18.5 | 53.25 | 5.325 | 62   |
| 60 | 200 | 16.5 | 34.67 | 3.467 | 68   |
| 1  | 300 | 22   | 64.26 | 6.426 | 65   |
| 2  | 300 | 20.5 | 46.23 | 4.623 | 49.8 |
| 3  | 300 | 19   | 61.27 | 6.127 | 58   |
| 4  | 300 | 21.3 | 50.37 | 5.037 | 67.5 |
| 5  | 300 | 24   | 44.92 | 4.492 | 65   |
| 6  | 300 | 23   | 83.03 | 8.303 | 61   |
| 7  | 300 | 22.5 | 64.52 | 6.452 | 52   |
| 8  | 300 | 15   | 53.33 | 5.333 | 58.5 |
| 9  | 300 | 10   | 58.6  | 5.86  | 50   |
| 10 | 300 | 13   | 42.73 | 4.273 | 62   |
| 11 | 300 | 19   | 38.84 | 3.884 | 55   |
| 12 | 300 | 19   | 46.81 | 4.681 | 38   |
| 13 | 300 | 14.3 | 30.09 | 3.009 | 63   |
| 14 | 300 | 21.5 | 74.18 | 7.418 | 69   |
| 15 | 300 | 18.4 | 51.9  | 5.19  | 53   |
| 16 | 300 | 20.5 | 31.84 | 3.184 | 31.5 |
| 17 | 300 | 15.5 | 57.21 | 5.721 | 50   |
| 18 | 300 | 21.5 | 65.56 | 6.556 | 61.5 |
| 19 | 300 | 16.5 | 63.95 | 6.395 | 46.5 |
| 20 | 300 | 18   | 33.19 | 3.319 | 53   |
| 21 | 300 | 24.5 | 50.51 | 5.051 | 53   |
| 22 | 300 | 16.5 | 46.21 | 4.621 | 50   |
| 23 | 300 | 13.5 | 79.47 | 7.947 | 68   |
| 24 | 300 | 30   | 73.62 | 7.362 | 59   |
| 25 | 300 | 23   | 52.76 | 5.276 | 59.5 |
| 26 | 300 | 14.5 | 61.28 | 6.128 | 59   |
| 27 | 300 | 6    | 44.29 | 4.429 | 90   |
| 28 | 300 | 12   | 47.67 | 4.767 | 57   |
| 29 | 300 | 14.5 | 47.05 | 4.705 | 53   |
| 30 | 300 | 15.5 | 58.12 | 5.812 | 57.6 |
| 31 | 300 | 9.5  | 35.17 | 3.517 | 64   |
| 32 | 300 | 17.5 | 50.18 | 5.018 | 50   |
| 33 | 300 | 12.5 | 28.14 | 2.814 | 41.5 |
| 34 | 300 | 10   | 27.92 | 2.792 | 48   |
| 35 | 300 | 12.5 | 15.55 | 1.555 | 50   |
| 36 | 300 | 6.5  | 22.59 | 2.259 | 57   |
| 37 | 300 | 10.5 | 31.14 | 3.114 | 55   |

**EK-1. Morfolojik ölçümler (devam)**

|    |     |      |       |       |      |
|----|-----|------|-------|-------|------|
| 38 | 300 | 5    | 25.5  | 2.55  | 50   |
| 39 | 300 | 17   | 29.91 | 2.991 | 44   |
| 40 | 300 | 12   | 38.45 | 3.845 | 72   |
| 41 | 300 | 17   | 29.15 | 2.915 | 49   |
| 42 | 300 | 9    | 24.1  | 2.41  | 35   |
| 43 | 300 | 20   | 20.04 | 2.004 | 35   |
| 1  | 400 | 19   | 55.03 | 5.503 | 50   |
| 2  | 400 | 17.5 | 54.64 | 5.464 | 41   |
| 3  | 400 | 19   | 48.64 | 4.864 | 55   |
| 4  | 400 | 18   | 34.45 | 3.445 | 46   |
| 5  | 400 | 12   | 39.95 | 3.995 | 37   |
| 6  | 400 | 17   | 37.76 | 3.776 | 58   |
| 7  | 400 | 15.5 | 55.29 | 5.529 | 50   |
| 8  | 400 | 13.5 | 28.47 | 2.847 | 50   |
| 9  | 400 | 10   | 20.33 | 2.033 | 45   |
| 10 | 400 | 12.5 | 35    | 3.5   | 59   |
| 11 | 400 | 17   | 45.94 | 4.594 | 46   |
| 12 | 400 | 16.5 | 49.93 | 4.993 | 55   |
| 13 | 400 | 13   | 31.03 | 3.103 | 35   |
| 14 | 400 | 16   | 57.9  | 5.79  | 50   |
| 15 | 400 | 16   | 46.94 | 4.694 | 61.5 |
| 16 | 400 | 20   | 39.4  | 3.94  | 56   |
| 17 | 400 | 13   | 26.51 | 2.651 | 53   |
| 18 | 400 | 19.5 | 45.85 | 4.585 | 69.5 |
| 19 | 400 | 16   | 63    | 6.3   | 64.5 |
| 20 | 400 | 19   | 64.52 | 6.452 | 53   |
| 21 | 400 | 20   | 49.03 | 4.903 | 55   |
| 22 | 400 | 18.5 | 27.2  | 2.72  | 48   |
| 23 | 400 | 15   | 59.63 | 5.963 | 53   |
| 24 | 400 | 15   | 56.36 | 5.636 | 57   |
| 25 | 400 | 14   | 32.17 | 3.217 | 47   |
| 26 | 400 | 20   | 68.64 | 6.864 | 61   |
| 27 | 400 | 18   | 44.74 | 4.474 | 69   |
| 28 | 400 | 16   | 30.22 | 3.022 | 53   |
| 29 | 400 | 20.5 | 42.97 | 4.297 | 48   |
| 30 | 400 | 18   | 34.5  | 3.45  | 48   |
| 31 | 400 | 12.5 | 54.04 | 5.404 | 43   |
| 32 | 400 | 13   | 33.8  | 3.38  | 58   |
| 33 | 400 | 14.5 | 65.12 | 6.512 | 53   |
| 34 | 400 | 14.5 | 38.23 | 3.823 | 48.5 |



**EK-1. Morfolojik ölçümler (devam)**

|    |     |      |       |       |      |
|----|-----|------|-------|-------|------|
| 35 | 400 | 13   | 26.4  | 2.64  | 49   |
| 36 | 400 | 13   | 32.28 | 3.228 | 42   |
| 37 | 400 | 23   | 37.71 | 3.771 | 48   |
| 38 | 400 | 24   | 36.83 | 3.683 | 49.7 |
| 39 | 400 | 21.7 | 50.17 | 5.017 | 46.5 |
| 40 | 400 | 22.7 | 48.45 | 4.845 | 60.5 |
| 41 | 400 | 26.7 | 57.81 | 5.781 | 59   |
| 42 | 400 | 28.5 | 55.8  | 5.58  | 57.5 |
| 43 | 400 | 22.5 | 54.32 | 5.432 | 52.5 |
| 44 | 400 | 25.5 | 46.35 | 4.635 | 50   |
| 45 | 400 | 21.2 | 26.85 | 2.685 | 47.5 |
| 46 | 400 | 19.3 | 56.02 | 5.602 | 50   |
| 47 | 400 | 10   | 32.73 | 3.273 | 43.7 |
| 48 | 400 | 14.7 | 22.53 | 2.253 | 31   |
| 49 | 400 | 21   | 82.68 | 8.268 | 56   |
| 50 | 400 | 20.5 | 55.95 | 5.595 | 54.5 |
| 51 | 400 | 21   | 54.72 | 5.472 | 56   |
| 52 | 400 | 19.7 | 30.25 | 3.025 | 25   |
| 53 | 400 | 12   | 23.14 | 2.314 | 49   |
| 54 | 400 | 18.3 | 63.95 | 6.395 | 49.5 |
| 55 | 400 | 13.5 | 54.5  | 5.45  | 53.5 |
| 56 | 400 | 10.7 | 47.63 | 4.763 | 46   |
| 57 | 400 | 22.7 | 52.08 | 5.208 | 48   |
| 58 | 400 | 21.7 | 50.4  | 5.04  | 60   |
| 59 | 400 | 16.2 | 22.78 | 2.278 | 55   |
| 60 | 400 | 16   | 43.44 | 4.344 | 55   |
| 1  | 500 | 13.3 | 55.85 | 5.585 | 59   |
| 2  | 500 | 13.2 | 37.15 | 3.715 | 50   |
| 3  | 500 | 12.3 | 32.43 | 3.243 | 57   |
| 4  | 500 | 19   | 51.38 | 5.138 | 69.2 |
| 5  | 500 | 16.8 | 38.52 | 3.852 | 42.4 |
| 6  | 500 | 17.2 | 76.59 | 7.659 | 57.6 |
| 7  | 500 | 19   | 66.48 | 6.648 | 21.4 |
| 8  | 500 | 14.2 | 32.37 | 3.237 | 54.7 |
| 9  | 500 | 19.3 | 75.69 | 7.569 | 67   |
| 10 | 500 | 12.5 | 57.63 | 5.763 | 56.3 |
| 11 | 500 | 19   | 58.64 | 5.864 | 56.3 |
| 12 | 500 | 15.8 | 45.53 | 4.553 | 52.2 |
| 13 | 500 | 19.8 | 71.06 | 7.106 | 58.3 |
| 14 | 500 | 20.4 | 31.6  | 3.16  | 59.2 |

**EK-1. Morfolojik ölçümler (devam)**

|    |     |      |       |       |      |
|----|-----|------|-------|-------|------|
| 15 | 500 | 9.2  | 22.61 | 2.261 | 50   |
| 16 | 500 | 14.5 | 17.39 | 1.739 | 32   |
| 17 | 500 | 13.2 | 41.29 | 4.129 | 50   |
| 18 | 500 | 16   | 48.58 | 4.858 | 50   |
| 19 | 500 | 14.4 | 35.4  | 3.54  | 41   |
| 20 | 500 | 16.2 | 42.94 | 4.294 | 44.3 |
| 21 | 500 | 18.5 | 43.68 | 4.368 | 40   |
| 22 | 500 | 12.6 | 51.93 | 5.193 | 45.3 |
| 23 | 500 | 21.2 | 46.92 | 4.692 | 56.3 |
| 24 | 500 | 16.5 | 59.63 | 5.963 | 47.2 |
| 25 | 500 | 22   | 48.98 | 4.898 | 57.6 |
| 26 | 500 | 17.4 | 54.84 | 5.484 | 57.5 |
| 27 | 500 | 16.3 | 48.22 | 4.822 | 56.2 |
| 28 | 500 | 11.5 | 37.51 | 3.751 | 47.6 |
| 29 | 500 | 13   | 61.42 | 6.142 | 48.8 |
| 30 | 500 | 13.6 | 36.62 | 3.662 | 54.8 |
| 31 | 500 | 12.5 | 48.87 | 4.887 | 42.1 |
| 32 | 500 | 16.7 | 34.09 | 3.409 | 42.5 |
| 33 | 500 | 25.5 | 64.1  | 6.41  | 41.3 |
| 34 | 500 | 14.5 | 37.64 | 3.764 | 43.8 |
| 35 | 500 | 14.6 | 18.78 | 1.878 | 42.6 |
| 36 | 500 | 16.5 | 30.44 | 3.044 | 42.1 |
| 37 | 500 | 16.3 | 25.39 | 2.539 | 34.8 |
| 38 | 500 | 13.6 | 60.5  | 6.05  | 48.4 |
| 39 | 500 | 15.4 | 36.09 | 3.609 | 46.3 |
| 1  | 600 | 19   | 86.28 | 8.628 | 59   |
| 2  | 600 | 16.3 | 39.86 | 3.986 | 9.8  |
| 3  | 600 | 18.5 | 50.82 | 5.082 | 53   |
| 4  | 600 | 19.3 | 66.53 | 6.653 | 47.6 |
| 5  | 600 | 24.2 | 51.57 | 5.157 | 54.3 |
| 6  | 600 | 23.5 | 48.2  | 4.82  | 48   |
| 7  | 600 | 16.4 | 35.38 | 3.538 | 55.3 |
| 8  | 600 | 14.8 | 43.13 | 4.313 | 40.2 |
| 9  | 600 | 22.2 | 40.63 | 4.063 | 49.8 |
| 10 | 600 | 15.8 | 51.8  | 5.18  | 45.8 |
| 11 | 600 | 9.4  | 46.21 | 4.621 | 50.3 |
| 12 | 600 | 18.6 | 31.07 | 3.107 | 40.2 |
| 13 | 600 | 16.2 | 41.93 | 4.193 | 41.6 |

## ÖZ GEÇMİŞ

Van'da 1991 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini Van'da tamamladı. 2005 yılında lise öğrenimini Mersin'de tamamladı. Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü'ndeki lisans eğitimini 2015 yılında tamamladı. Van İl Gıda Kontrol Laboratuvarı'nda 2013 yılında 30 işgünü staj yaptı. 2016 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.





**YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**  
**LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU**

**Tarih:** 29/07/2019

Tez Başlığı / Konusu:

**Mor Havuçta Mutasyon Islahı için Uygun Işın Dozunun Belirlenmesi ve Oluşabilecek Varyasyonların Tespit Edilmesi**

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 42 sayfalık kısmına ilişkin, 11/07/2019 tarihinde Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 5 (beş) tir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Gülistan YARAR

Öğrenci No: 159101145

Anabilim Dalı: Tarımsal Biyoteknoloji

Programı: Tarımsal Biyoteknoloji

Statüsü: Y. Lisans  Doktora

**DANIŞMAN ONAYI**  
**UYGUNDUR**

**ENSTİTÜ ONAYI**  
**UYGUNDUR**

Doç. Dr. Mehtap YILDIZ