

**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
2012-YL-034**

**KAN PORTAKALLARININ BAZI ÇİÇEK TOZU
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE
CLEMENTINE × KAN PORTAKALI
MELEZLERİNİN SRAP BELİRTEÇLERİ İLE
BELİRLENMESİ**

Gökhan ORUÇ

**Tez Danışmanı:
Yrd. Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ**

AYDIN

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Gökhan ORUÇ tarafından hazırlanan ‘Kan portakallarının bazı çiçek tozu özelliklerinin incelenmesi ve Clementine × kan portakalı melezlerinin SRAP belirteçleri ile belirlenmesi’ başlıklı tez, 03.09.2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan	: Yrd. Doç. Dr. Zeynel DALIKILIÇ	ADÜ
Üye	: Prof. Dr. Hüseyin BAŞAL	ADÜ
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Mustafa ÇELİK	ADÜ

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun.....Sayılı kararıyla..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Cengiz ÖZARSLAN
Enstitü Müdürü

ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kurallarının gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

03/09/2012

Gökhan ORUÇ

ÖZET

KAN PORTAKALLARININ BAZI ÇİÇEK TOZU ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ VE CLEMENTINE × KAN PORTAKALI MELEZLERİNİN SRAP BELİRTEÇLERİ İLE BELİRLENMESİ

Gökhan ORUÇ

Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ

2012, 83 sayfa

Kan portakalına (*Citrus sinensis* Osbeck) ait farklı genotipler ile ‘Clementine’ mandarini (*Citrus reticulata* Blanco) arasında 2010 ve 2011 yıllarında melezlemeler gerçekleştirilmiştir. ‘Clementine’ ana ebeveyn, ‘Moro’ (M), ‘Sanguinello’(S), ‘Tarocco’(T) İtalyan çeşitleri ve K1, K2, A1, A2, A3, H1, H2, H3 yerel çeşit genotipleri baba ebeveyn olmak üzere melezlemeler yapılmıştır. Kan portakalının 11 genotipinin 2011 yılı çiçeklerinde başçık sayımı, çiçek tozu miktar, canlılık (TTC) ve çimlendirme testleri yapılmıştır. Üç genotipte (M, S, T) yapılan çiçek tozu canlılık testinde %22.15 oranı ile S, sekiz genotipte yapılan teste göre %43.38 ile H3 ve %36.96 ile A3 diğer genotiplerden yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Çiçek tozu çimlendirme testine göre %1 agar+%25 sakkaroz ortamında en yüksek çimlenme H3 genotipinden, daha sonra A3 genotipinden elde edilmiştir. Bir çiçekteki en fazla başçık sayısı 22.17 adet değeri ile T çeşidinde bulunurken, hemasitometrik lamda yapılan sayımda bir çiçekteki toplam çiçek tozu sayısında 139421 adet ile A1 genotipi en yüksektir. Melezlemelerde, 2010 yılında toplam 1397 adet çiçeği melezlemeyle 27 meyveden 86 tohum, 2011 yılı için 580 çiçek melezlemeyle 43 meyveden 348 tohum elde edilmiştir. Bu 86 ve 348 tohum viyollere ekilerek serada yetiştirilip sırasıyla 42 ve 161 melez bitki elde edilmiştir. 2010 yılı 13 melezi ve 2 ebeveyni ile (C, K1) SRAP moleküler belirteçleri kullanılarak melez bireyler ile ana ve baba birey arasındaki benzerlik ve farklılıklar belirlenmiştir. Toplamda 24’ü polimorfik, 66 bant elde edilmiştir. Polimorfizm oranı%36,4’tür.

Anahtar sözcükler: *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata*, ‘Clementine’, melezleme, SRAP belirteçleri

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SOME POLLEN GRAIN FEATURES OF BLOOD ORANGES AND DETERMINATION OF HYBRIDS IN CLEMENTINE × BLOOD ORANGE CROSSES WITH SRAP MARKERS

Gökhan ORUÇ

M.Sc. Thesis, Department of Horticulture

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Zeynel DALKILIÇ

2012, 83 pages

Hybridizations between ‘Clementine’ mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) and different genotypes of blood oranges (*Citrus sinensis* Osbeck) have been conducted in 2010 and 2011 years. While ‘Clementine’ was used as female parent, ‘Moro’ (M), ‘Sanguinello’ (S), ‘Tarocco’ (T) cultivars, and A1, A2, A3, H1, H2, H3, K1, K2 local genotypes used as male parents. Before hybridization, anther count, pollen count, viability and germination tests were performed in 11 parent blood oranges parents in 2011. The highest pollen viability was found in S variety with 22.15% within three varieties (M, S, T) and that of in H3 genotype with 43.38% followed by A3 with %36.96 within other eight genotypes. According to germination tests, the highest germination was obtained at H3 genotype followed by A3 genotype on 1% agar+ 25% sucrose media. While the highest anther count was found in T variety with 22.17, the highest total pollen count of one flower was found in A1 with 139421 on the hemasitometric lam. At hybridization results, 1397 flowers were crossed, and 27 fruit and 86 seeds were obtained in 2010. The 580 flowers were crossed, and 43 fruit and 348 seeds were obtained in 2011. These 86 and 348 seeds were sown in vials in a greenhouse and obtained 42 and 161 hybrid plants, respectively. The 13 hybrids and 2 parents (C, K1) from the crosses in 2010 were used to obtain similarity and diversity between male and female parents, and hybrids with SRAP molecular markers. From the total 66 bands, 24 of which were polymorphic. Polymorphism ratio was 36.4%.

Key words: *Citrus sinensis*, *C. reticulata*, ‘Clementine’, hybridization, SRAP markers

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca gece gündüz demeden gerek arazi gerekse de laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam sırasında bana olan katkılarından dolayı değerli bölüm hocalarıma teşekkür ederim.

SRAP moleküler belirteçlerinin belirlenmesinde bir süre için Kayseri'de bilgi ve deneyim olarak katkılarından dolayı Erciyes Üniversitesi'nden değerli hocamız Doç. Dr. Osman GÜLŞEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Kan portakalı çiçek ve yaprak örneklerinin alınmasına izin veren BATEM yönetimi ve Zir. Yük. Müh. Ertuğrul TAŞTEKİN'e teşekkür ederim.

Tezimin gerek arazi gerek laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan değerli arkadaşlarımdan bölümümüzün Araştırma Görevlisi Burak Erdem ALGÜL'e ve Doktorant Araştırma Görevlisi Gülsüm KARAKAYA ALKAN'a, yüksek lisans öğrencisi Melih AYDINLI'ya, Zir. Yük. Müh. Leyla SAYGILI, deneyimlerinden yararlandığım Araştırma Görevlisi Nezih ATA'ya, Erciyes Üniversitesi'nden yüksek lisans öğrencisi Adem TAŞ'a, lisans öğrencisi Derya GÜNEŞ ve 2009, 2010 yılı lisans öğrencilerine ve ismini saymadığım birçok arkadaşına teşekkürlerimi sunarım. Tezimin diğer aşamalarında yine bana yardımcı olan Hatice İSTEKLİ ve Şengül İSTEKLİ'ye teşekkür ediyorum.

Yaşamım ve tez çalışmam sırasında maddi-manevi gösterdikleri fedakârlıklardan dolayı annem Kadriye ORUÇ ve babam Mehmet ORUÇ'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmasını ZRF-11029 numaralı proje ile destekleyen ADÜ BAP'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
SİMGELER DİZİNİ.....	xv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
EKLER DİZİNİ.....	xxi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
2.1. Turunçgil ve Diğer Bazı Türlerde Çiçek Tozlarıyla İlgili Çalışmalar	5
2.2. Turunçgillerde Melezleme İle İlgili Çalışmalar	8
2.3. Turunçgillerde Moleküler Belirteçler ile İlgili Bazı Çalışmalar	14
2.4. Diğer Çalışmalar	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	22
3.1. Materyal	22
3.1.1. ‘Clementine’ Mandarinini	22
3.1.2. Kan (Pigmentli) Portakalları	23
3.2. Yöntem.....	26
3.2.1. Başçık Toplanması (Kan Portakalları)	26
3.2.2. Emaskulasyon (‘Clementine’).....	29
3.2.3. Melezleme	30
3.2.4. Tutan Meyve Sayımı	31
3.2.5. Meyve Eldesi, Tohum Çıkarma, Tohum Ekimi, Torbalara Şaşırtma.....	31
3.2.6. SRAP Analizi Yapılması.....	32
3.2.6.1. DNA çıkartılması (Ekstraksiyon).....	32

3.2.6.2. PCR	35
3.2.6.3. Gel elektroforezi.....	36
3.2.6.4. Verilerin analizi	36
4. BULGULAR	37
4.1. Çiçeklerde Yapılan Çalışmalarda Elde Edilen Bulgular	37
4.1.1. Çiçek Tozu Canlılık Testleri.....	37
4.1.2. Çiçek Tozu Çimlendirme Testleri	39
4.1.3. Çiçeklerdeki Sayımlar	43
4.2. Melezleme Çalışmasından Elde Edilen Bulgular	45
4.2.1. 2010 Yılı Melezleme Verileri.....	45
4.2.2. 2011 Yılı Melezleme Verileri.....	48
4.3. 2011 Yılı Melez Tohumları Çimlenme Sayımları	55
4.4. SRAP Analizi Çalışmasından Elde Edilen Bulgular	57
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	60
KAYNAKLAR.....	69
EKLER	75
ÖZGEÇMİŞ.....	83

SİMGELER DİZİNİ

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
EtBr	Etidium Bromide
IKI	Iodide Potassium Iodide
ISSR	Inter-Simple Sequence Repeat
MAS	Marker-Assisted Selection
ORFs	Open Reading Frames
PCA	Principle Component Analysis
PDA	Potato Dekstroz Agar
PIC	Polymorphism Information Content
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RGA	Resistance Gene Analog
SCAR	Sequence-Characterized Amplified Region
SDS-PAGE	Sodium Dodesil Sulphate-Polyacrylamide Gele Electrophoresis
SRAP	Sequence Related Amplified Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeat
TTC	2,3,5 Triphenyl Tetrazolium Chloride
UPGMA	Unweighted Pair Group Mean Average
UV	Ultraviolet

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 3.1. Melezlemede kullanılan ‘Clementine’ ağacı ADÜ ZF, AYDIN23
- Şekil 3.2. ‘Moro’ (a) ağaç, (b) çiçek, (c) ‘Sanguinello’ çiçek, (d) ağaç, e) ‘Tarocco’, çiçek, (f) ağaç, BATEM, Antalya26
- Şekil 3.3. Kan portakalına ait (a) beyaz balon safhasındaki çiçekler, (b) beyaz balon safhasında toplanmış ve patlatılmış filokon şişe içerisindeki çiçek anterleri ve tozları, (c) başçık sayımı27
- Şekil 3.4. ‘Clementine’ çeşidine ait (a) beyaz balon safhasındaki, (b) taç yaprakları alınmış çiçek, (c) emaskülasyona tâbii tutulmuş çiçek30
- Şekil 3.5. (a) Filokon şişe içerisindeki çiçek tozlarını fırça ile tozlama işlemi, (b) izolasyon işlemi, (c) melezleme ve (d) sonrasında izolasyon işlemi tamamlanmış ‘Clementine’ ağacı31
- Şekil 3.6. (a) Sıvı azot ile dondurma, (b) Donmuş yaprağın havan ile ezilmesi, (c) Yaprak özütüne PBS eklenmesi, (d) Tüplerin vorteks, e) Tüplerin santrifüjü, (f) Tüp dibindeki süzütünün uzaklaştırılması, (g) Buffer W1, (h) Buffer W2, (i) PCR için hazır durumda olan tüpler, (j) PCR cihazı, (k) Tabakadan tarakların çıkarılması, (l) Jele PCR ürünü ve 6× yükleme boyası karışımı aşamaları.....34
- Şekil 4.1. Kan portakallarına ait canlı-cansız çiçek tozları. (a) H3, (b) A1, (c, d) A3 (Büyütme: 10 × 10) (Fotoğraflarda ayrıca fotoğraf makinesi büyütmelerinden de yararlanılmıştır.).....38
- Şekil 4.2. (a) Sakkaroz ve agar karışımı hazırlanması, (b) Petri kaplarına çiçek tozu ekimi, (c) Ekimi yapılmış çiçek tozları, (d) Ekim yapılmış petri kabı ...41
- Şekil 4.3. Kan portakalı çeşitlerine ait çimlenen ve çimlenmeyen çiçek tozları (%25 sakkaroz+agar) (Büyütme: 10 × 10) (a) ‘Moro’ büyütülmüş, (b) H2, (c) A2, (d) H3.....42
- Şekil 4.4. Hemasitometrik lamda (a) çiçek tozlarının sayım için hazırlanması, (b) çiçek tozu sayımı.....45
- Şekil 4.5. (a) Melezlemeden 4 hafta sonrası küçük meyve, (b) melezlemeden 4-5 ay sonraki meyve durumu, (c) hasat öncesi meyve durumu, (d) hasata hazır durumda ‘Clementine’ ağacı47

- Şekil 4.6. Melez tohumların (a) viyollere ekimleri, (b) şaşırtma anında viyol içersindeki melez çöğürler, (c) 3 L'lik torbalara melez çöğürlerin şaşırtılması48
- Şekil 4.7. C×K1-2M-3 tohum ekiminden (a) 5-6 ay sonraki melez çöğür, (b) C×K1-2M-3 8-9 ay sonraki melez çöğür, C×S-3M-2 tohum ekiminden (c) 5-6 sonraki melez çöğür, (d) 8-9 ay sonraki melez çöğür, (e) büyütülmüş melez çöğür (C×T-3M-2), (f) büyütülmüş melez çöğür (C×S-5M-10)49
- Şekil 4.8. 2011 yılı melez meyvelerin döküm periyodu52
- Şekil 4.9. 2011 yılı elde edilen melez meyveler54
- Şekil 4.10. (a) C × S meyve iç görüntüsü, (b) C × H3 meyve iç görüntüsü54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Turunçgil türlerinin Latince isimleri ve anavatanları.....	1
Çizelge 1.2. Turunçgil üretim miktarları.....	2
Çizelge 1.3. Turunçgil ihracat miktarları.....	2
Çizelge 1.4. 2004-2009 dönemi Türkiye turunçgil ihracat miktarları	2
Çizelge 3.1. Ana ve baba ebeveyni temsil eden kısaltmalar.....	25
Çizelge 3.2. SRAP analizinde kullanılan primer kombinasyonları.....	35
Çizelge 4.1. TTC testi sonucu saptanan 3 çeşide ait çiçek tozlarının canlılık düzeyleri	37
Çizelge 4.2. TTC testi sonucu saptanan 8 genotipe ait çiçek tozlarının canlılık düzeyleri	39
Çizelge 4.3. Çimlendirme testi birlikte uygulanan gruplar	39
Çizelge 4.4. 1. Grup kan portakalları çimlendirme testi sonuçları	40
Çizelge 4.5. 2. Grup kan portakalları çimlendirme testi sonuçları	41
Çizelge 4.6. 3. Grup kan portakalları çiçek tozu çimlendirme testi sonuçları.....	42
Çizelge 4.7. 4. Grup kan portakalları çiçek tozu çimlendirme testi	43
Çizelge 4.8. Kan portakallarının bir çiçekteki başçık sayıları	44
Çizelge 4.9. Hemasitometrik lamda çiçek tozu sayısı hesaplanması	44
Çizelge 4.10. Meyvelerden çıkarılan tohum sayıları	45
Çizelge 4.11. Melezlemelenen çiçek sayılarının günlere göre dağılımı(2010) ...	46
Çizelge 4.12. Meyvelerden çıkarılan tohum sayıları (2010).....	47
Çizelge 4.13 Melezlemelenen çiçek sayılarının günlere göre dağılımı (2011).....	51
Çizelge 4.14. Melezlemelerde tutma oranları (2011).....	52
Çizelge 4.15. 2011 yılı melezlemesi meyve döküm periyodu	53
Çizelge 4.16. Meyvelerden çıkarılan tohum sayıları(2011)	55
Çizelge 4.17. 2011 yılı melez tohumları çimlenme periyodu	56

Çizelge 4.18. SRAP primerlerinden elde edilen polimorfik+monomorfik=toplam bant sayıları.....	58
Çizelge 4.19. C-K1 ebeveynleri arasındaki baz çifti farklılıkları	58
Çizelge .4.20. Melez bireylerin ana ebeveyle olan baz çifti farklılıkları	59

EKLER DİZİNİ

Ek Şekil 1. Me1-Em14 SRAP primer kombinasyonunun bant deseni.....	76
Ek Şekil 2. Me3-Em1 ve Me3-Em3 SRAP primer kombinasyonları bant deseni ..	77
Ek Şekil 3. Me3-Em2 SRAP primer kombinasyonunun bant deseni.....	78
Ek Şekil 4. Me3-Em9 SRAP primer kombinasyonunun bant deseni.....	79
Ek Şekil 5. Me11-Em9 SRAP primer kombinasyonunun bant deseni.....	80
Ek Şekil 6. Me11-Em10 SRAP primer kombinasyonunun bant desen.....	81
Ek Çizelge 1. TTC testi sonucu saptanan 8 genotipe ait çiçek tozlarının canlılık düzeyleri (%) varyans analiz tablosu (VAT).....	75
Ek Çizelge 2. Kan portakallarının bir çiçekteki başçık sayıları VAT.....	75
Ek Çizelge 3. Me1-Em14 SRAP primeri bant okuması.....	76
Ek Çizelge 4. Me3-Em1 SRAP primeri bant okuması.....	77
Ek Çizelge 5. Me3-Em3 SRAP primeri bant okuması.....	77
Ek Çizelge 6. Me3-Em2 SRAP primeri bant okuması.....	78
Ek Çizelge 7. Me3-Em9 SRAP primeri bant okuması.....	79
Ek Çizelge 8. Me11-Em9 SRAP primeri bant okuması.....	80
Ek Çizelge 9. Me11-Em10 SRAP primeri bant okuması.....	81

1. GİRİŞ

Turunçgiller, *Citrus* spp., Rutaceae familyası içerisinde herdem yeşil bitki türleridir. Turunçgillerin birinci derecede anavatanı Güneydoğu Asya'dır. İkinci derecede anavatanı ise kuzeydoğu Hindistan, kuzey Burma, Çin'in Yunnan eyaletidir (Webber, 1967; Gmitter ve Hu, 1990; Davies ve Albrigo, 2005) (Çizelge1.1).

Çizelge 1.1. Turunçgil türlerinin Latince isimleri ve anavatanları (Davies ve Albrigo, 2005)

Turunçgiller	Latince	Anavatanı
Ağaç kavunu	<i>Citrus medica</i> *	Hindistan
Şadok	<i>C.grandis</i> *	Hindistan
Mandarin	<i>C.reticulata</i> *	Güney Çin
Portakal	<i>C.sinensis</i>	Güney Çin
Altıntop	<i>C.paradisi</i>	Hint Adaları
Limon	<i>C.limon</i>	Hindistan, Himalaya
Laym	<i>C.aurantifolia</i>	Hindistan
Turunç	<i>C.aurantium</i>	Doğu Hindistan
Bergamot	<i>C.bergamia</i>	Doğu Hindistan

*: Gerçek turunçgil türleri

Dünya toplam turunçgil üretiminde Türkiye'nin payı portakalda %2.46 ve mandarinde %4.02 ile önemli bir payı oluşturmaktadır (FAOSTAT, 2010) (Çizelge 1.2). Türkiye toplam yaptığı portakal ve mandarin ihracatıyla dünyada %4.5 paya sahiptir (FAOSTAT, 2009) (Çizelge 1.3). Geçmiş dönem 2008 yılı haricinde turunçgil ihracat miktarlarına bakıldığında artan bir miktarla her geçen gün önemini arttırmaktadır (Çizelge 1.4).

Çizelge 1.2. Turunçgil üretim miktarları (FAOSTAT 2010)

	Türkiye Üretim (ton)	TürkiyeAlan (ha)	Dünya Üretim (ton)	Türkiye'nin Payı (%)
Portakal	1.710.500	53.236	69.507.617	2.46
Mandarin	858.699	33.289	21.317.592	4.02
Limon	787.063	25.360	14.234.377	5.52
Altıntop	213.768	6.063	6.952.737	3.07
Diğer	2.346	213	11.743.428	0.01
TOPLAM	3.572.372	118.161	123.755.741	2.88

Çizelge 1.3. Turunçgil ihracat miktarları (FAOSTAT, 2009)

	İhracat Toplamı (ton)		İhracat Toplamı (1000\$)		Türkiye ve AB'nin oranı (%)
Türkiye	636.556	Portakal 272.284	422.407	Portakal 169.097	4.5
		Mandarin 364.272		Mandarin 253.310	
Avrupa Birliği	5.139.420		4.052.343		36.5
Dünya	14.051.578		10.169.786		100.0

Çizelge 1.4. 2004-2009 dönemi Türkiye turunçgil (Portakal +Tangelo +Clementine) ihracat miktarları (ton) ve değerleri (1000\$) (FAOSTAT, 2009)

		2004	2006	2008	2009
Portakal+Tangelo + Clementine	Ton	350.138	545.486	463.070	636.556
	1000\$	147.132	188.513	291.765	422.407

Türkiye’de toplam turunçgil üretiminin %90.5’i Akdeniz, %9.0’ı Ege, %0.5’i ise Doğu Karadeniz bölgelerinden elde edilmektedir. Mandarinlerin iklim koşullarına iyi uyum sağlamaları nedeniyle son yıllarda mandarin yetiştiriciliğine talep artmıştır. Ülkemizde bölgelere göre mandarin yetiştiriciliğinde ilk sırada %69 ile Akdeniz bölgesi yer alırken, Ege bölgesi %28 ile bunu izlemekte, geriye kalan %3’lük kısım ise Doğu Karadeniz bölgesinden elde edilmektedir (Eken, 2006).

Turunçgil meyveleri tür içinde değişmekle birlikte C vitamini içeriği, yüksek potasyum kaynağı olması açısından kanın akışkanlığını ve pıhtılaşmasını düzene sokması, yüksek tansiyonu düzenlemesi, kalp krizleri ve kanser oluşumunu engellemesi gibi özelliklere sahip olmasından dolayı insan sağlığı açısından faydalı özelliklere sahiptir. Turunçgiller ailesi içerisinde kan portakalı grubunda antosiyanin içeriği, toplam fenolikler, flavanonelar, fenolik asitler açısından yüksek orana sahiptir (Rapisarda vd., 2009). Bu bileşikler kansere neden olan serbest radikalleri temizlemekte, kalp hastalığını teşvik eden LDL kolesterolü düşürmekte ve diyabete karşı korumaktadır (Karp, 2007). Bilim insanları bütün portakalların antosiyaninleri üretmek için gerekli temel genlere sahip olduğunu ancak bu genlerin sadece kan portakallarında işlevsel (açık) olduğunu yakın zamanda keşfetmişlerdir. Özellikle antosiyanin oluşturmak için iki set gen gereklidir. Normal portakallar yapısal genlere sahiptirler, ancak bu genlerin ifadesini kontrol eden düzenleyici genlerden yoksundurlar (Karp, 2007). Bundan dolayı kan portakalı grubu sahip olduğu bu özellikler ile önemlidir. Turunçgillerin sahip olduğu tüm bu özelliklerden dolayı üreticiler için turunçgil yetiştiriciliğini cazip kılmaktadır. Bu nedenlerden dolayı turunçgiller için melezlemeye elverişli olması ve pazar talebiyle birlikte yeni çeşitler keşfedilmesi faydalı olacaktır. Buna ek olarak turunçgiller doğal melezlemeye ve mutasyona eğilimli bitkiler olmasından dolayı yeni çeşitler ortaya çıkarmaya elverişlidir. Yeni çeşitler elde edebilmek için karşılıklı eşeysel uyuşmanın olması, baba ebeveyn olarak kullanılacak bitkinin canlı ve bol sayıda çiçek tozu üretmesi, ana ebeveynin de tohumlu meyve üretme ve monoembriyonik özellikte olması gerekmektedir (Davies ve Albrigo, 2005).

Moleküler belirteçler (markörler), genomdaki herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçası olarak birçok alanda kullanılabilir. Bunlar arasında; genetik varyasyonun araştırılması, türlerin taksonomik tanımlanmasının yapılması, filogenetik akrabalıkların bulunması, genetik haritalama ve genom analizlerinde moleküler belirteçlerin kullanımı ıslahçılar için ihtiyaç duyulan bir alandır (Turunç 2010). Moleküler belirteçler, özellikle apomiksis (döllene olmadan tohum oluşumu) olayının yaygın olduğu *Citrus* spp. melezlemelerinden elde edilecek gerçek melez bireylerin ortaya çıkarılarak erken zamanda belirteçler yardımıyla seleksiyon (MAS, marker-assisted selection) çalışmalarında zaman, işgücü ve maddi kazanç sağlayabilmektedir. Farklı mutasyon sınıflarının bir sonucu olarak ortaya çıkan moleküler belirteçler, melezlemeye (hibridizasyon) ve

PCR'a dayalı olmak üzere ikiye ayrılır. Melezlemeye dayalı olan moleküler belirteç RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)'dir. PCR'a dayalı moleküler belirteçler arasında RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SCAR (Sequence-Characterized Amplified Region), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeat), ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) ve SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism) bulunmaktadır (Gulsen ve Uzun, 2011; Turunç, 2010).

SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism), PCR tekniğine dayalı olup DNA'daki açık okuma bölgelerinin (ORFs, Open Reading Frames) çoğaltılması esasına dayanır. SRAP primerleri geliştirirken ilk önce merkezde CCGG bazları kullanarak ORF bölgelerindeki ekzonlar (gen kodlayan bölge) hedef alınır. İleri (forward) primeri (başlatıcı) 17 nükleotit, geri (reverse) primeri 18 nükleotit uzunluğundadır. Geri primerler DNA'nın intron (gen kodlamayan bölge) ve promoter (kodlama başlangıcı tanıma) bölgelerini, ileri primerler ise DNA'nın ekzon bölgelerini çoğaltır (amplifiye eder). İleri primerlerinde 5' ucundaki ilk 14 nükleotit, geri primerlerinde ilk 15 nükleotit aynıdır. 3' ucuna yakın olan üç nükleotit tesadüfi seçim sonucu oluşturulmuştur. Primerin başındaki 10 veya 11 nükleotitten sonra gelen dört nükleotit dizini ileri primerinde CCGG dizinine, geri primerinde AATT primer dizinine sahiptir (Li ve Quiros, 2001; Tamam, 2008). SRAP belirteç sistemi kolay uygulanabilen, tekrarlanabilen, ucuz ve etkili bir sistem olarak değerlendirilmiş, genetik çeşitliliğin, genetik ilişkilerin araştırılması, parmakizi çalışmalarında uygulanabilecek etkili ve ucuz bir işlem olarak kullanılmaktadır (Uzun, 2009).

Bu çalışmanın amacı, kan portakallarına ait 11 adet genotipin çiçek tozlarının miktarlarını, canlılıklarını, *in vitro* ortamda çimlenme oranlarını incelemektir. Ayrıca 'Clementine' ana ebeveyni ile kan portakalı baba ebeveynine ait değişik genotiplerin melezlenmesinden elde edilen meyve ve tohum tutumunu tespit etmektir. Buna ekolarak, melezlemeden elde edilen bireylerin gerçek melez olup olmadıklarını SRAP moleküler belirteçleriyle ortaya koymaktır. Yapılan çalışmayla, gelecekte 'Clementine' mandarininin diğer istenen özelliklerine ek olarak daha koyu meyve eti rengine sahip genotip(ler)in elde edilmesine temel oluşturulacaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Turunçgil ve Diğer Bazı Türlerde Çiçek Tozlarıyla İlgili Çalışmalar

Eti (1990), 1 keçiboyunuzu, 3 yenidoğruya, 10 adet turunçgil tür ve çeşidi ve 9 adet badem çeşidine ait çiçek tozları kullanılmıştır. Başçık (anther) başına en yüksek çiçek tozu miktarı keçiboyunuzunda, en düşük ise bademde elde edilmiştir. Yenidoğruya çeşitleri arasında farklılık gözlenmemiştir. Turunçgil tür ve çeşitleri arasında oldukça farklı değerler ortaya çıkmıştır. Turunç, 'Minneola' ve yerli portakalda en yüksek çiçek tozu miktarı, yerli mandarin, 'Klementin' ve 'Fremont' mandarinlerinde en düşük çiçek tozu miktarı elde edilmiştir. Farklılığın çeşitler arasında değil, daha çok türler arasında belirgin olduğu gösterilmiştir.

Eti (1991), elma, armut, kiraz, vişne ve erik türlerine ait toplam 10 çeşidin çiçek tozlarında *in vitro* şartlarda canlılık ve çimlenme testleri uygulamıştır. Çimlendirme ortamı olarak 'asılı damla' yöntemiyle %15 ve %20 sakkaroz, %0.03 ve %0.1 borik asit ve doymuş petri yöntemiyle %1 agar + %10 sakkaroz karışımları kullanılmıştır. Ayrıca 2,3,5 Triphenyl tetrazolium chlorid (TTC), Fluorescein diacetat (FDA) ve iyotlu potasyum iyodür (IKI) çözeltileri ile çiçek tozlarının canlılık düzeyleri belirlenmeye çalışılmıştır. Tüm çeşitler arasında en yüksek çimlenme %20'lik sakkaroz ortamında %72'lik değerle 'Kırmızı Williams' armut çeşidinde elde edilmiştir. TTC testi sonuçları da %20'lik sakkaroz ortamıyla paralelik göstermiştir. Elma, armut çeşitlerinde de %20'lik sakkaroz çözeltilisinde, kiraz çeşitlerinde ise %0.03'lük borik asitte elde edilmiştir. İyotlu potasyum iyodür (IKI) canlılık testi sonuçlarından 'Gloster', 'Kırmızı Williams', 'Sam' ve 'Schatten Morelle' çeşitlerinde tüm çiçek tozlarının aynı renk tonunda boyanması nedeniyle sonuç alınamamıştır. Denemeye alınan tüm çeşitlerde %1 agar +%10 sakkaroz ortamında saptanan çimlenme değerleri, her zaman için diğer çimlendirme ortamlarından düşük bulunmuştur.

Eti (1992), Bazı turunçgil çeşitlerinde çiçek tozlarının agar + sakkaroz karışımıyla oluşturulmuş *in vitro* ortamda çimlenme yetenekleri, TTC ve FDA testleriyle canlılıkları incelenmiştir. TTC testinde Robinson çeşidi yüksek canlılık tespit edilmiş. %1 agar +%15 sakkaroz ortamında 1989 yılında Robinson çeşidinde, 1990 yılında Fremont çeşidinde en yüksek çimlenme elde edilmiştir.

Ali vd. (1998), 5 yerel çeşitten (Balady red, Al-madina, Khob Al- Jamil, Taeifi ve Harnid abiod) nar (*Punica granatum* L.) çiçek tozlarını elde etmiştir. İspanya'dan 2 çeşit (De jative ve Molar), Mısır'dan 4 çeşit (Banaty, Manfaluti, Mellasy ve Succary) için 24, 48, 72 saat sonra canlılık, çimlenme, şekil ve polen tüpü gelişim oranı sakkaroz kültüründe değerlendirilmiştir. Çiçek tozu çimlenme ve mutlak canlılık yüzdesi De jative ve Molar'ın çiçek tozu canlılığı diğer çeşitlerden anlamlı bir şekilde farklılık göstermiştir. Canlılık %1.01'den %1.05'e, cansız çiçek tozları ise %1.11'den %1.84 oran aralığında bulunmuştur. Hamid abiod ve De Jativa çeşitleri sakkaroz solüsyonunda kültüre alındığında 72 saatten sonra diğer çeşitlerden daha hızlı gelişmiştir. Test edilen bütün çeşitler arasında Hamid aboid, De Jativa ve Succary dışında mutlak çiçek tozu canlılığı ve polen tüpü gelişimi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur.

Bolat ve Pırlak (1999), 5 kayısı (*Prunus armeniaca* L.), 4 kiraz (*Prunus avium* L.) ve 1 vişne (*Prunus cerasus* L.) çeşidinde çiçek tozu canlılık, çimlenme oranları ve çim borusu gelişimi incelenmiştir. Çiçek tozu canlılık ve çimlenme düzeylerinin belirlenmesinde üç canlılık (TTC, İKI ve Safranin) ve iki çimlenme testi (asılı damla ve Petri'de agar) kullanılmıştır. En yüksek çiçek tozu canlılık oranları safranin boyama yönteminde elde edilmiştir. En yüksek çiçek tozu çimlenme oranı %15 sakkaroz çözeltisinde asılı damla yönteminde kayısıda %49.77–72.90, kirazda %49.08–57.38, vişnede %49.16 ve Petri'de agar yönteminde kayısıda %57.83–84.42, kirazda %52.40–66.60, vişnede %53.82 elde edilmiştir. Petri'de agar yönteminde çiçek tozu çimlenme oranı asılı damla yönteminden daha yüksek bulunmuştur. Kayısı ve kirazda İKI canlılık testi ile çiçek tozu çimlenme oranı arasında pozitif korelasyonlar bulunmuştur ($r=0.686^{**}$, $r=0.704^{*}$).

Dominigues vd. (1999), 44 şeker portakalı çeşidinde yaptıkları çalışmada çiçek tozu canlılıklarını belirlemişlerdir. Buna göre en düşük 'Pera Sem Sementes' portakalında % 12.0 ile 'Hamlin Reserva' portakalında %88.0 en yüksek canlılık değeri ve diğer çeşitlerde farklı değerler 'Rubi Blood' çeşidinde % 68.7, 'Blood oval'da %16.3, 'Sangüinea de Mombuca'da %77.7 canlılık değerleri elde etmişlerdir.

Koyuncu (2000), Van ekolojik şartlarında yetiştirilen bazı çilek çeşitlerinin çiçek tozu çimlenme oranlarını ve çiçek tozu üretim miktarlarını belirlemiştir. Çilek çeşitlerinin çiçek tozu çimlenme oranları *in vitro* koşullarda Petri'de agar yöntemine göre (%1 agar + %0, 10, 15 ve 20 sakkaroz konsantrasyonlarında),

çiçek tozu üretim miktarları ise ‘hemasitometrik lam’ yöntemi ile saptanmıştır. Çimlendirme denemelerinde kullanılan 7 çiçek çeşidinin (‘Cruz’, ‘Tufts’, ‘Brio’, ‘Tioga’, ‘Vista’, ‘Aliso’ ve 216 (‘Doritt’) çiçek tozları genel olarak %1 agar + %15 ve %20 sakkaroz konsantrasyonlarında en iyi çimlenme göstermişlerdir. Birinci deneme yılında en yüksek çiçek tozu üretim miktarı 216 (‘Doritt’) (42422 adet) çeşidinde, ikinci deneme yılında ise ‘Tioga’ (51937 adet) çeşidinde saptanmıştır.

Ateyyeh (2005), 5 meyve ağacı türünün (*Olea europaea*, *Citrus maxima*, *Citrus paradisi*, *Prunus persica*, *Prunus domestica*) çiçek tozu çimlenmesini incelemişlerdir. Çiçek tozları zeytinyağına daldırılmış ve en yüksek çimlenme oranı kaydedilmiştir. 0.8% agar, 10% sakkaroz ve 50 ppm sitrik asit içeren ortamda (%55.8) çimlendirilmiştir. Zeytinyağı turunçgillerin çiçek tozu çimlenmesini tamamen engellemiştir. *Citrus maxima*’nın çiçek tozu çimlenme yüzdesi %0.8 agar ve %20 sakkaroz ortamında diğer ortamlardan daha yüksek bulunmuştur. *Citrus paradisi* çiçek tozu kayda değer şekilde %0.5 veya %0.8 agar ve %20 sakkaroz içeren ortamda çimlenmiştir. *Prunus persica*’nın çimlenmesi zeytinyağında gerçekleştirilmiş ve en yüksek çimlenme %0.8 agar, %10 sakkaroz ve 100 ppm borik asit veya 50 ppm sitrik asit içeren ortamda sırasıyla %43.3 ve %43.1 olarak kaydedilmiştir. Sonuç olarak *Prunus domestica* çiçek tozlarının çimlenmesini zeytinyağı bastırmıştır ve en yüksek çimlenme %0.8 agar, %10 sakkaroz ve 50 ppm borik asit içeren ortamda %48.7 oranında elde edilmiştir.

Ahmed vd. (2007), turunçgil melezleri (‘Orlando’ tangelo, ‘Minneola’ tangelo, ‘Seminole’ tangelo, ‘Honey’ mandarin, ‘Pixie’ mandarin and ‘Frost Dancy’ tangerine) ile ‘Mosambi’, ‘Kinnow’ ve ‘Duncan’ altıntopu erkek ebeveyn olarak melezlenmiştir. Ebeveynde çiçek tozu canlılığı, çiçek tozu çimlenmesi çalışmaları yapılmıştır. Çiçek tozu canlılığı ‘Dancy’ mandarininde %16.27, ‘Pixie’ mandarini %92, ‘Honey’ mandarini %87.56, ‘Minneola’ tangelo % 86.21, ‘Orlando’ tangelo % 77.93, ‘Seminole’ tangelo %49.29 olarak bulunmuştur. ‘Kinnow’ mandarini erkek ebeveyn olarak, özel melezleme davranışı ile ilgili olarak diğer melezlerle performansı uyumsuzken, ‘Honey’ mandarini ve ‘Orlando’ tangelo ile en iyi değeri üretmiştir. ‘Kinnow’ henüz mandarinlere ait olmasına rağmen, ‘Pixie’ mandarini ile melezleme davranışı için büyük değişkenlik göstermiştir. ‘Kinnow’ çalışmada kullanılan bütün melezler için genel melezleme gücü olarak en iyi tozlayıcı olarak ispatlanmıştır. ‘Mosambi’ erkek ebeveyn olarak meyve veriminde deneysel melezlerle tutarsız bir davranış göstermiştir.

Chaudhary vd. (2010), *in vitro*'da çiçek tozu çimlenmesi, çim borusu (polen tüpü) uzaması ve çiçek tozu canlılığını *Murraya koenigii* L.'de ortaya çıkarmışlardır. Çiçek tozu çimlendirilmesi %10 sakkaroz solüsyonunda yapılmıştır. Maksimum çimlenme oranı %50 Brewbaker ve Kwack's ortamında, minimum çimlenmenin oranı da %22.2 ile %10 sakkaroz solüsyonunda, %15 sakkaroz solüsyonunda %33.3, maksimum çiçek tozu canlılığı %90.8 Alexander's stain'le, FCR testi ile %60 orta, TTC testi ile %37.54 minimum bulunmuştur.

2.2. Turunçgillerde Melezleme İle İlgili Çalışmalar

Reece ve Hearn (1964), 'Clementine' mandarininin melezleme davranışı' isimli makalede, 'Clementine' ilk 1914'de Bowen altıntopu *Citrus paradisi* Macf. × 'Clementine' arasındaki melezlemede erkek ebeveyn olarak kullanılmıştır. Daha sonra 'Duncan' antıntopu yüksek apomiktik özelliğinden dolayı 'Clementine' × 'Duncan' altıntopu melezlemesi yapılmış ve 163 melez elde edilmiştir. 1918'de ise (*C. reticulata* × *Citrus paradisi*) × 'Clementine' karşılıklı (reciprocal) melezlemesi gerçekleştirilmiş ve 33 melez üretilmiştir. 1934'de 3 tangelo varyetesinin 'Clementine' ile tozlanmasından 51 melez elde edilmiş, 'Clementine' 14 erkekle tozlandığında 481 melez bitki elde edilmiştir. 1942'de 'Clementine' Citrangor *Citrus sinensis* osbeck × (*Citrus sinensis* × *Poncirus trifoliata*), Morton citrange (*Citrus sinensis* × *Poncirus trifoliata*), 'Mott' and 'Davis' altıntopu, 'Hamlin' orange (*Citrus sinensis*), Tangor no: 653 (*Citrus sinensis* × *Citrus reticulata*) ve 'Minneola' ve 'Orlando' tangelosu ile tozlanmıştır. 21 değişik tipte melezlemeler yapılmıştır. 'Clementine' × 'Hamlin' portakalı melezlemesinden 25 populasyondan sadece 2 bitki morfolojik olarak kimliklendirilmiştir. Her iki melez de ebeveynden erken olgunlaşmışlar, tadı çok fevkaledede olmadığı ve çabuk tiksindirdiği tespit edilmiştir.

Oiyama ve Kobayashi (1990), 'Clementine' × 'Kawano Natsudaidai'(4×) melezlemesinden 20 meyve 430 tohum elde edilmiş, bunlardan 3 tohum tam gelişmiş. 'Clementine' × 'Miyachi Iyokan' melezlemesinden de 12 meyve 151 tohum elde edilmiş ve bunlardan 24 tohum tam gelişmiştir. Seçkin tetraploidlerle melezlenen monoembriyonik diploid çeşitlerin olgun turunçgil meyvelerinden bu gelişmemiş tohumlar poliembriyonik olarak elde edilmiş. Poliembriyonik tohumlardaki embriyolardan bitkiler *in vitro* ortamda üretilmiş triploidmiş ve kimliksel peroksidaz bant desenleri poliakrilamid jelde görüntülenmiş ve bu göstermiş ki monoembriyonik diploide tetraploid melezlerden elde edilen

gelişmemiş tohumlarda bulunan çoklu embriyolar genetik olarak kimlikli ve zigotik orjinli olduğu görülmüştür.

Yeniyl (2000), ticari önemi olan mandarin çeşitlerinden ‘Nova’, ‘Klemantin SRA 73’, ‘Lee’, ‘Minneola’, ‘Fairchild’, ‘Robinson’ ve ‘Sunburst’ün *in vitro* şartlarda çiçek tozu canlılık, çimlenme ve üretim miktarları incelenmiştir. Çiçek tozu canlılığı ve çimlenme yönünden ‘Robinson’, ‘Fairchild’ ve ‘Klemantin’ çeşitleri en yüksek değerleri vermiş, ayrıca bu iki özellik arasında paralel bir ilişki bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda ‘Minneola’ çeşidinin ‘Robinson’, ‘Lee’ ve ‘Klemantin’; ‘Fairchild’ çeşidinin ‘Minneola’, ‘Klemantin’, ‘Lee’; ‘Robinson’un ‘Minneola’ ve ‘Lee’; ‘Nova’nın ise ‘Minneola’ çeşidi ile karışık bahçe kurulması durumunda verim ve kalite açısından iyi sonuçlar alınabileceği elde edilmiştir.

Rapisarda vd (2003), ‘Moro’ portakalının nusellar klonu (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) ve dişi ebeveyn olarak ‘Oroval’ Clementine’i (*Citrus clementina* Hort. ex Tan.) arasındaki melezlemedeki 35 melezden OMO-31 standart turuncgil melezleme metodu tozlama kontrolleri kullanılarak seçilmiştir. Bu melezlemelerin meyvelerinden elde edilen tohumlar toprağa aktarılmış ve fideler serada yetiştirilmiştir. 2 yıl sonra, fidelerden aşı gözleri kesilmiş ve *Poncirus trifoliata* anacı üzerine aşılanmıştır. 1 yıl sonra aşılanan bitkiler ‘Istituto Sperimentale per l’Agricoltura’ deneme parseline “Palazzelli” (Siracusa, İtalya) aktarılmıştır. Her bir ağaçtan değişik olgunluk safhasında 20 meyve Kasım 2000’den Mart 2001’e toplanmış. ‘Oroval’ ve ‘Moro’ portakalı meyve olgunlaşması boyunca su miktarını, toplam çözünen kuru madde (SÇKM), toplam asitlik (TA), SÇKM/TA oranı, potansiyel sağlığa etkili vitamin C, flavanonlar, anthosiyeninler ve fenolik asitler gibi içerikler analiz edilmiştir. OMO-31 melezinde su miktarı, SÇKM, T ve SÇKM/TA oranı değerleri ‘Moro’ portakalı ile aynı olduğu tespit edilmiş. OMO-31’in C vitamini içeriği ‘Clementine’den daha yüksek ancak ‘Moro’ portakalından daha düşük ama olgunluk safhasında 3 genotip arasında hiçbir fark olmadığı bulunmuştur. Olgunlaşma safhasında OMO-31’de antosiyenin, flavanone ve hidrosinamik asit miktarları dikkate değer şekilde ebeveynlerinden yüksek bulunmuştur. Bu yeni meyve antioksidan maddelerin açısından önemli olduğunu ortaya konmuştur.

Serttaş (2003), ‘Dancy’, ‘Encore’, ‘Fairchild’, ‘Fortune’ ve ‘Kinnow’ çeşitlerini kullanmış ve bu çeşitlerin *in vitro* koşullarda çiçek tozu canlılık, çimlenme ve üretim miktarları incelemiştir. Yapılan tozlamalarda serbest tozlama, yapay

tozlama ve kendilemelerin sonucunda meyve tutma düzeyi, meyve büyüme hızı ve elde edilen meyvelerde meyve kalite özellikleri incelenmiştir. Çiçek tozu canlılığı yönünden 'Fortune', 'Fairchild' ve 'Kinnow' çeşitleri en yüksek değerleri vermiştir. %17.5 sakkaroz konsantrasyonunda çiçek tozu çimlenmesinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Çiçek tozu canlılığı ve çimlenmesi ile ilgili testlerde birbirine paralel sonuçlar çıkmıştır. 'Fortune', 'Kinnow' ve 'Fairchild' çeşitlerinin tozlayıcılık yeteneklerinin yüksek olduğu ancak 'Kinnow'un periyodisite göstermesi nedeniyle tozlayıcı olarak önerilemeyecektir. 'Fortune' ve 'Fairchild' ile karışık bahçe kurulması ile meyve tutumu ve kalitesi açısından olumlu sonuçlar alınabilecektir. En yüksek meyve tutumu 'Dancy' × 'Fortune' (%10.47) kombinasyonundan sağlanmıştır. 'Fairchild' çeşidinde en şiddetli dökümlerin ilk sayımda gerçekleşmiş ve 'Fairchild' × 'Fairchild' melezlemesinden son sayımda hiç meyve elde edilmemiştir. 'Fortune' ile melezleme incelendiğinde en yüksek meyve tutumu 'Fortune' × 'Kinnow' melezlemesinden, meyve dökümünde ise 'Fortune' × 'Dancy' melezlemesinden ve 'Fortune' serbest tozlamasından en şiddetli meyve dökümü meydana gelmiş. 'Encore' çeşidi tozlamasında en yüksek meyve tutumu 'Encore' serbest tozlamasından, en düşük değer ise 'Dancy' × 'Encore' (%5.71) uygulamasından elde edilmiştir.

Recupero vd. (2005), triploid turunçgil melezlerinin yetiştiriciliği Instituto Sperimental per l'Agricoltura Enstitüsü'nde yapılmaya başlanmıştır (Starrantino ve Reforgiato, 1981). Bir monoembriyonik 2× dişi ebeveyn ile bir 4x erkek ebeveyn melezlemede kullanılmıştır. Embriyo:andosperm arasındaki 3:4 oranı *in vivo* çimlenme yeteneğindeki melezlerden tohumlar oluşturur. Bu çalışmada şeker portakalı (*Citrus sinensis* L. Osbeck.), mandarin (*Citrus reticulata* Blanco), 'Clementine' (*Citrus reticulata* Blanco), altıntop (*Citrus paradisi* Macf), pummelo (*Citrus maxima*), tangor (*Citrus reticulata* × *Citrus sinensis*), limon (*Citrus limon* (L.) Burm f.), ağaç kavunu (*Citrus medica* L.), *Fortunella hindsii* (Champ.) Swingle bitkilerini içeren 22 değişik ebeveynden triploid melezlerin ana karakteristiği rapor edilmiş ve tetraploid ebeveynin dublex olduğu, çünkü çekirdeğin çift kromozom sayısından veya diğer somatik dokulardan ortaya çıktığı görülmüştür. Ayrım ve rekombinasyon işlemi 2×'ten 4×'e yakın olarak triploid melez karakteristikleriyle sonuçlanmıştır. Bu stratejinin geri melezleme generasyonundan sonra bir ebeveyne yakın tohumuz meyve elde etmede önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Gülşen vd. (2006), 'Clementine' mandarini ana ebeveyn ve 'Minneola', 'Orlando' tanjeloları ile 'Kara' mandarini çiçek tozu kaynağı olarak kullanılarak melezleme üç farklı populasyon üzerinde yürütmüşlerdir. Çöğür gelişimi Mersin'de bulunan Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü arazilerinde iki populasyon yarı kontrollü sera koşullarında, bir populasyon ise açık arazi koşullarında incelenmiştir. Çöğür gelişimi açısından her üç populasyon da devamlı varyasyon göstermiştir ki bu çok gen tarafından kontrol edildiğini göstermektedir. Her üç populasyonda da zayıf gelişen veya tamamen kuruyan bitki sayıları normal gelişme gösteren bitkilerden yüksek bulunmuştur. Sapma değerleri (skewness) sırasıyla 0.25, 0.38 ve 1.00 olarak hesaplanmıştır. Bu çalışma turunçgillerde melezleme programlarında yakın akrabalar arası melezlemelerde kendileme depresyonunun önemli kayıplara sebep olabileceğini ortaya çıkarmıştır. Melezlemeden elde edilen toplam bitkilerden kuruma oranları 'Clementine' × 'Minneola' tanjelo'da %8.7, 'Clementine' × 'Orlando' tanjeloda % 10, 'Clementine' × 'Kara' mandarininde %11 bulunmuştur.

Eken (2006), 'Robinson' mandarin çeşidinde 'Dancy', 'Fairchild', 'Klemantin SRA-70', 'Klemantin SRA-73', 'Lee', 'Marsh Seedless', 'Nova', 'Sunburst' tozlayıcı çeşitleri kullanılarak bu çeşitlerin *in vitro* koşullarda çiçek tozu canlılığı, çiçek tozu çimlenmesi ve çiçek tozu üretim miktarları incelemiştir. 'Robinson' ana çeşidinde yapılan yabancı tozlama, kendileme ve değişik tozlayıcılarla yapılan yapay tozlamalar sonucunda meyve tutma düzeyi ve büyüme hızı ve meyvelerin meyve kalite özellikleri saptanmıştır. Çiçek tozu canlılık testleri sonucunda en yüksek değerler 'Klemantin SRA-70', 'Fairchild', 'Dancy', 'Klemantin SRA-73' ve 'Sunburst' çeşitlerinden elde edilirken, 'Marsh Seedless' altıntop çeşidinin çiçek tozu canlılık düzeyi yeterli bulunmamıştır. Çiçek tozu çimlendirme testlerinde 'Marsh Seedless' altıntop çeşidi hariç tüm çeşitlerde en yüksek çimlenme %15 ve %20'lik sakkaroz konsantrasyonlarından elde edilmiştir. Çiçek tozu üretim miktarları yönünden en yüksek değer 'Marsh Seedless' çeşidinden elde edilmiştir. 'Fairchild', 'Lee' ve 'Klemantin SRA-73' mandarin çeşitlerinin tozlayıcılık yeteneklerinin yüksek düzeyde olduğu, buna karşılık 'Marsh Seedless' altıntop çeşidinin tozlayıcılık yeteneğinin çok düşük olması nedeniyle tozlayıcı olarak önerilemeyeceği belirlenmiştir.

Karp (2007), İtalya'ya yaptığı seyahatte Istituto Sperimentale per L'Agrumicoltura, Acireale, Sicilya'daki islahçılar tarafından yürütölen melezleme çalışmalarını incelemiştir. Melezleme ile mandarin benzeri meyvelerde

renklenmeyi artırmak ve bu durum melezlemelerin ikinci neslinden tescil edilen seleksiyonları piyasaya sürerek mümkün olmuştur. Hepsi triploid ve tohumsuzdurlar. ‘Monreal’ Clementine’i ve ‘Tarocco’ kan portakalının 2 melezi olan ‘Tacle’ ve ‘Clara’ çeşitlerinin tadına bakmıştır. Dr. Giuseppe Reforgiato Recupero’ya göre günümüzde İtalya’da kültüre alınmış olan böyle kan mandarinleri 400 da (100 acres)’ın üzerindedir. Birkaç yıl önce o ve çalışma arkadaşları, ‘Alkanta’ (‘Oroval’ Clementine × ‘Tarocco’) ve ‘Mandared’ (‘Nules’ Clementine × ‘Tarocco’)’i piyasaya sürmüşlerdir.

Antosiyaniinli pummelo (şadok) ve altıntop (greyfurt)’lar henüz kayıtlara geçmemişler. Ancak University of California, Riverside (UCR)’dan turunçgil ıslahçıları Dr. Robert Soost ve Dr. James Cameron, önceki çalışmalarının bir parçasında, melez altıntop benzeri turunçgil bitkileri olan ‘Oroblanco’ ve ‘Melogold’ çeşitlerini elde etmişler. Şubat ayının ortasında olgunlaştığı için ‘Valentine’ takma ismi ile anılan en ümit var seleksiyon, ‘Siamese’ tatlı pummelo × (‘Dancy’ mandarini × ‘Ruby’ kan portakalı) melezidir (Karp, 2007). Bu çeşit, pummelo ebeveyninden meyve iriliği ve düşük asitliği, ‘Dancy’ ebeveyninden karmaşık çiçek kokusunu ve ‘Ruby’ ebeveyninden sulu kırmızı pulpu birleştirmektedir. Bu meyve, yaklaşık yarım düzine ağacın denendiği UCR’daki Turunçgil Çeşit Koleksiyonu’nunun gözdesi olmuştur. Bazen ‘Dawn’ takma ismi ile anılan diğer bir kayda değer kan portakalı melezi, ‘Siamese’ tatlı pummelo × ‘Ruby’ kan portakalı melezidir. Bu çeşit ‘Valentine’den daha küçük ve daha az renklenmektedir. Ancak eşit derecede lezzetli ve çekirdeksizdir.

Rapisarda vd. (2009), ‘Oroval’ Clementine ile kan portakalının değişik çeşitlerinin melezlenmesiyle elde edilen pigmentli ve pigmentsiz yeni turunçgil melezlerinin meyve suları meyve kalitesi ile bağlantılı parametreler (SÇKM, TA, pH) elde etmek için ve askorbik asit, toplam fenolikler, flavanonelar, antosiyaniin ve fenolik asitlerin miktarı analiz etmişlerdir. Antioksidan aktivitesi ‘Tarocco’da düşük bir değerde iken OTA9 mezinde ebeveyninden daha yüksek bulunmuştur. Yüksek antioksidan aktivitesi ile çok miktarda polyfenol içeriğine sahip olması bazı melezlerin fotokimyasalların en zengin kaynakları olduğu düşünülmüştür. ‘Clementine’ çeşidinin vitamin C içeriği 51.64 mg/100ml iken ‘Clementine’ × ‘Tarocco’ melezi OTA31’de 91.30 mg/100ml değeri ile ana ebeveyninden yüksek bulunmuş, antosiyaniin miktarında ise ‘Tarocco’da 116.79 mg/l iken OTA 9 mezinde 497.45 mg/l ile yine ebeveyninden yüksek değerde bulunmuştur. OTA9 mezinin polifenollerde en zengin olduğu görülmüş ve bu melezin meyvesi veya

suyunun sağlıkta ve hastalıkları engellemede yararlı bir yiyecek olabileceği önerilebilecektir. Yiyecek ve ilaç olarak kozmetikde ve antioksidan maddeler üretmede meyve ham maddesi olarak bu melezin suyu kullanılabilceği ortaya konmuştur.

Seday (2010), “Turunçgillerde Aşı Gözü Seleksiyon Sertifikasyonu ve Çeşit Geliştirme Projesi” kapsamında seleksiyonla elde edilen ve Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü (ALATA), Mersin’de yürütölen denemelerde verim ve kalite özellikleri bakımından ön plana çıkan bazı Klemantin mandarin tiplerinde (A67, A82, A90, D22) kendileme, karşılıklı tozlama ve değişik çeşitlerle yabancı tozlama sonucunda, meyve tutma oranları ve bazı meyve kalite özelliklerinin ne şekilde etkilendiği belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda meyve tutumu ve kalitesi bakımından kullanılan tipler için en uygun tozlayıcılar olarak ‘Kütdiken’ limon çeşidi ve ‘Klemantin Nour’ mandarin çeşidi ön plana çıkmıştır. ‘Kütdiken’ limonunda çiçek tozu canlılığı ve çimlenmesi düşük bulunmasına rağmen çiçek tozu sayısı yüksek çıkmıştır. ‘Valencia’ portakalına ait çiçek tozlarının kullanıldığı uygulamalarda hem meyve tutumu düşük olmuş, hem de meyveler küçük kalmıştır. Kendileme ile elde edilen meyvelerin tohumsuz olduğu belirlenmiştir.

Javaid vd. (2010), mandarinde elit karakterde bazı yeni melezler bulmak için Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü’nde çalışma yapmışlardır. ‘Feutrell’s Early’nin en az 500 çiçeği emasküle edilmiş, (‘Feutrell’s Early’ x ‘Kinnow’) melezlenmiş, torba ile izole edilmiş ve etiketlenmiş. F₁ meyvelerini aldıktan sonra tohumlar çıkarılmış ve ekilmiştir. Fiziko-kimyasal analizler yapılmıştır. Oluşan yeni melezler her iki ebeveynden (‘Feutrell’s Early’ ve ‘Kinnow’) çok daha sulu olduğu (55.79%), çok daha az tohum (11) içerdieği görölmüştür. Bu yeni melez ağırlıkta (120.54 g) ve büyüklükte (2733 cm) her iki ebeveynden de daha az ortalamaya sahip olduğu ama ‘Feutrell’s Early’den daha fazla asit (%0.69), ‘Kinnow’dan daha az asit içerdieği tespit edilmiştir.

Hossain ve Rabbani (2011), Bangladeş Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde limon türüne ait seçilen 8 genotipte diallel melezleme yapmışlardır. Sonuçta düşük yüzde de meyve verimi ortaya çıkmış, ancak bazı melezleme kombinasyonları arasında seçilen genotipler uyumsuzluk göstermiştir. Meyve verimi ve tohum verimi kendine uyumsuzluk belirtisi olduğundan melezlemede, kendi kendine tozlamadan daha yüksek görölmüştür. Tohumsuz meyveyi elde

etmek için kendine uyumsuzluk başarılı şekilde kullanılabilir. Kendine tozlamadan %17-32 (ebeveyn P3-P2) arasında meyve tutumu elde edilmiş. P3 ebeveyni tohumuz meyve elde ettirmiştir. Ebeveynden P2 ile melezlemeden (17-24), P6 (15- 22), P4 (15-19), P1 (13-18) tohum içeren meyve elde edilmiştir. Hossain ve Rabbani (2011)'e göre Yamamoto ve Tominaga, 2002'de yaptıkları çalışmada, Keraji'deki (*Citrus keraji*) tohumuzluğun dişi steriliteden, kendi kendine uyumsuzluktan ve partenokarpiden oluştuğunu belirtmiştir. Bu çalışmadaki P1 × P2 (56%), P2 × P3 (56%), P2 × P6 (52%), P4 × P6 (52%), P1 × P5 (48%), P1 × P6 (48%), P1 × P7 (48%), P2 × P4 (48%) ve P4 × P5 (48%) melez kombinasyonlarından bu oranlarda meyve verimi elde edilmiştir. P2 × P3 (21-33) en yüksek, P3 × P7 (3-7) en az tohum elde edilmiştir. Daha önceki çalışmalarda Vardi vd. (2008) mandarinde kendine uyumsuzluk olduğunu bildirmişlerdir.

Çevik ve Moore (2011), turunçgillerde anaçlar için önemli bir özellik olan çok embriyoluluk ve önemli bir meyve kriteri olan çekirdeksizlik özelliklerinin kalıtımını cinsler arası karmaşık melez bir popülasyon kullanılarak analiz etmişlerdir. Yapılan analizler sonucunda 48 ağaçtan 27'sinin meyveleri tamamen çekirdekli, 7 tanesinin tamamı çekirdeksiz ve geriye kalan 14 ağacın ise hem çekirdekli hem de çekirdeksiz olduğu saptanmıştır. Çekirdekli ve çekirdeksiz meyve veren ağaçların sayılarının 1:1, 2:1 ve 3:1 genetik ayrışma oranları çekirdekliliğin bir veya birkaç genle kontrol edildiğini önermiştir. Popülasyondaki tüm bireylerin %4 ile %92 arasında değişen oranlarda çok embriyoluluk gösterdiği ve ortalama oran ise %51.4 olduğu tespit edilmiştir. Bu popülasyonun bireylerinin çok embriyoluluk oranlarının normal dağılım göstermesi bireylerin bu özellik açısından aralıksız çeşitlilik (varyasyon) gösterdiğine işaret ederek çok embriyoluluğun çok genle kontrol edilen kantitatif bir özellik olduğunu göstermiştir.

2.3. Turunçgillerde Moleküler Belirteçler ile İlgili Bazı Çalışmalar

Filho vd. (1998), turunçgillerde 10 tür ve 7 melez içeren 35 mandarin genotipleri arasındaki genetik benzerliği belirlemek için RAPD markörleri kullanmışlardır. Bir octamer ve 21 decamer primeri 109 RAPD bandı üretmiş ve bunlardan 45'inin polimorfik olduğu görülmüştür. Genetik benzerliği ölçmek için Jaccard katsayısı ve fenogram üretmek için UPGMA kullanılmıştır. RAPD'ler bazı özel belirteçleri üretmek için yeterlidir. Genotipler birkaç grupta toplamıştır. Mandarin grubunda genetik benzerliğin yüksek ve yetiştirilen mandarinlerin dar bir genetik tabana

sahip olduğu için *C. reticulata* Blanco'nun genetik olarak birbirinden farklı bireylerden oluşan tek bir tür olduğunu bildirmişlerdir.

Ruiz vd. (2000), 2 farklı popülasyon melezlerinden elde edilen bitkilerin nusellar nesilden ve zigotik nesilden olanları, melez veya kendi kendine tozlananları ayırt etmek incelenmiştir. Genellikle genç bitkilerin genetik orijinleri belirlemek için izoenzim belirteçleri kullanılmıştır. Turunçgil bitkilerinin seksüel orijinini tanımlamada mikrosatellit belirteçler çok etkindir. $P \times O$ popülasyonundan bitkiler SSR TAA41 için görüntülenmiş ve sadece 6 tanesinin nusellar olduğu belirlenmiştir. Mikrosatellitler 4 alleli ayırt edebilmiştir. Her bitkinin genotipi hatasızca belirlenebilmiştir. 4 ve daha fazla SSR ile analiz edildiğinde kalan 3 bitkinin zigotik olduğu görünmüştür. SSR ve izoenzimin etkisini karşılaştırmak, nusellar ve zigotik bitkileri ayırt etmek için 14 zigotik birey 3 izoenzimik sistem kullanılarak karşılaştırılmıştır. Bitkilerin orijininin nusellar olmadığı belirlenmiştir. Aynı popülasyon mikrosatellitlerle analiz edildiğinde 6 zigotik bitki bulunmuştur. Kendi kendine melezlemeyle üretildiği zaman, turunçgil ve turunçgil türlerinin zigotik bitkileri çok zayıf olmakta ve çok erken ölmektedirler. Zigotik özelliklerin tanımlanmasında SSR'larla analiz izoenzim analizlerinden daha etkin olmuş ve daha fazla zigotik bitki tespit edilmiştir.

Li ve Quiros (2001), *Brassica oleracea* L.'nin çift haploid hatlarını ve doğal rekombinant hatlarında SRAP belirteç sistemini test etmişler. İlk 5 döngü için bağlanma (annealing) sıcaklığı 35°C, takip eden 35 döngüde 50°C'ye ayarlamışlar. DNA parçalarının çoğalması denatüre akrilamid jel ile ayrılmakta ve autoradyografi ile belirlenmektedir. Sıralamadan sonra izole edilen jel bantlarının %45'i gen bankasında bilinen genlerle eşleşmiş. SRAP belirteçlerinin yüzde 20'si kodominant olduğu görünmüştür. SRAP belirteçlerinin dağılımı 9 ana bağlantı (linkage) grubunda ortaya çıkmıştır. Bağlantı haritasının yapısı AFLP markörleri ile bu konuda farklı olmadığını ortaya koymuştur. Başarılı bir şekilde glucosinolate denatürasyonu BoGLS-ALK geniyle etiketlenmiştir. SRAP'lar patates, pirinç, marul, Çin lahanası (*Brassica rapa* L.), kolza tohumu (*Brassica napus* L.), sarımsak, elma, turunçgil ve kereviz gibi diğer ürünlerden kolayca çoğaltılmıştır.

Oliviera vd. (2003), RAPD markörleri kullanarak turunçgil melez popülasyonu ayırt etmişlerdir. 'Cravo' mandarini ile 'Pera' şeker portakalı arasında 94 F₁ melezi üzerinde 123 RAPD belirtecinin ayrımı analiz edilmiştir. Genetik

kompozisyonu, çeşitlilik, heterozigotluk, farklılıklar kromozomal yapıda zararlı resesif genler, elde edilen ayırım oranları tartışılmıştır. Belirteçlerin en yüksek oranı F_1 popülasyonunda umulan ayırım oranı 1:1'den sapmadır (skeweness). Birçok belirteç, muhtemelen doğrudan seçim işleminden dolayı tüm çeşitlerde 3:1 ayırım oranı gösterirken, 'Pera' şeker portakalında 1:3 ayırım oranı göstermiştir. 'Crova' mandarini için 53 ve 'Pera' sweet portakalı için 12 RAPD belirteci elde edilmiştir. Bunlar bir ebeveyn için heterozigot iken diğer ebeveyn için homozigot bulunmuştur. 'Pera' şeker portakalıyla 'Cravo' mandarini arasında genetik benzerlik olduğundan dolayı, ebeveynler arasında yüksek homoloji yapısı ve fonksiyonu, belirteçlerin düşük ayırım eğrisini göstermelidir. RAPD belirteçlerinin sıklık dağılımı açığa çıkarmıştır ki verilerde normal bir dağılım elde edilmemiştir. 'Cravo' mandarini için belirteçlerde anlamlı fark elde edilmiştir. 'Pera' şeker portakalı için önemli derecede anlamlı bir fark elde edilmemiştir. Her iki sonuç da gösterir ki ayırım tipleri 1:1'e yakındır. 'Cravo' mandarinin ayırım eğrisi diğer türlerde bahsedilene yakın seviyede olmasına rağmen, 'Pera' şeker portakalından 'Cravo' mandarini anlamlı bir şekilde daha büyüktür. Birkaç hipotez açıklayabilir ki 'Pera' şeker portakalı belirteçlerin daha büyük bir ayırımını göstermiştir.

Göçmen vd. (2004), mandarin ıslah programı ile erkenci, meyve kalitesi yüksek, ince kabuklu mandarin çeşidi elde etmek hedeflemiştir. Islah programında 'Satsuma' × 'Clemantine' melezlemesi ile 404 bitki elde edilmiştir. Ancak Satsuma'nın poliembriyonik olması nedeniyle elde edilen bitkilerin zigotik olup olmadığını belirlemek için bitkinin meyve vermesi gerekmektedir. Zigotik bitkileri erken dönemde belirleyip poliembriyonik olanları elemek amacıyla RAPD moleküler tekniği kullanılmıştır. 404 bitkiden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. 'Satsuma' ve 'Clemantine' çeşitlerinin genetik olarak birbirine oldukça benzer olduğu belirlenmiş ve 'Satsuma' ve 'Clemantine' mandarininde toplam 62 monomorfik DNA bantı oluşmuş ve polimorfik DNA bantı belirlenmemiştir. Moleküler belirteçler ve fenotipik gözlem sonucunda seçilen bireylerin paralellik gösteren sonuçlarında; 343 bitki poliembriyonik, 32 bitki zigotik olarak belirlenmiştir.

An vd. (2008), *Citrus sinensis* Osbeck cv. 'Yoshida' navel orange ile *Citrus unshiu* Marc. cv. 'Okitsu' satsuma mandarini arasındaki türlerarası somatik melez olan allotetraploid bitkilerini yeniden üretmişler. 'Okitsu' yapraklarından gelen kalluslardan üretilen protoplastlarla 'Yoshida' yapraklarından birleştirilmiş protoplastlar kimyasal olarak izole edilmişler. Kültürden 6 ay sonra 102 bitki elde

edilmiştir. Bu melezler farklı yaprak morfolojileriyle DNA ışık yoğunluğu ve DNA analizleri tanımlanmıştır. Ploidi analizleri flow cytometry yoluyla 102 bitkiden 12'sinin tetraploid olduğunu, geri kalanlarının morfolojik olarak mezofil ebeveyne benzeyen diploidler olduğunu ortaya çıkarmıştır. SRAP analizleri bu tetraploid bitkilerden 9 tanesinin allotetraploid olduğunu doğrulamıştır. Bunlardan tohumlu turuncgil çeşitlerini geliştirmek ve örneğin 'Ponkan' mandarini, lemon ve kumquat gibi triploid tohumuz hibritler üretmek için muhtemel bir polen ebeveyni olarak kullanılabilir.

Uzun ve Yeşiloğlu (2012), bu çalışmada kullanılan 250 portakalın genetik benzerliği 0.86 ile 1.00 arasında değişim göstermiştir. 'Chironja' 0.86 en uzak benzerlik katsayısına sahiptir. Çünkü zigotik orijinden türemiştir. Portakallar genel, düşük asitli, pigmentli, göbekli olmak üzere 4 grupta sınıflandırılırlar. Bazı araştırmacılar portakallar arasındaki genetik benzerlik seviyesini 0.96 ile 1.00 arasında bulmuşlardır. Şeker portakallarının dar bir genetik temele sahip olduğunu bulmuşlar. Ekonomik olarak kullanılan bütün çeşitler melezlemeden elde edilmiştir. Mandarinler arasında melezlemeler mandarin × mandarin, mandarin × pummelo, mandarin × portakal veya mandarin × tanjelodan türemiştir. Bütün tanjelo ve tangorlar portakal ve pummeloların yerine mandarinlere daha yakındır. Diğer taraftan 'Ellendale', 'Ortanique', 'Mandora', 'Lake' tanjelo, 'Orlando' tanjelo, 'Thornton' tanjelo, 'Seminello' tanjelo, 'Sampson' tanjelo ve 'Robinson' ve 'Nova' mandarinleri ('Clementine' × 'Orlando'dan elde edilen) yakın olarak gruplandırılmıştır. 'Ortanique'in portakal ile mandarin arasında doğal bir melez olduğu rapor edilmiştir. 'Tankan', 'Ponkan', 'Minneola' tanjelo, 'Batangas', 'Swatow' nusellar ve 'Fuzhu' yakın olarak gruplandırılmıştır. 'Ponkan' and 'Batangas' sinonim olarak belirtilmiştir. 'Tankan', portakal ve mandarin melezi olarak rapor edilmiştir. Diğer çeşitler 'Fremont', 'Kinnow' ve 'Murcott' iç içe birbirine geçmiş melez orijine sahiptir. 'Fremont', 'Clementine' × 'Ponkan' ve 'Murcot', portakal ve mandarin melezlemesinden elde edilmiştir. 'Sunburst', 'Fairchild', 'Encore' aynı küçük grupta bir araya gelmiştir. 'Sunburst' ve 'Fairchild' yakın bağlantılı bulunmuştur. 'Fairchild', 'Clementine' × 'Orlando' melezlemesinden ve 'Encore', 'King' × 'Willowleaf' melezlemesinden elde edilmiştir. 'Fortune', 'Clementine' ve 'Dancy' arasındaki bir melez olarak 'Clementine' ile daha çok bağlantılı bulunmuştur. Bütün 'Clementine' klonları yüksek kalite ve değişik olgunluk zamanı ile klonal seçimden elde edilmiştir. Bunların birçoğu yeni çeşitler olarak kaydedilmiştir. 42 'Clementine' genotipi ile

SRAP belirteçleri kullanarak yapılan son araştırmaya göre genetik benzerlik 0.96'nın üzerinde bulunmuştur. 'Clementine A 64' seçilen Türk çeşidi diğer genotiplerden ayrılmıştır. Diğer 41 genotip 0.99'da iki gruba ayrılmıştır. Group A 6 Clementine genotipinden meydana gelen Türkiye'den seçilmiş ve bütünü tanımlanmıştır. 35 yabancı 'Clementine' genotipini içeren Group B'de, sadece 34 tanesi tanımlanmıştır. 'Clementine SRA 87' diğerlerinden ayrılmıştır. 'Clementine' genotiplerinin genetik çeşitliliği çok düşüktür. Onların birçoğu birbirinden ayrılmamıştır. 7 genotip Türkiye'den orijinlenmiş ve yabancı genotiplerden ayrılmıştır. 7 Türk 'Clementine' genotipinin 6'sı tanımlanmıştır. Türk ve diğer genotipler coğrafik durumuna göre SRA Fransa'dan, 'Clementine SRA 87', 'Fino' İspanya'dan, 'Algerian Tangerina' Cezayir'den olarak gruplandırılmıştır. Türk genotipleri uzun yetiştiricilik periyodundan ve yabancı çeşitlerin etkisinin olmamasından dolayı düşük polimorfizme sahiptir. RAPD temeline göre 'Clementine'de polimorfizm sınırlı bulunmuştur. 'Clementine'ler genetik olarak benzerdir. 'Clementine'lerin polimorfizmi düşük bulunmuş ve sadece 2 genotip ayrılmıştır. Yeni çeşitler spontan somatik mutasyonlardan dikkatli seçimle üretilir.

Uzun vd. (2009a), Aurantioidea'da 86 turunçgil ve akrabaları arasındaki ilişkiyi bulmak için SRAP belirteçleri kullanılmıştır. 21 SRAP primer kombinasyonu her bir primer kombinasyonu 17.9 ile 376 polimorfik parça toplamı üretmiştir. Nadir allellerde de çalışılmıştır. %5'ten %10'a daha az sıklıkta meydana gelen bantların adedi sırasıyla 376'nın dışında 239 ve 311 adet elde edilmiştir. Bantların bu kadar yüksek meydana gelmesi muhtemelen bu çalışmada genotiplerin arasındaki bantların uzaklığındandır. Nadir bantlar seleksiyon baskısı, gen akışı ve yönelimin birleştiği mutasyondan dolayı meydana gelmiş olabilir. Ağırlıksız parça aritmetik ortalama çift metodu grubu analizleri (UPGMA, unweighted pair group mathematic average) 0.64 ortalama ile 0.28 'den 1.00'e benzer bir kapsama sahip olduğunu göstermiştir. Citrinae (turunçgil ağaçları) ve turunçgile yakın akraba ağaç grupları açıkça birbirinden ayrı değildir, ancak bu grupta her cins farklıdır. Öte yandan, subgenus Papeda ve subgenus Citrus dendrogramları birbirinden açıkça ayrılmış değildir. *C. maxima*, *C. medica* ve *C. reticulata* üç gerçek temel tür tezi ile uyuşan üç ayrı kümeye ayrılmıştır. Benzerlik tabanlı analizler Aurantioidea'da birkaç ata tür oluşu teorisini desteklemiştir.

Uzun vd. (2009b) Türkiye'de turunçgil koleksiyonlarında yer alan kaba limon genotiplerinde SRAP belirteçleri ile genetik çeşitliliği incelemişlerdir. Ayrıca

bunların muhtemel ebeveyni olarak bilinen mandarin ve ağaç kavunu ile ilişkileri araştırılmıştır. Çalışma 21 adet primer kobinasyonu ile yapılmış ve veriler NTSYS paket programında analiz edilmiştir. Çalışmada, 182 adet bant elde edilmiş ve bunların 143 adedi polimorfik bulunmuştur. Dendrogramda materyaller arasındaki benzerlik düzeyi 0.65 ile 1.00 arasında saptanmıştır. Kaba limonlar ağaç kavunu ve mandarine sırasıyla 0.65 ve 0.69 düzeyinde benzer bulunmuştur. Genel olarak kaba limonlar içerisinde düşük düzeyde bir varyasyon olduğu tespit edilmiştir.

Uzun (2009), Türkiye turunçgil koleksiyonlarında bulunan turunçgil türleri ve bunların akraba gruplarına ait 825 adet genotipte SRAP belirteçler ile genetik çeşitliliği ortaya koymuştur. Çalışmada 21 adet primer kombinasyonu kullanılmış ve materyaller tür gruplarına göre sekiz ayrı gruba ayrılmıştır. Verilerde her grup ayrı olarak değerlendirilmiş ve daha sonra gruplar birleştirilerek toplam 10 ayrı değerlendirme yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, portakal, limon, altıntop ve turunç türleri içerisinde düşük düzeyde varyasyon olduğu saptanmıştır. Mandarin, şadok ve ağaç kavununun turunçgiller içerisindeki üç temel tür olduğu görüşü bu çalışmada da desteklenmiştir. Dendrogramda bütün genotiplerin benzerlik düzeyleri 0.21 ile 1.00 arasında değişmiştir. *Citrus* cinsi içerisinde, limon-ağaç kavunu, şadok-altıntop, mandarin-portakal grupları olmak üzere üç ana grup oluşmuş ve diğer *Citrus* türleri de bunların arasına dağılmıştır. Gerçek turunçgiller içerisinde *Citrus* cinsine yakınlık olarak diğer cinslerin sıralanması, *Fortunella*, *Eremocitrus*, *Poncirus* ve *Microcitrus* şeklinde olmuştur. ‘Yakın (Benzer)’ ve ‘İlkel’ turunçgiller ‘Gerçek’ turunçgillerden daha uzakta yer almışlar.

Uzun vd. (2011), SRAP ve SSR belirteçleri ile 45 Limon (*Citrus limon* (L.) Burm. f.), 5 ağaç kavunu (*Citrus medica* L.), 4 kaba limon (*Citrus jambhiri* Lush) ve 2 Volkamer limonu (*Citrus volkameriana*) koleksiyonları arasındaki genetik çeşitlilik değerlendirilmiştir. SSR primerleri 2.0 parça ortalaması ile 26 tane polimorfik parça toplamı üretirken, 21 SRAP primer kombinasyonu da her bir kombinasyonda 6.7 parça ortalaması ile 141 polimorfik parça toplamı üretmiştir. SRAP ve SSR verilerinin birleştirilmesiyle elde edilen aritmetik ortalama analizleri 0.65-1.00’a benzer bir kapsama sahip olduğu bulunmuştur. Kaba limonlar ve *C. volkameriana* koleksiyonları akraba olarak yakın bağlantılı bulunmuştur. Limon gruplarında melez orijinden koleksiyonlar diğerlerinden uzak bağlantılıdır. Koleksiyon çalışmaları arasında en iyi akrabalık sunumu için temel bileşenler analizlerine (PCA, principle component analysis) başvurulmuştur. Buna göre orijinal boyutlardaki toplam farklılığın %87’si ilk 2 PC ile tanımlanan 2

boyut tarafından temsil edilmiştir. Bütün koleksiyon yakın akraba olarak ayrılabilmesine rağmen, limon çeşitleri arasında ortaya çıkan genetik çeşitliliğin düşük seviyede olduğu bulunmuştur.

Gulsen vd. (2010), SRAP, SSR, ISSR, peroksidaz gen polimorfizmi (POGP), dirençli gen analogu (RGA, resistance gene analog), RAPD ve morfolojik belirteçler turunçgillerde *Alternaria kahverengi* lekesine neden olan (*Alternaria alternata* f. sp. *citri*) ‘Clementine’ ve ‘Orlando’ arasında türeyen 164 F₁ bireyi popülasyonu turunçgil genetik bağlantı haritası elde etmek için kullanılmıştır. Toplam 609 belirteç; 385 SRAP, 97 RAPD, 95 SSR, 18 ISSR, 12 POGP, and 2 RGA belirteç içeren bağlantı analizlerinde kullanılmıştır. ‘Clementine’ bağlantı haritası 215 belirteç içermekte, 9 bağlantı grubuna yerleşen 144 test melezi ve 71 melez arası karşılaştırılmıştır. ‘Orlando’ bağlantı haritası 9 bağlantı grubunda yerleşik 126 test melezi ve 61 ara melez karşılaştırması 189 belirtece sahip olduğu bulunmuştur. *Cabsr* (*Alternaria kahverengi* benek hastalığına dayanıklılık geni) için ayırım oranı 1:1’den dikkate değer bir şekilde farklı değildir.

Turunç (2010), ‘Klemantin’ mandarininde genetik bağlantı haritasının oluşturulmak için *C. maxima* ve *C. clementina* popülasyonu kullanılmıştır. ‘Chandler’ pummelo × ‘Clemenules’ melezlemesinden elde edilen 190 melez birey 46 SSR belirteci kullanılarak çoğaltılmıştır. Bu çalışmaya yurtdışından birçok kuruluştan dahil olmuştur. Projenin ana hedefi Turunçgil Genom Haritası’nı oluşturmaktır. Genetik haritanın oluşturulmasında I. aşama analizlerinde, tez kapsamında çalışılan 46 SSR primeri kullanılmış ve elde edilen 9 bağlantı grubunda 26 belirteç haritalanmıştır. Projeye katılan tüm ortakların verileri birleştirilerek II. aşama analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler sonucunda 33 primer tez kapsamında çalışılan primerler olmak üzere 247 SSR primeri ile genetik harita oluşturulmuştur. Genetik haritada 247 belirteç 10 gruba dağılmıştır.

SRAP belirteç sistemi *Paeonia suffruticosa* Andrews (Han vd, 2008; Hao vd., 2008), dut (Zhao vd. 2009), kayısı (Uzun vd., 2010) ve yonca (Yuan vd., 2011) bitkilerinde de kullanılmıştır.

2.4. Diğer Çalışmalar

Rouse ve Sherrod (1996), çalışmalarında turunçgil çeşitlerinin optimum çimlenme sıcaklıkları belirlenmiş. Turunç, Smooth Flat Seville, *Citrus obovoidea*, Gou Tou, Zhu Luan, Cleopatra mandarin, Sun Shu Sha, X-639, Ridge Pinapple, Carrizo citrange, Benton Citrange, C-35 citrange, Swingle Sitrumelo, F80-18 Citrumelo, Rangpur lime × Troyer Citrange, Kaba Limon ve *Poncirus trifoliata* olmak üzere 17 turunçgil çeşidinin tohumları 15.56-37.78°C (60-100°F) arasında çimlenmeleri ölçülmüştür. *P.trifoliata* 25.0°C (77.0°F), Rangpur × Troyer 32.3°C (90.5°F) optimum tohum çimlenme sıcaklığı ölçülmüş. Tüm çeşitler için ortalama optimum çimlenme sıcaklığı 29.7°C (85.5°F) hesaplanmıştır.

Shinde vd. (2007), 27 turunçgil anacının çimlenme ve polyembriyoni çalışması yapılmış. En yüksek çimlenme %54-81 yüzde ile L-19 Rangpur laym, yerel Iambheti, Chettali kaba limonu, Malta limon, L-12 Eureka limon, yerel Rangpur laym, L-2 Rangpur laym, Sohmyndong, *Citrus macrophylla*, Nemu-tenga, Narangi Cborg, Calamondin ve Galgal limon çeşitlerinden elde edilmiştir. Troyer citrange, Canizo citrange, Cleopatra mandarin (Grabstan), Troyer citrange (Punjab), Citrange A.P., Mannalade portakal ve Savage citrange'nda %31-45 yüzde ile düşük çimlenme elde edilmiş. Kalan anaçlarda %46-53 tohum çimlenmesi görülmüş. Lambheri local, Sohmyndong, Narangi Cborg, *Citrus macrophylla*, kumquat, Galgal limon, Kichili ve Marmalade portakalı'nda polyembriyoni en yüksek, Malta limon, Savage citrange ve Bengal citrange'nda en düşük görülmüştür.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. 'Clementine' Mandarinini

'Clementine' mandarinini tahminen Çin orijinlidir ve Çin'in 'Canton' mandarininin özelliklerine benzer. 1890'da Oran, Fas'ta Father Clement Rodier tarafından seçilmiş ve dünya çapında en geniş dikim alanına sahip ve ekonomik önemde olan mandarindir (Davies ve Albrigo, 2005). 'Clementine' mandarininin, turunç (*C. aurantium*) ve mandarinin (*C. deliciosa*) tesadüfi bir melezi olduğu ileri sürülmektedir (Turunç, 2010). Kuzey Afrika, Akdeniz boyunca ve kısmen Güney Afrika'ya iyi adapte olmuş ve geniş dikim alanına sahiptir. 'Clementine' ağaçları yoğun bir şekilde yaprak örtüsüne sahip, orta derecede geniş taç ve çok yüksek ürün oluştururlar. Meyveleri mükemmeldir. Kabuğu kolay soyulabilen özelliktedir. Meyveler 'Monreal' hariç çekirdeksizdir ve Avrupa pazarında iyi pazar bulmaktadır. Nemli subtropik ve tropik yetişme alanlarına Akdeniz iklimi kadar iyi adapte olamaz. Değişik 'Clementine' çeşitleri hasat zamanı verim ve meyve büyüklüğü açısından farklılıklara sahiptir. Bazı yıllar meyve büyüklüğü istenenden az olmasına rağmen, 'Fina' yüksek kalitede orta mevsim meyve üretimi ile İspanya endüstrisinin başlıca çeşididir. 'Marisol' ve 'Oroval', 'Fina'nın daha erken olgunlaşan seleksiyonlarıdır. 'Nules' ağaç üzerinde uzun süre dayanan, daha geç olgunlaşan ve bir çeşittir. Hermafrodit çiçek yapısına sahip olmakla birlikte kendine uyuşmaz ve monoembriyoniktir. Nusellar embriyonu oranı ise %0'dır (Davies ve Albrigo, 2005). Bu döllenme biyolojisi özelliklerinden dolayı ana ebeveyn olarak kullanılmıştır. Melezlemede ana ebeveyn olarak kullanılan 'Clementine' ağacı Adnan Menderes Üniversitesi (ADÜ) Ziraat Fakültesi (ZF) Araştırma ve Uygulama Çiftliği, Aydın arazisinde bulunmaktadır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Melezlemede kullanılan ‘Clementine’ ağacı ADÜ ZF, Aydın

3.1.2. Kan (Pigmentli) Portakalları

Kan portakalları İtalya, İspanya, Fas, Cezayir ve Tunus gibi bazı Akdeniz ülkelerinde ticari öneme sahiptir. Ancak bu bölge dışında geniş ölçüde yetiştirilmemektedirler. Akdeniz iklimi altındaki sıcak gündüz ve en önemlisi, serin gecelerde yetiştirildiği zaman, meyveler kabukta da oluşabilen koyu kırmızı et rengi oluştururlar. Meyve görüntüsü, çok çekici ve içsel kalitesi mükemmeldir. Et rengi, yüksek gece sıcaklıklarında subtropik ve tropik alanlarda aynı kırmızılığa erişmez. Kırmızı renk, altıntop ve portakallardaki sırasıyla likopen ve karotenoid pigmentlerinden ziyade, domates ve elmadaki başlıca pigment olan antosiyanin pigmentinden dolayıdır. En önemli kan portakalları şunlardır: ‘Tarocco’, ‘Sanguinello’, ‘Sanguinelli’, ‘Moro’, ‘Maltaise Sanguine’. Hermafrodit çiçek yapısındadır (Saunt, 1990; Davies ve Albrigo, 2005).

‘Sanguinello’nun kaynağı belli değildir. Ancak Etna Dağı’nın güneyindeki Paternò yakınlarında 19.yüzyılda keşfedilen ‘Sanguigno’nun bir mutasyonu olabileceği düşünülmüştür. Minik “ello” açık kan kırmızısı renklenmeyi ifade etmektedir. Gerçekte bu tipin ırkları tipik olarak ‘Moro’ ve ‘Tarocco’dan daha parlak

kırmızıdır, ancak gerçek “yarı kan portakalları” kadar açık renkli değildir. Tatlı ve zengin lezzetli ‘Sanguinello’ diğer İtalyan çeşitlerinden biraz daha geç olgunlaşır; ağaçta uzun süre kalır. Bu yüzden genellikle şubattan nisana kadar pazarlanır (Karp, 2007).

‘Tarocco’, kan portakallarının kralı olarak tanımlanmaktadır. 1900 civarında yazılı olmayan kaynaklara göre Francofonte’de keşfedilmiş ‘Sanguinello’nun bir mutasyonudur. Ya ‘Minneola’ tanjeloya benzer bir “boyna” sahip olan orijinal tipin bir oyuncağın tepesine benzediği için ya da tarot kartları için kullanılan İtalyanca kelimedenden isimlendirilmiştir. ‘Tarocco’ ortadan büyüğe değişen meyve, gevrek, parçalanmamış meyve eti ve tatlı iyi dengeli lezzeti ile taze tüketim portakalı olarak İtalya’da değer bulmakta ve kan portakalı üretiminin %60’ını karşılamaktadır (Karp, 2007).

‘Moro’ (“Moor”) 20.yüzyılın başında Lentini, İtalya yakınlarında ‘Sanguinello Moscato’dan geliştirilmiştir. Meyve eti bordo-kırmızısından siyaha kadar değişir. Tadı acı-ekşidir. İtalya’da başlıca yoğun, keskin kokulu, koyu renkli meyve suyu yapımında kullanılır (Karp, 2007).

Baba ebeveyn olarak kullanılan kan portakalı çeşitlerinden ‘Moro’, ‘Sanguinello’, ‘Tarocco’, Sicilya, İtalyan kökenlidir ve Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Merkezi (BATEM) Turunçgil Koleksiyon Bahçesi, Antalya’dan temin edilmiştir. Bu İtalyan kan portakalı çeşitlerinin 2010 yılı beyaz balon safhasındaki çiçekleri 07.04.2010 tarihinde BATEM’den toplamış ve 14 saat sonra kargo ile soğuk ortamda elimize ulaşmıştır. K1, K2 genotiplerinin 2010 yılı çiçekleri 05.04.2010 tarihinde toplanmıştır. K1, K2, H1, H2, H3, A1, A2, A3 ebeveynleri ise yerli kan portakalları olup Aydın ilinde yetiştirilmektedir. Yerli kan portakalı genotiplerinden H1 ve H2’nin çiçekleri Hilmi SALBAŞ adlı üreticinin Söke’deki bahçesindeki 2 farklı ağaçtan, H3 çiçekleri ise yine Söke’deki Hüseyin ÜNLÜ adlı üreticinin bahçesinden 16.04.2011 tarihinde temin edilmiştir. A1, A2, A3 genotiplerine ait beyaz balon safhasındaki çiçekler ise Aydın ili Ata Mahallesi’ndeki 2 farklı şahsın bahçesinden 20.04.2011 tarihinde toplanmıştır. K1 ve K2 kan portakalları çiçek örnekleri 17.04.2011 tarihinde Aydın’ın Merkez ilçesindeki Mehmet KARAKAYA isimli şahsın bahçesinden temin edilmiştir.

13 melez çöğür ve 2 ebeveyne (C, K1) ait yapraklar 22.06.2012 tarihinde toplanıp SRAP çalışmasında kullanılmak üzere laboratuvara getirilmiştir.

Melezleme çalışmasında kullanılan ana ve baba ebeveynin özellikleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Ana ve baba ebeveyni temsil eden kısaltmalar

Genotip	Tür Adı	Çeşit Adı	Kullanıldığı Melezleme Yılları	Bulunduğu Yer
C	<i>Citrus reticulata</i>	‘Clementine’	2010,2011	ADÜ- Aydın
M	<i>Citrus sinensis</i>	‘Moro’ (Kan Portakalı)	2010,2011	BATEM- Antalya
S	<i>Citrus sinensis</i>	‘Sanguinello’ (Kan Portakalı)	2010,2011	BATEM- Antalya
T	<i>Citrus sinensis</i>	Tarocco (Kan Portakalı)	2010,2011	BATEM- Antalya
K1	<i>Citrus sinensis</i>	K1 (Kan Portakalı)	2010, 2011	Aydın
K2	<i>Citrus sinensis</i>	K2 (Kan Portakalı)	2010, 2011	Aydın
H1	<i>Citrus sinensis</i>	H1 (Kan Portakalı)	2011	Söke- Aydın
H2	<i>Citrus sinensis</i>	H2 (Kan Portakalı)	2011	Söke- Aydın
H3	<i>Citrus sinensis</i>	H3 (Kan Portakalı)	2011	Söke- Aydın
A1	<i>Citrus sinensis</i>	A1 (Kan Portakalı)	2011	Aydın
A2	<i>Citrus sinensis</i>	A2 (Kan Portakalı)	2011	Aydın
A3	<i>Citrus sinensis</i>	A3 (Kan Portakalı)	2011	Aydın

3.2. Yöntem

Çalışma çiçeklerde, melezleme ve SRAP olarak üç bölümde yürütülmüştür.

3.2.1. Başçık Toplanması (Kan Portakalları)

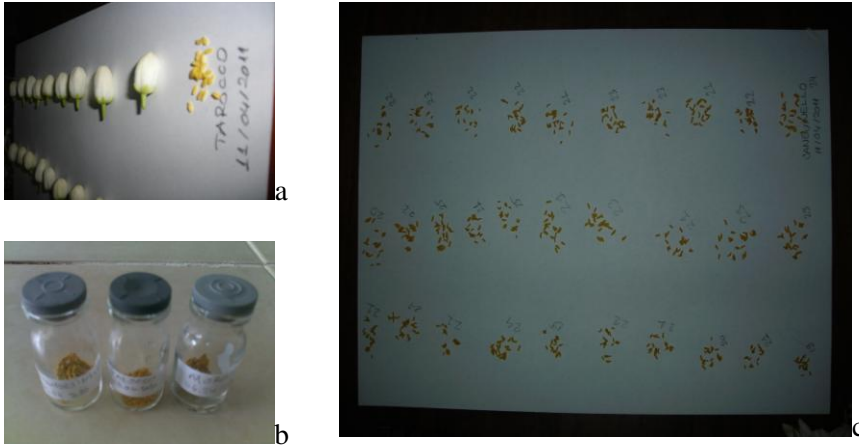
2010 yılı için melezleme ve sayımlarda kullanılmak üzere M, S, T çeşitlerine ait çiçekler 07.04.2010 tarihinde BATEM Turunçgil Koleksiyon bahçesinden, K1 ve K2 genotiplerinin çiçekleri ise 05.04.2010'da araziden toplanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. 'Moro' (a) ağaç, (b) çiçek, (c) 'Sanguinello' çiçek, (d) ağaç, (e) 'Tarocco', çiçek, (f) ağaç, BATEM, Antalya

2011 yılı için melezleme ve sayımlarda kullanılmak üzere beyaz balon safhasındaki M, S, T çeşitlerine ait bitkilerin çiçekleri 11.04.2011, H1, H2, H3 genotiplerine ait çiçekler 16.04.2011 tarihinde, K1, K2 genotiplerinin çiçekleri 17.04.2011 tarihinde, A1, A2, A3 genotiplerinin çiçekleri ise 20.04.2011 tarihinde toplanmıştır.

Her iki yılda da erkek ebeveynlerden beyaz balon safhasında toplanan çiçeklerin erkek organ başçıkları, toplandığı gün laboratuvarında ayrı ayrı A4 beyaz kâğıdı üzerlerine dökülmüştür. Bir gece oda şartlarında (20°C) masa lambası ışığı altında bekletildikten sonra patlayan başçıklar, kâğıt üzerine dökülen çiçek tozları ile birlikte kapaklı küçük iğne şişelerine (filokon) yerleştirilmiştir. Çiçek tozları melezlemede ve çiçek tozu canlılık, çimlendirme testlerinde kullanılmaya kadar buzdolabında (4°C) saklanmıştır (Eti, 1991) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Kan portakalına ait (a) beyaz balon safhasındaki çiçekler, (b) beyaz balon safhasında toplanmış ve patlatılmış filokon şişe içerisindeki çiçek anterleri ve tozları, (c) başçık sayımı

Başçık Sayısı: M, S, T kan portakalı çeşitlerinin 2010 yılı için beyaz balon safhasındaki açmak üzere olan toplam 15 adet çiçek Antalya BATEM'den isteğimiz üzerine 07.04.2010 tarihinde toplanıp aynı gün kargoya verilip ertesi gün saat 10:00-11:00 civarında laboratuvara ulaşır ulaşmaz bu çiçekler beyaz A4 kağıdı üzerine 5'erli 3 grup halinde sıralanmıştır. 2011 yılı için ise M, S, T çeşitlerinin 11.04.2011, H1, H2, H3 genotiplerinin 16.04.2011, K1, K2 genotiplerinin

17.04.2011, A1, A2, A3 genotiplerinin çiçekleri 20.04.2011 tarihinde alınmış ve beyaz A4 kağıdı üzerine 10'arlı 3 grup halinde sıralanmıştır. Daha sonra her 2 yılda da çiçeklerin taç yaprakları koparılıp başçıkları her bir çiçeğin çiçek tozları diğeriyle karışmayacak şekilde grup halinde dökülmüştür. Her bir gruptaki başçıklar sayılmıştır (Eti, 1991) (Şekil 3.3).

Çiçek Tozu Sayısı (Hemasitometrik Lam): Çiçek tozu (pollen) miktarı Eti (1990)'dan değiştirilerek yapılmıştır. 2011 yılındaki aynı çeşide ait açmak üzere olan 20 adet çiçek alınmıştır. Genotiplerin herbiri için beyaz kağıt üzerinde başçık sayımları yapılmış ve ortalamaları alınmış ve kaydedilmiştir. Daha sonra çiçekler 10'arlı 2 grup halinde filakon şişeler içersine koyulup güneş alan bir odada kapalı bir pencere önüne bırakılarak başçıkların patlaması sağlanmıştır. Daha sonra sayımdan önce bir damla patlayan başçıkların homojen dağılımını sağlamak amacıyla yüzey gerilimini azaltacak bir madde ve 1 damla su (tarımsal savaş ilaçları, hormon veya bulaşık deterjanı) lam'a damlatılmıştır. Daha sonra şişe içersinden alınan 1 adet başçık damlatılan deterjan üzerinde ezilerek çiçek tozlarının düşmesi sağlanmış ve anter uzaklaştırılarak üzerine kalın yapılı özel bir lamel kapatılıp çiçek tozu sayımları yapılmıştır. 2'şer sayma odacığına sahip lam'da 1 sayma odacığında rasgele seçilen 4'er büyük karedeki çiçek tozları sayılmış, kaydedilmiş ve 4'er büyük karenin ortalaması alınmıştır. Bu bir karedeki ortalama çiçek tozu sayısını vermektedir. Her bir çiçekteki ortalama çiçek tozu sayısında şu hesaplama göre: Her büyük karede 1 başçığa ait çiçek tozu sayısı örneğin iki filakon şişenin bölge sayımlarından elde edilen çiçek tozu miktarı ortalaması örnek bir çeşit için 7.25 hesaplanmış olsun. 1 damla suyun hacmi (0.040-0.050 ml (40 – 50 µl) (Erkoç ve Elçin, 2011) alınmıştır. 1 damla deterjan hacmi 0.050 ml hesaplanmıştır.

100 = 1 damla suyun hacmi+ 1 damla deterjan hacmi.

$$(0.05 + 0.05)ml= 0.1 \times 1000= 100)$$

0.2= Bir büyük karede lameller arasındaki hacim (mm³)

7.25 x 100/ 0.2= 3625 bir başçığa ait çiçek tozu sayısı

21.45= Bir çiçekteki başçık sayısı

3625 x 21.93= 79496 bir çiçekteki çiçek tozu sayısını vermektedir.

Çiçek Tozu Canlılık Testi (TTC Testi): TTC (2, 3, 5 triphenyle tetrazolium chloride) ile Eti (1991)'ye göre %10'luk stok çözeltisi hazırlanmıştır. Çiçek tozlarının osmatik basınçtan dolayı patlamalarını önlemek için bu çözeltiden 1 kısım alınarak üzerine 9 kısım %60'luk sakkoroz çözeltisi ilave edilmiştir. TTC miktarı %1'lik olmuştur. %1'lik TTC çözeltisinden 1 damla alınarak bir lam üzerine damlatılmış ve üzerinede elimizdeki filakon şişelerdeki çiçek tozlarından suluboya fırçası yardımıyla püskürtülmüştür. Daha sonra damlanın üzerine lamel kapatılarak boyama işleminin gerçekleşmesi amacıyla 2 saat bekletilmiştir. Bunun ardından boyanan çiçek tozları mikroskop altında 10×10'luk büyütmede boyanarak kırmızı renkte olanlar canlı, boyanmayan çiçek tozları cansız olarak değerlendirilmiş ve her bir ebeveynde 3'er bölgede sayımlar yapılmıştır (Eti, 1991). Elde edilen canlı-cansız çiçek tozları TARİST veri analiz programında yardımıyla değerlendirildi. 2011 yılı çiçek tozlarında M, S, T ebeveynlerinin TTC testi 12 Nisan 2011 tarihinde, K1, K2, A1, A2, A3, H1, H2, H3 ebeveynlerinin ise 22 Nisan 2011 tarihinde yapılmıştır.

Çiçek Tozu Çimlendirme Testi (Doymuş Petri): %0, 5, 10, 15, 20, 25'lik sakkoroz (0, 250, 500, 750, 1000, 1250 mg sakkoroz) ve %1'lik (50 mg) agar içeren çözelti hazırlanmıştır. Çimlendirme ortamını hazırlamak için yukarıda verilen ölçülerde agar ve sakkoroz erlenmeyer içine üzerine 100 ml saf su eklenerek ısıtılmıştır ve çözünen karışım her Petri kabına (6 cm Øçap) yaklaşık 10'ar ml olacak şekilde dökülmüştür. Hafif soğuyan ortam üzerine fırça yardımıyla çiçek tozu ekimi yapılmıştır. Her ortam için 3 Petri kabına ekim yapılmış ve Petri kabında 3 farklı alanda çimlenen çiçek tozu okuması yapılmıştır (ekimden 18-48 saat sonra). Çimlenen çiçek tozlarının toplam çiçek tozlarına oranı yüzde olarak hesaplanmıştır (Eti, 1991; Dayı, 2003).

3.2.2. Emaskulasyon ('Clementine')

Ana ebeveynin beyaz balon safhasındaki çiçeklerinin taç yaprakları (petals) ve erkek organları (stamens), dişi organa (pistil) zarar vermeden elle uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.4).

3.2.3. Melezleme

Bahçe bitkilerinde iki farklı çeşit özelliğine sahip bireylerin özelliklerini yeni bireye aktarmak amacıyla erkek ebeveyne ait çiçek tozlarının dişi organın dışıca tepeciği (stigma) üzerine bırakılmasından sonra döllenme gerçekleşip meyve oluşmasıyla sonlanan işlemdir.

Buzdolabında filokonlarda +4°C’de saklanan kan portakallarının 2010 yılına ait (M, S, T, K1, K2) çiçek tozları 07-10.04.2010, 2011 yılına ait (M, S, T, K1, K2, H1, H2, H3, A1, A2, A3) çiçek tozları arazide ‘Clementine’ bitkisinin dişi organ tepeciğine (stigma) sulu boya fırçası yardımıyla 02-18.05.2011 tarihleri arasında sürülmüştür. Daha sonra işlemi tamamlanmış olan çiçekler 2010 yılı izolasyonsuz, 2011 yılı ise kese kâğıtları ile izolasyona tabii tutulmuştur (Şekil 3.5). 2011 yılında ayrıca ‘Clementine’de kendi kendine tozlaşma olup olmadığını kontrol için beyaz balon safhasındaki ağaç üzerinde 4 farklı yerdeki çiçek hüzmesi (salkım) kese kağıdı ile izole edilmiştir.



Şekil 3.4. ‘Clementine’ çeşidine ait (a) beyaz balon safhasındaki, (b) taç yaprakları alınmış çiçek, (c) emaskülasyona tâbii tutulmuş çiçek



Şekil 3.5. (a) Filokon şişe içersindeki çiçek tozlarını fırça ile tozlama işlemi, (b) izolasyon işlemi, (c) melezleme ve (d) sonrasında izolasyon işlemi tamamlanmış 'Clementine' ağacı

Melezlenen bireylerden elde edilen melez bitkilerin yaprakları ADÜ ZF Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama seralarında melez çöğürler yetiştirilerek SRAP analizi için yapraklar kullanılmıştır.

3.2.4. Tutan Meyve Sayımı

2010 yılında melezlemeden yaklaşık 2 ay sonra tutan meyve sayımları yapılmış ve bu sayımdan yaklaşık 4 ay sonra meyveler hasat edilmiş ve sayımlar kaydedilmiştir. 2011 yılında ise yapılan melezlemelerin ardından 1. sayım 2 hafta sonra ve 2. sayım 1. Sayımdan 3 hafta sonra yapılmış ve 2. sayımdan 5 ay sonra meyveler hasat edilmiş ve sayımlar kaydedilmiştir.

3.2.5. Meyve Eldesi, Tohum Çıkarma, Tohum Ekimi, Torbalara Şaşırtma

2010 yılı melezlemesi sonucu oluşan meyveler 25.10.2010, 2011 yılı melezlemesi meyveleri 19.11.2011 tarihinde toplanmıştır. Elde edilen meyvelerden çıkarılan tohumlar viyollere 3:1 (torf:perlit) ortamına 2010 yılı 5 farklı melezleme kombinasyonuna ait tohumlar 29.10.2010, 2011 yılı 11 farklı melezleme kombinasyonuna ait tohumlar 19-25.12.2011 tarihlerinde ekilmiştir. Çimlenen

tohumlardan elde edilen 42 adet 2010 yılı melez çöğürleri 3 L'lik siyah naylon torbalara şaşırtılmıştır. Çöğürler 2010 Kasım-2011 Ocak döneminde sera içersinde takip eden mart ayında sera dışına beton zemin üzerine aktarılıp, sulama ve yabancı ot alımları gibi bakım işlemleri de yapılarak çöğürler büyütülmüştür.

2011 yılı melezleme kombinasyonlarından elde edilen meyvelerin tohumları ekildikten sonra belirli aralıklarla çimlenmeleri sayılmış, çimlenme yüzdeleri hesaplanmış ve kaydedilmiştir.

3.2.6. SRAP Analizi Yapılması

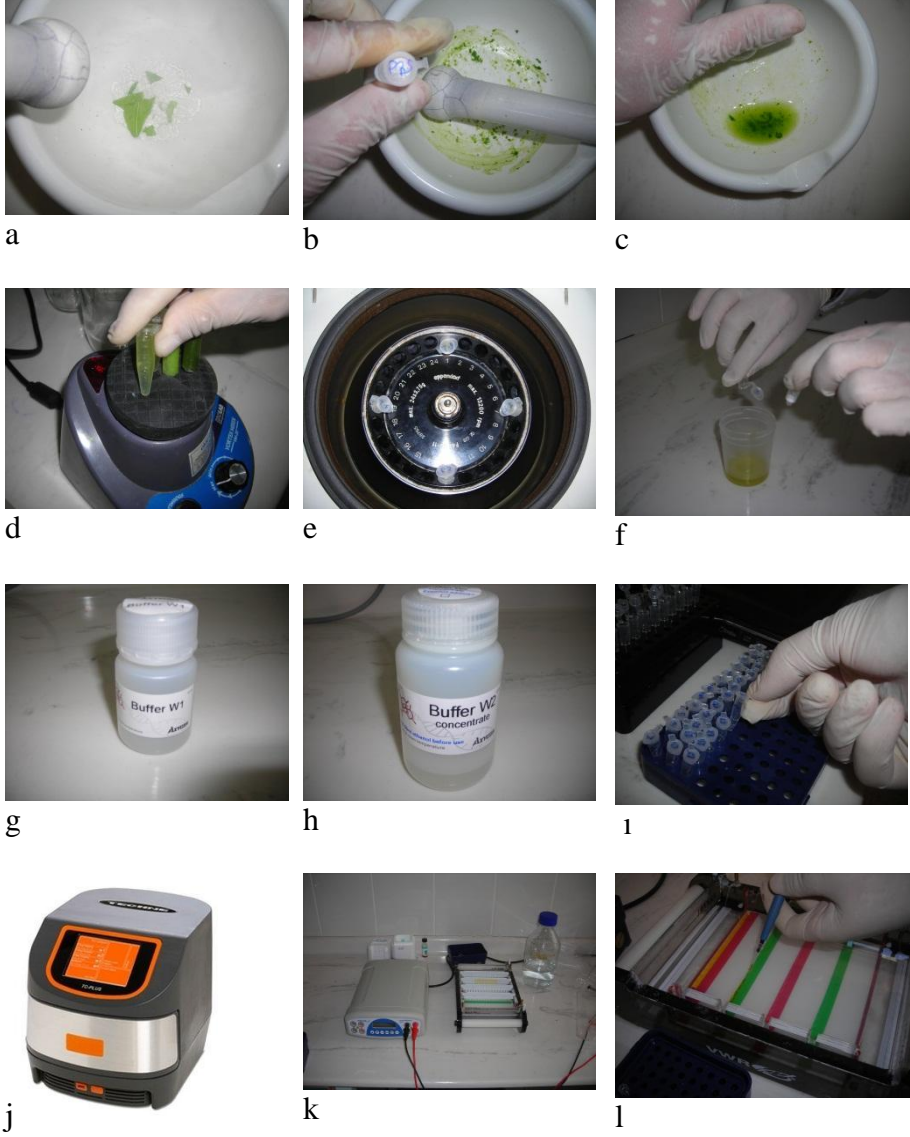
3.2.6.1. DNA çıkartılması (Ekstraksiyon)

Yaprak örneklerinden DNA'ların çıkartılması için ticari DNA çıkartma solüsyonları (AxyPrep™ Multisource Genomic DNA Miniprep Kit) kullanılmıştır.

2011 yılında C, K1, K2 ve 41 melez bireye ait 44 adet yaprak örneği 06.08.2011 tarihinde toplanıp soğutucu kap içersine konarak labaratuvara getirilip buzdolabına yerleştirilmiştir. 'Moro', 'Sanguinello', 'Tarocco' çeşitlerine ait yaprak örnekleri ise 12.08.2011 tarihinde BATEM Turunçgil Koleksiyon Bahçesi'nden her bir çeşide ait 10'ar yaprak 10:00-12:00 saatleri arasında toplanıp torbalara konarak araç buzuğu yardımıyla aynı gün labaratuvara getirilip buzdolabına (4°C) konmuştur. Toplam ebeveyn bireyler dahil 47 adet bireye ait yaprak örnekleri sıvı azot yardımıyla 1.5 ml'lik mikrofüj tüplerde dondurularak cam baget yardımıyla 06.08.2011-14.08.2011 tarihleri arasında aşağıdaki 5 aşamada DNA'ları çıkartılmıştır. Bu 47 DNA'ya PCR uygulanmış ve daha sonra elektroforez ve görüntüleme yapılmış ancak bantlarda tam net görüntü elde edilemediği için o çalışmaya son verilmiştir. Daha sonra 2012 yılında 2 ebeveyn birey ve 13 melezin aşağıdaki aşamalardan geçerek yeniden DNA'ları çıkartılmıştır.

2012 yılında C, K1 ve 13 melez bireye ait yaprak örnekleri 22.06.12 tarihinde toplanıp araç çakmağından güç alan buzuğa konarak labaratuvara getirilip buzdolabına (4°C) yerleştirilmiştir. Toplam 15 adet bireye ait yaprak örnekleri sıvı azot yardımıyla dondurularak havan ile 23.07.2012-24.07.2012 aşağıdaki işlemler uygulanarak DNA çıkartılmıştır (Şekil 3.6):

- 1- Yaprak örnekleri 50-110 mg kadar tartıldıktan sonra alkol ile yıkanmış ve kurulanmıştır. Daha sonra havan ve eli yardımı ile 50-110 mg 15 yaprak örneği ayrı ayrı sıvı azot ile dondurularak toz haline getirilmiştir. 350 µl+ 350 µl PBS (56°C'de) daha sonra 1.0 µl RNase A eklenmiştir. Nazikçe 30 s karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Homojen karışım 2 µl'lik mikrofuj tüpe aktarılmış ve yaklaşık hacmi belirlenmiştir.
- 2- Önce 20 µl Proteinase K sonra 150 µl Buffer C-L eklenmiştir. Hemen 1 dak vortekslenmiştir. 56°C'de 10 dak inkübasyondan sonra kısa süreli santrifij yapılmıştır (kapaktaki damlaları düşürmek için).
- 3- 350 µl Buffer P-D eklenir. 2500 xg'de 30 sn vorteks yapılmıştır. 12,000×g'de 10 dak oda sıcaklığında santrifüj (diğer hücresel maddeleri pelte halinde çöktürmek için) yapılmıştır. Daha sonra miniprep kolonu 2.0 ml'lik tüpe yerleştirilmiştir. Süpernatantı (şeffaf üst fazı, 1000 µl) dikkatlice pipet yardımıyla Miniprep kolonun içerisine aktarılmıştır. 12,000×g'de 1 dak santrifij edilmiştir. Ardından dipteki süzüntü tüpten uzaklatılmıştır. Miniprep kolon 2.0 ml'lik tüpün içersine tekrar yerleştirilmiştir. Miniprep kolonun içersine (üzerine) 500 µl Buffer W1 eklenmiştir. 12,000×g'de 1 dak santrifij edilmiştir.
- 4- Dipteki süzüntü tüpten uzaklaştırılmıştır. Miniprep kolon 2 ml'lik tüpün içersine tekrar yerleştirilmiştir. Miniprep kolon içersine (üzerine) 700 Buffer W2 eklenmiştir. 12,000×g'de 1 dak santrifij edilmiştir. Tekrar 700 µl Buffer W2 eklenmiştir. 1 dak santrifij edilmiş ve tekrar dipteki süzüntü tüpten uzaklaştırılmıştır. Miniprep kolon 2.0 ml'lik tüpün içersine tekrar yerleştirilmiş ve. 12,000×g'de 1 dak santrifij edilmiştir.
- 5- Miniprep kolon 1.5 ml'lik yeni tüpe yerleştirilmiştir. Filtrenin ortasına 200 µl 65°C'de bekleyen eluent eklenmiştir. Oda sıcaklığında 1 dak bekletilmiştir. 12,000×g'de 1 dak santrifij edilmiştir. Daha sonra analizde kullanılmak üzere buzdolabında (+4 °C) bekletilmiştir (**Şekil 3.6**).



Şekil 3.6. (a) Sıvı azot ile dondurma, (b) Donmuş yaprağın havan ile ezilmesi, (c) Yaprak özütüne PBS eklenmesi, (d) Tüplerin vorteks, (e) Tüplerin santrifüjü, (f) Tüp dibindeki süzöntünün uzaklaştırılması, (g) Buffer W1, (h) Buffer W2, (i) PCR için hazır durumda olan tüpler, (j) PCR cihazı, (k) Tabakadan tarakların çıkarılması, (l) Jele PCR ürünü ve 6× yükleme boyası karışımı aşamaları.

3.2.6.2. PCR

DNA çıkartılması ve SRAP (sequence-related amplified polymorphism) analizi için kullanılacak primerlerin seçiminde Li ve Quiros (2001), An vd. (2008), Uzun vd. (2009), Gulsen vd. (2010), Ikten vd. (2010)'ndan değiştirilerek yapılmıştır. PCR solusyonu: Her bir örnek için 1.5 µl 10× Buffer *Taq* tampon, 1.1 µl MgCl₂, 0.33 µl dNTP, 1.2 µl BSA, 0.2 µl *Taq* DNA polymerase (5 µ/µl), 0.6 µl ileri primer ve 0.6 µl geri primer, 1.0 µl kalıp DNA eklenmiştir. Üzerine karışımı 15 µl'ye tamamlayıncaya kadar 8.47 µl steril ddH₂O eklenerek karıştırılmıştır. Her bir tüpe buharlaşmayı engellemek için 1 damla mineral yağ eklenmiştir. Tüpler 0.2-10.0 µl tabakalara dizilerek tabaka birkaç kez mermere vurulmak suretiyle yağın üstte karışımın dibte olması sağlanmıştır. Daha sonra tüpler PCR cihazına (thermal cycler) yerleştirilmiştir. 3 dak 95°C, 94°C 45 s, 30 s 35°C, 1 dak 72°C'de 5 döngü; 45 s 94°C, 30 s 50°C, 90 s 72°C'de 35 döngü ve 7 dak 72°C'de final uzatması programı ile çoğaltılmıştır. DNA çoğaltmasında Çizelge 3.2'deki primer çiftleri karşılıklı olarak eşleştirilerek kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. SRAP analizinde kullanılan primer kombinasyonları

No	İleri	(5'→3')	Geri	(5'→3')
1	Me1	TGAGTCCAAACCGGATA	Em14	GACTGCGTACGAATTCTT
2	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em1	GACTGCGTACGAATTAAT
3	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em2	GACTGCGTACGAATTTGC
4	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em3	GACTGCGTACGAATTGAC
5	Me3	TGAGTCCAAACCGGAAT	Em9	GACTGCGTACGAATTCAG
6	Me11	TGAGTCCAAACCGGAAC	Em9	GACTGCGTACGAATTCAG
7	Me11	TGAGTCCAAACCGGAAC	Em10	GACTGCGTACGAATTCAT

3.2.6.3. Gel elektroforezi

PCR ürünlerini yürütmek için % 2'lik jel 1.6 mg agaroze, 80 ml 0.5× Buffer eklenerek mikrodalga fırında cam şişeler içersinde çok hafif kaynaması sağlandı. Mikrodalga fırından çıkartılan şişe içersine jeli görüntülemek için 3.2 µl ABM Safe Wave sıvısı eklenmiştir. Daha sonra sıcaklığın düşmesi için oda sıcaklığında 10-15 dak bekletilmiş ve 16'lık 4 adet tarak yerleştirilmiş tabakalara hızlı bir şekilde dökülmüştür. Jelin donması sağlandığında elektroforez cihazının içersinde taraklar çıkartılmıştır. PCR ürünleri kuyucuklara 3 µl 6× yükleme boyası, 15 µl PCR ürünü 0.2 ml'lik tüp içersinde karıştırılarak tüpten 9 µl karışım alınıp kuyucuklara pipetlenmiştir. PCR ürünleri elektroforez cihazında %2.0 agaroz jelde 100 V, 200 mA, 30-60 dak süresince yürütölmek suretiyle ayrıldı. Jeller UV ışık altında gözlenmiştir (Gulsen vd., 2010).

3.2.6.4. Verilerin analizi

Jelde gözlenen bantlar var (1), yok (0) şeklinde sayılarak kayıt edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmada elde edilen bulgular 3 aşamada, çiçek tozu özellikleri, melezleme ve SRAP çalışması olarak verilmektedir.

4.1. Çiçeklerde Yapılan Çalışmalarda Elde Edilen Bulgular

2011 yılı melezleme çalışmalarında kullanılan çiçeklerde yapılan çiçek tozu canlılık, çimlendirme ve miktar sayımları test sonuçları verilmektedir.

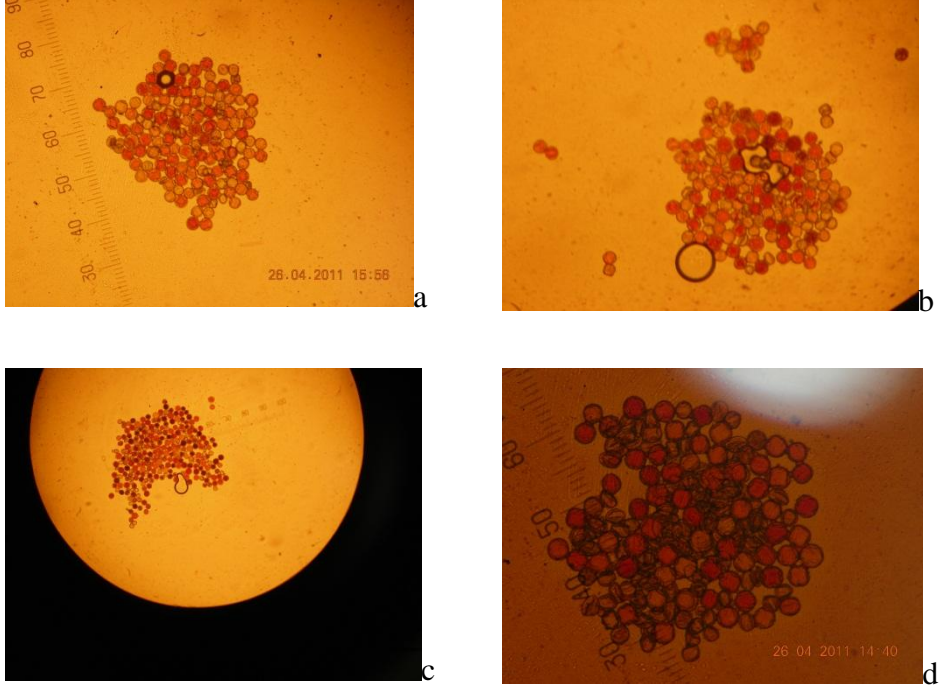
4.1.1. Çiçek Tozu Canlılık Testleri

Toplanan çiçeklerden elde edilen M, S, T çeşitlerine ait çiçek tozlarına TTC testleri 12.04.2011 tarihinde sayımları canlı-cansız olarak sayımlar yapılmış, yüzde olarak değerler hesaplanmış ve kaydedilmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. TTC testi sonucu saptanan 3 çeşide ait çiçek tozlarının canlılık düzeyleri (%)

Çeşitler	TTC 1. GÜN (%)
M	7.43 b
S	22.15 a
T	17.46 ab
	Boyama 12.04.11-17:00 Okuma -12.04.11-19:00

3 çeşidin birarada yapıldığı teste göre çiçek tozları alındıktan sonraki 1.gündeki rakamlasal olarak en yüksek değer %22.15 ile 'Sanguinello' çeşidine, en düşük değer %7.43 ile 'Moro' çeşidine ait çiçek tozlarından elde edilmiştir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Kan portakallarına ait canlı-cansız çiçek tozları. (a) H3, (b) A1, (c, d) A3 (Büyütme: 10×10) (Fotoğraflarda ayrıca fotoğraf makinesi büyütmelerinden de yararlanılmıştır.)

Toplanan çiçeklerden elde edilen 8 yerli kan portakalı genotipine ait çiçek tozlarının birarada değerlendirildiği TTC testi 22.04.2011 tarihinde sayımlar yapılmış ve sonuçları kaydedilmiştir. Veriler TARİST veri analiz programında işlenerek Çizelge 4.2 (Ek Çizelge 1)'da görüldüğü gibi %5 seviyesinde önemli bulunmuştur. Buna göre ilk gün sayımları değerlendirildiğinde H3 genotipi çiçek tozları tüm genotipler arasında %43.38 ile en yüksek canlılığa, K2 genotipi %1.32 ile en düşük canlılığa sahiptir.

Çizelge 4.2. TTC testi sonucu saptanan 8 genotipe ait çiçek tozlarının canlılık düzeyleri (%)

Çeşitler	TTC 1. GÜN (%)
A1	21.92 bc
A2	18.33 bc
A3	36.96 a
H1	16.16 c
H2	29.13 ab
H3	43.38 a
K1	4.38 d
K2	1.32 d
	P<0.05
	Boyama- 22.04.11-15:30 Okuma - 22.04.11-18:00

4.1.2. Çiçek Tozu Çimlendirme Testleri

Çimlendirme testleri 4 grupta in vitro ortamda incelenmiştir(Çizelge 4.3). 11 genotipe ait çiçek tozları 4 grubun kendi içerisinde birarada yapıldığı çimlendirme testine tâbii tutuldu. Çimlendirme testi sonucunda çimlenen-çimlenmeyen çiçek tozları olarak sayımları yapıldı ve daha sonra çimlenme yüzdeleri (%) hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. Çimlendirme testi birlikte uygulanan gruplar

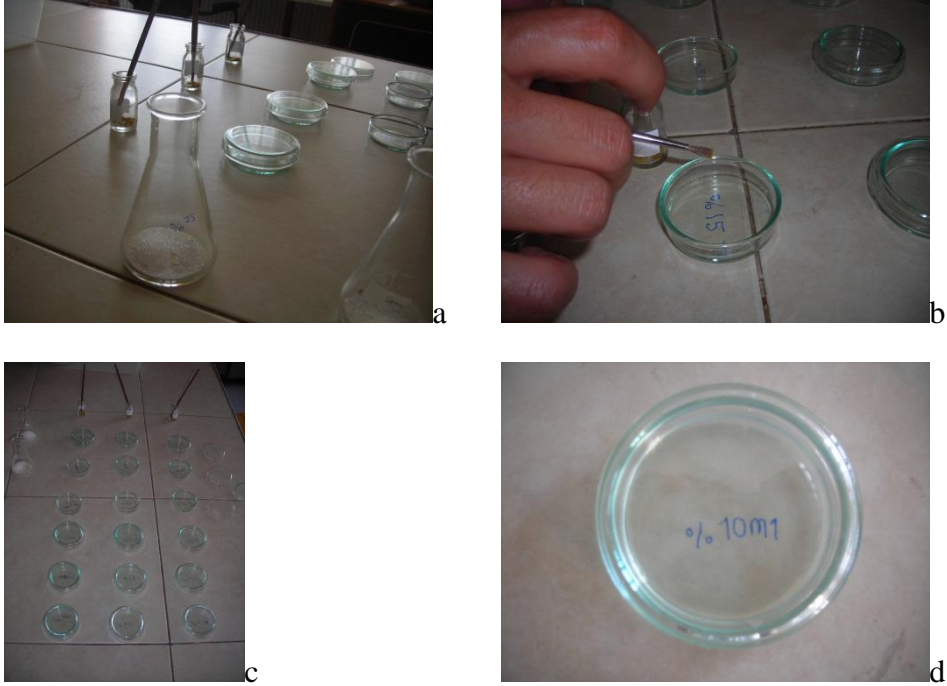
Gruplar	Ebeveyn								
1.GRUP	M	S	T						
2.GRUP	H1	H2	H3						
3.GRUP	A1	A2	A3	K1	K2				
4.GRUP	M	S	T	H1	H2	H3	A1	A2	A3

1. Grup kan portakalları çimlendirme testi: Bu 3 kan portakalı çeşitlerine ait filakon şişe içersinde +4°C’de buzdolabında saklanan çiçek tozları 13.04.2011 tarihinde 17:00-19:00 saatleri arasında M, S, T çiçeklerine ait çiçek tozları değişik oranlardaki agar+sakkaroz in vitro ortamlarına püskürtülerek ekimleri yapılmıştır. 24 saatlik beklemeden sonra yapılan sayımda yüksek çimlenme olmadığı için 24 saatlik bir bekleme daha tâbii tutulmuştur. 15.04.2011 tarihinde 17:00-19:00 saatleri arasında 10×10’luk büyütmede mikroskopta yapılan sayımlar kaydedilmiştir. Buna göre en yüksek çimlenme Çizelge 4.4’te görüldüğü gibi ‘Tarocco’ çeşidinde %25’lik sakkaroz + agar ortamında %6.51’lik bir oran ile en düşük oran ise %20’lik ortamda %1.97’lik çimlenme ile elde edilmiştir. ‘Moro’ ile ‘Tarocco’ çeşitlerinin çimlenmesi rakamsal olarak birbirine yakın çıkmıştır.

Çizelge 4.4. 1. Grup kan portakalları çimlendirme testi sonuçları

Ebeveyn	%1 Agar + Farklı Sakkaroz Dozları					
	%0	%5	%10	%15	%20	%25
Moro	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	6.13
Sanguinello	0.00	0.00	4.79	2.77	1.97	0.00
Tarocco	0.00	0.00	0.00	2.39	0.00	6.51

2. Grup kan portakalları çimlendirme testi: H1, H2, H3 kan portakalı yerli genotiplerine ait +4°C’de buzdolabında saklanan çiçek tozlarının aynı günde yapılan çiçek tozu çimlendirme testi karşılaştırması sonuçları Çizelge 4.5’te görülmektedir. 27.04.2011 tarihinde 15:00’da ortamlar (agar+sakkaroz) kaynatılıp Petri kaplarına dökülmüş ve çiçek tozu serpilmiştir. 29.04.2011 tarihinde 15:50-18:05 saatlerinde çimlenen-çimlenmeyen çiçek tozu sayımları yapılmıştır. Buna göre en yüksek çimlenme %25 sakkaroz’luk ortamda H3 genotipi %12.76 yüzdesinde, en düşük oran %1 agar + %5 sakkaroz’luk ortamda H2 genotipinde %1.12 elde edilmiştir. H3 ve H2 genotiplerinin %25 ortamında çimlenmesi %0.21’lik fark ile birbirine yakın bir yüzde değeri elde edilmiştir. Ayrıca %15 sakkaroz ortamında H2 genotipi ortalama bir çimlenme değeri elde edilmiştir. Sakkaroz kullanılmayan ortamda hiçbir çeşitte çimlenme meydana gelmemiştir. H1 genotipi sadece %15’lik ortamda çimlenme oluşmuştur. H2 ve H3 genotipleri farklı dozlarda da çimlenme elde edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. (a) Sakkaroz ve agar karışımı hazırlanması, (b) Petri kaplarına çiçek tozu ekimi, (c) Ekimi yapılmış çiçek tozları, (d) Ekim yapılmış petri kabı

Çizelge 4.5. 2. Grup kan portakalları çimlendirme testi sonuçları

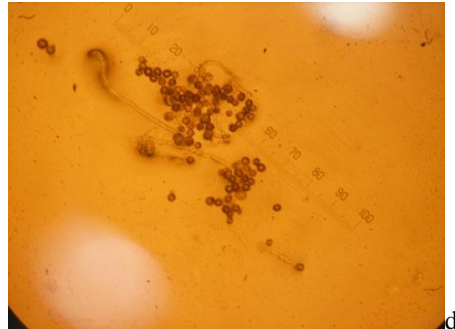
Ebeveyn	%1 Agar + Farklı Sakkaroz Dozları					
	%0	%5	%10	%15	%20	%25
H1	0.00	0.00	0.00	1.93	0.00	0.00
H2	0.00	1.12	2.89	8.08	5.45	12.55
H3	0.00	0.00	0.00	6.64	4.18	12.76

3. Grup kan portakalları çimlendirme testi: A1, A2, A3, K1, K2 genotiplerinin *in vitro* ortamda aynı gün bir arada yapıldığı çimlendirme sonuçları Çizelge 4.6'da görünmektedir. 04.05.2011 tarihinde 10:00-12:00 saatleri arasında çiçek tozlarının Petri kaplarına ekimleri yapılmıştır. 06.05.2011 tarihinde saat 10:30'da çiçek tozu sayımlarına başlanmıştır. Buna göre 5 genotip arasında rakamsal olarak en yüksek çimlenme A3 genotipinde %25'lik ortamda %8.28, en düşük çimlenme A3 genotipinde %10'luk ortamda %0.74 oranı ile gerçekleşmiştir. %0, %5'lik sakkaroz ortamlarında genotiplerin hiçbirinde çimlenme elde edilememiştir (Şekil

4.3). K1 ve K2 genotipleri haricinde diğerk çeşitlerde %20 veya %25'lik ortamlarda çimlenmenin yoğun olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. 3. Grup kan portakalları çiçek tozu çimlendirme testi sonuçları

Ebeveyn	%1 Agar + Farklı Sakkaroz Dozları					
	%0	%5	%10	%15	%20	%25
A1	0.00	0.00	0.00	0.00	2.64	2.01
A2	0.00	0.00	0.00	0.00	3.79	3.82
A3	0.00	0.00	0.74	1.12	6.44	8.28
K1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
K2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00



Şekil 4.3. Kan portakalı çeşitlerine ait çimlenen ve çimlenmeyen çiçek tozları (%25 sakkaroz+agar) (Büyütme: 10 × 10) (a) 'Moro' büyütülmüş, (b) H2, (c) A2, (d) H3

4. Grup kan portakalları çimlendirme testi: Tüm çeşitleri içeren 4. Grupta çiçek tozlarının aynı gün bir arada 09.05.2011 tarihinde 10:30-15:30 saatleri arasında Petri kaplarına ekimi yapılmıştır. 10.05.2011 tarihinde 15:00-17:00 saatleri

arasında çimlenen ve çimlenmeyen çiçek tozu sayımları yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi H3 genotipinde %10’luk ortamda %5.27 yüzde ile rakamsal olarak en yüksek, H2 genotipinde %20’lik ortamda %0.38 yüzde ile en düşük gerçekleşmiştir. Bazı agar + sakkaroz ortamlarında da Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi çimlenme gerçekleşmemiştir. Sadece ‘Tarocco’ çeşidinde hiçbir ortamda çimlenme olmadığı görülmektedir. Tüm çeşitlerde %20 veya %25 ortamlarının çimlenmelerinde yoğunluk olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.7. 4. Grup kan portakalları çiçek tozu çimlendirme testi

Ebeveyn	%1 Agar + Farklı Sakkaroz Dozları					
	%0	%5	%10	%15	%20	%25
M	0.00	0.00	0.00	1.88	0.00	2.24
S	0.00	0.00	0.00	0.00	3.51	0.52
T	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
H1	0.00	0.00	0.00	0.77	0.00	2.28
H2	0.00	0.00	4.53	0.00	0.38	0.00
H3	0.00	1.66	5.27	0.00	4.77	0.00
A1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.79	1.69
A2	0.00	0.00	0.00	0.00	4.01	2.28
A3	0.00	0.00	2.23	0.00	2.96	5.18

4.1.3. Çiçeklerdeki Sayımlar

Başçık sayımı: 11 genotipe ait çiçek tozlarının beyaz kâğıt üzerinde her bir genotipte 10’ar çiçekte yapılan ve daha sonra ortalamalarının alınarak kaydedildiği başçık sayımları Çizelge 4.8 (Ek Çizelge 2)’te görülmektedir. Buna göre ortalama en fazla miktarda başçık (22.17 adet) ile ‘Tarocco’ çeşidinde, en düşük başçık sayısı olarak H1 ve H2 genotiplerinde (20.37 adet) görülmektedir.

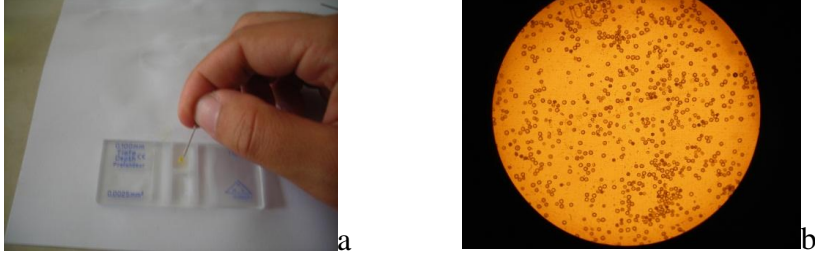
Çizelge 4.8. Kan portakallarının bir çiçekteki başçık sayıları

	Çeşit	Ortalama
1	Moro	21.93 a
2	Sanguinello	22.10 a
3	Tarocco	22.17 a
4	K1	21.40 abc
5	K2	22.00 a
6	H1	20.37 c
7	H2	20.37 c
8	H3	20.50 c
9	A1	21.87 ab
10	A2	21.63 abc
11	A3	20.57 bc

Hemasitometrik Lamda Çiçek Tozu Sayısı Hesaplanması: 11 genotipe ait çiçek tozlarının hemasitometrik lamda sayımlarından elde edilen çiçek tozu miktarları adet olarak sayılmıştır. Daha sonra hesaplama yapılarak (Bakınız sayfa 28) bir çiçekteki çiçek tozu miktarında 139421, bir başçıktaki çiçek tozu miktarında 6375 toz ile rakamsal olarak en bol miktar A1 genotipinde, bir çiçekteki en düşük miktar 38798 ve bir başçıktaki en düşük miktarda 1750 ile ‘Tarocco’da görülmektedir (Çizelge 4.9, Şekil 4.4).

Çizelge 4.9. Hemasitometrik lamda çiçek tozu sayısı hesaplanması

Çeşitler	Bir çiçekteki başçık sayısı	Bir başçıktaki çiçek tozu sayısı	Bir çiçekteki çiçek tozu sayısı
Moro	21.93	3625	79496
Sanguinello	22.10	4000	88400
Tarocco	22.17	1750	38798
K1	21.40	4185	89559
K2	22.00	2750	60500
H1	20.37	4375	89119
H2	20.37	3250	66203
H3	20.50	5000	102500
A1	21.87	6375	139421
A2	21.63	5685	122967
A3	20.57	4875	100279



Şekil 4.4. Hemasitometrik lamda (a) çiçek tozlarının sayım için hazırlanması, (b) çiçek tozu sayımı

4.2. Melezleme Çalışmasından Elde Edilen Bulgular

4.2.1. 2010 Yılı Melezleme Verileri

2010 yılında 5 farklı kombinasyona ait melezlemeler 07.04.2010 ile 18.04.2010 tarihleri arasında değişik günlerde farklı sayılarda Çizelge 4.10'da olduğu gibi yapılmıştır. En fazla sayıda çiçek melezlemesi 346 adet ile 'Clementine'× 'Sanguinello', en az sayıda melezleme ise 'Clementine'× K1 kombinasyonunda yapılarak tümünde toplam 1397 adet çiçek ile 2010 yılında melezleme tamamlanmıştır.

Çizelge 4.10. Mezlenen çiçek sayılarının günlere göre dağılımı (2010)

	Melezleme kombinasyonu	07.04 .2010	08.04 .2010	09.04 .2010	10.04 .2010	14.04 .2010	18.04 .2010	Toplam
1	Clementine × Moro	64	89	48	99	-	42	342
2	Clementine× Sanguinello	93	71	29	107	-	46	346
3	Clementine× Tarocco	45	150	73	32	-	24	324
4	Clementine× K1	-	-	68	-	103	15	186
5	Clementine× K2	-	-	79	-	100	20	199

Melezlemelerin yapılmasının ardından 10-15 gün sonrasında tutan meyvelerin 22.06.10 tarihinde sayımları yapılmıştır. Dökülen meyvelerin ardından 01.11.2010 tarihinde de meyveler hasat edilmiş (Şekil.4.5) ve viyollere ekilmiştir (Şekil 4.6, 4.7). Tutan meyvelerin ve hasat edilen meyvelerin oranları Çizelge 4.11’de olduğu gibi görülmektedir. Buna göre en yüksek meyve tutumu %4.30 ve yine hasat edilen meyve sayısında rakamsal olarak en yüksek yüzde %4.30 ile ‘Clementine’ × K1 melezlemesinden, en düşük yüzde ‘Clementine’ × ‘Tarocco’ melezlemesinden %1.54, en düşük hasat edilen meyve sayısı yüzdesinde ‘Clementine’ × K2’den %1.00 yüzdesinde elde edilmiştir.

5 farklı kombinasyona ait hasat edilen meyvelerden elde edilen tohumlar 01.11.2010’da çıkarılarak Çizelge 4.12’deki veriler elde edilmiştir. Meyveden çıkarılması ardından tohumlar hemen viyollere ekimi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.11. Melezlemelerdeki tutma oranları (2010)

	Melezleme kombinasyonu	Mezlenen çiçek sayıları	Tutan meyve sayıları 22.06.10	Tutum oranı (%)	Hasat edilen meyve sayıları 01.11.10	Hasat edilen meyve oranı (%)
1	Clementine × Moro	342	9	2.63	6	1.75
2	Clementine × Sanguinello	346	7	2.02	7	2.02
3	Clementine × Tarocco	324	5	1.54	4	1.23
4	Clementine × K1	186	8	4.30	8	4.30
5	Clementine × K2	199	4	2.01	2	1.00
	Toplam / Oran	1397	33	2.36	27	1.93

2010 yılında toplam 1397 çiçek melezlemesinden 33 meyve tutumu (%2.36) ve döküm sonrası 27 meyve (%1.93) ve bu meyvelerden 86 tohum elde edilmiştir. Tüm kombinasyonlardan elde edilen meyvelerin kendi içersinde toplam tohum sayısında rakamsal olarak en fazla tohum 39 tohum ile ‘Clementine’ × ‘Sanguinello’ ilk sırada, 35 tohum ile ‘Clementine’ × K1 2.sırada, en düşük tohum sayısı ise 2 adet ile ‘Clementine’ × K2 melezlemesinde oluşmuştur. Her bir meyveden elde edilen rakamsal en düşük-yüksek tohum sayıları ‘Clementine’ ×

'Moro'da (1-2), 'Clementine' × 'Sanguinello'da (1-29), 'Clementine' × K1'de (1-8), 'Clementine' × K2' de (0-2) kapsamında elde edilmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Meyvelerden çıkarılan tohum sayıları (2010)

	Melezleme kombinasyonu	Mezlenen çiçek sayıları	Elde edilen meyve sayıları	Her bir meyveden elde edilen tohum sayıları						Toplam tohum sayıları		
				1	2	2	0	0	0	0	0	
1	Clementine × Moro	342	6	1	2	2	0	0	0	0	5	
2	Clementine × Sanguinello	346	7	6	29	3	1	0	0	0	39	
3	Clementine × Tarocco	324	4	2	2	1	0				5	
4	Clementine × K1	186	8	8	8	6	2	2	4	5	0	35
5	Clementine × K2	199	2	2	0							2
	Toplam	1397	27									86



Şekil 4.5. (a) Melezlemeden 4 hafta sonrası küçük meyve, (b) melezlemeden 4-5 ay sonraki meyve durumu, (c) hasat öncesi meyve durumu, (d) hasata hazır durumda 'Clementine' ağacı

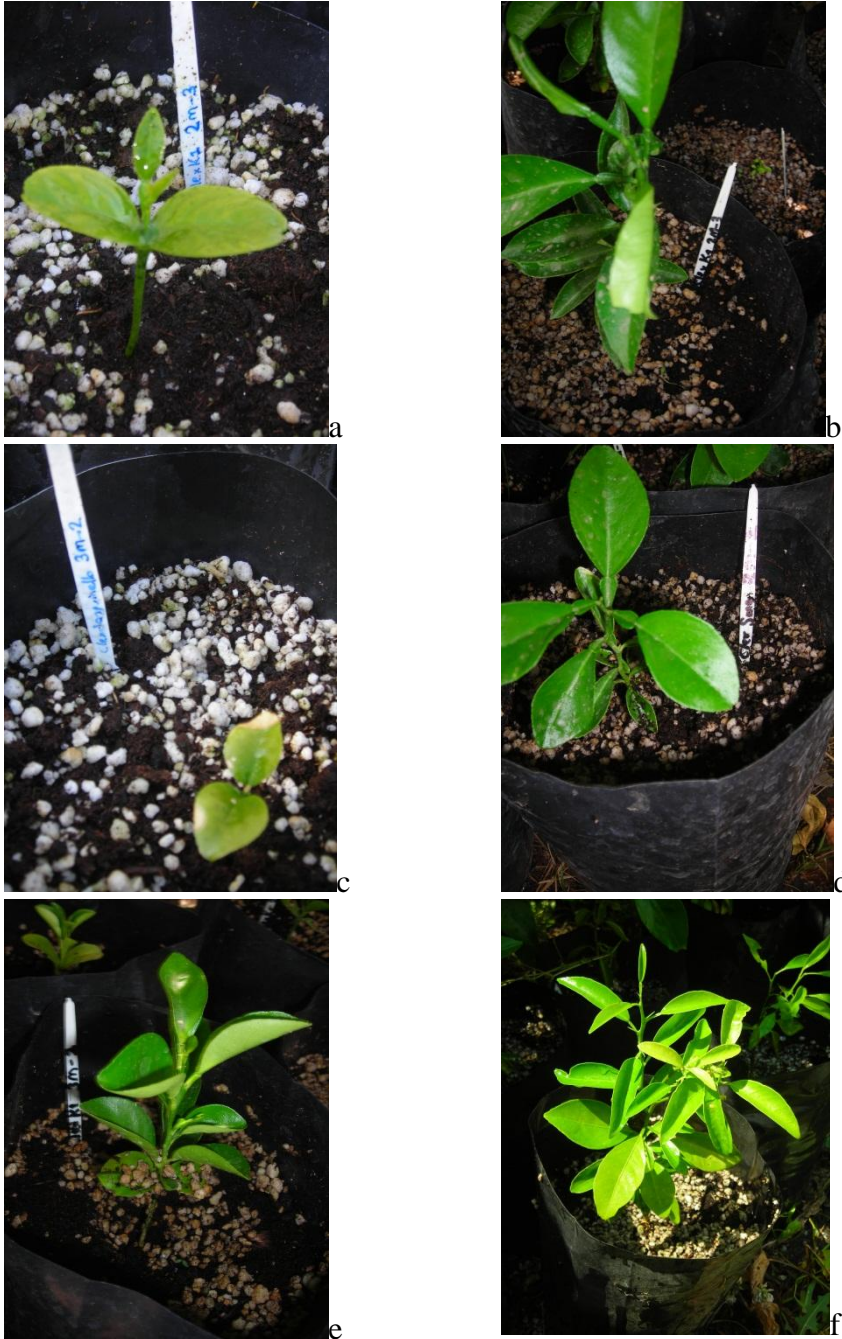


Şekil 4.6. Melez tohumların (a) viyollere ekimleri, (b) şaşırtma anında viyol içerisindeki melez çöğürler, (c) 3 L'lik torbalara melez çöğürlerin şaşırtılması

4.2.2. 2011 Yılı Melezleme Verileri

2011 yılında 11 farklı kombinasyona ait melezlemeler 02.05.2011 ile 08.05.2011 tarihleri arasında değişik günlerde farklı sayılarda aşağıdaki Çizelge 4.13'te olduğu gibi yapılmıştır. 'Clementine' × 'Sanguinello'da 131 adet çiçek ile en fazla, 23 adet ile 'Clementine' × A3'te melezlemeler gerçekleştirilmiştir.

Melezlemelerin yapılmasının ardından tutan meyvelerden baba ebeveyni M, S, T, K1, K2 olanlar 30.06.2011, diğerleri 06.01.2011 tarihinde sayımları yapılmış ve etiketlenmiştir. Dökülen meyvelerin sonrasında 19.11.2011 tarihinde de meyveler hasat edilmiştir (Şekil 4.5d). Tutan meyvelerin ve hasat edilen meyvelerin oranları Çizelge 4.14'te olduğu gibi görülmektedir. Buna göre en yüksek tutum oranı %92.50 ile 'Clementine' × H3 melezlemesinden, en düşük oran %32.79 ile 'Clementine' × 'Tarocco'dan, hasat edilen meyve sayısında en fazla oran %47.82



Şekil 4.7. C×K1-2M-3 tohum ekiminden (a) 5-6 ay sonraki melez çöğür, (b) C×K1-2M-3 8-9 ay sonraki melez çöğür, C×S-3M-2 tohum ekiminden (c) 5-6 sonraki melez çöğür, (d) 8-9 ay sonraki melez çöğür, (e) büyütülmüş melez çöğür (C×T-3M-2), (f) büyütülmüş melez çöğür (C×S-5M-10)

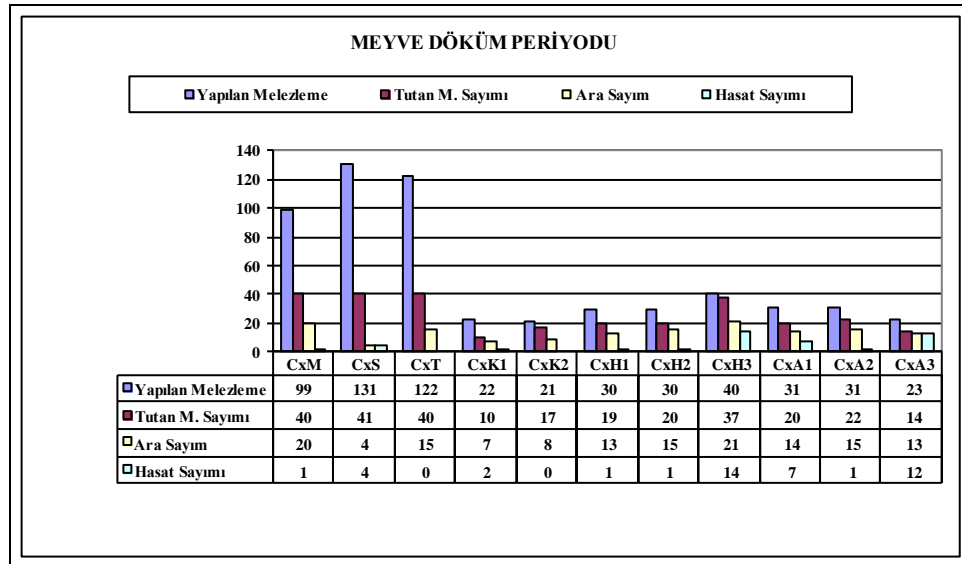
ile 'Clementine' × A3 melezlemesinden elde edilmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.5, 4.6, 4.7). Tüm kombinasyonlar içerisinde meyve tutumu adedi en düşük-yüksek (10-48) kapsamında, hasat edilen meyve adedi en düşük-yüksek (0-14) kapsamında gerçekleşmiştir. 'Clementine' × K2 melezlemesinde de 2. sırada en fazla tutum olmasına rağmen 19.11.11 tarihinde hasat edilene kadar elde edilen meyveler meyve dökümleri nedeniyle kayba uğramıştır ve hiçbir meyve hasat edilememiştir. 'Clementine' × 'Tarocco melezlemesinden yine döküm nedeniyle hiçbir meyve elde edilememiştir. Ayrıca 'Clementine' mandarininde kendileme kontrolü amacıyla izole edilen çiçek gruplarında hiçbir meyve elde edilememiştir. Toplam 580 çiçek melezlenmesinden 297 meyve tutumu ile %51.2'lik ortalama yüksek bir tutum elde edilmiştir. Daha sonra 43 meyve hasadı ile %7.41'lik hasat edilen meyve oranı gerçekleştirilmiştir.

Tüm meyvelerin toplam kapsamında meyve döküm periyodunda 297- 141- 43 adet olarak meyve sayısı ile azalmaktadır. 'Clementine' × A3 melezlemesi 23 çiçekten 12 meyveye, 'Clementine' × H3 40 çiçekten 14 meyveye, 'Clementine' × 'Moro' 99 çiçekten 1 meyve elde edilmesi ve 'Clementine' × 'Tarocco' 122 çiçekten hiç meyve elde edilememesiyle sonlanmıştır(Çizelge 4.15, Şekil 4.8).

Melezlemelerin sonucunda elde edilen meyvelerde en fazla tohum sayısı Çizelge 4.16'da görüldüğü gibi 142 adet ile 'Clementine' × A3 melezlemesinin meyvelerinden, daha sonra 'Clementine' × H3'ten 135 adet elde edilmiştir. 'Clementine' × 'Tarocco' ve 'Clementine' × K2 melezlemelerinden meyve hasat edilememesinden dolayı tohumda elde edilememiştir. En düşük tohum sayısı 'Clementine' × K1 ve 'Clementine' × H2 melezlemelerinden 2'ser adettir. Her bir melezleme kombinasyonundan elde edilen meyvelerden her bir meyve değerlendirildiğinde 'Clementine' × A3 melezlemesinden en düşük-yüksek tohum sayısı (7-20), 'Clementine' × H3'de (3-24), 'Clementine' × 'Sanguinello'da (1-11), 'Clementine' × 'Moro'da (1), 'Clementine' × A1'de (1-5) kapsamındadır(Çizelge 4.16, Şekil 4.9, 4.10).

Çizelge 4.14. Melezlemelerde tutma oranları (2011)

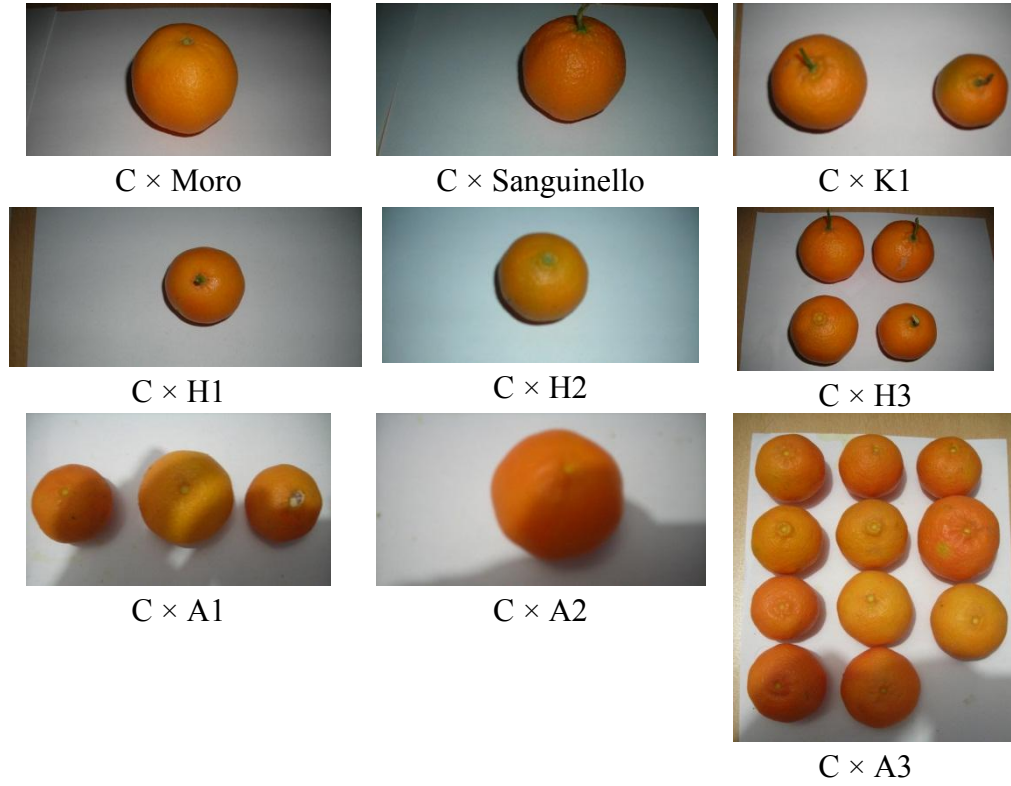
	Melezleme Kombinasyonu	Mezlenen çiçek sayıları	Tutan meyve sayıları	Tutum oranı (%)	Hasat edilen meyve sayıları (19.11.11)	Hasat edilen meyve oranı (%)
1	Clementine × Moro	99	40 (30.05.11)	40.40	1	1
2	Clementine× Sanguinello	131	48 (30.05.11)	36.64	4	3.05
3	Clementine × Tarocco	122	40 (30.05.11)	32.79	0	0
4	Clementine × K1	22	10 (30.05.11)	45.45	2	9.09
5	Clementine × K2	21	17 (30.05.11)	80.95	0	0.00
6	Clementine × H1	30	19 (01.06.11)	63.33	1	3.33
7	Clementine × H2	30	20 (01.06.11)	66.66	1	3.33
8	Clementine × H3	40	37 (01.06.11)	92.50	14	35.00
9	Clementine × A1	31	20 (01.06.11)	64.51	7	22.58
10	Clementine × A2	31	22 (01.06.11)	70.96	1	3.22
11	Clementine × A3	23	24 (01.06.11)	60.86	12	47.82
	Toplam / Oran	580	297	51.2	43	7.41



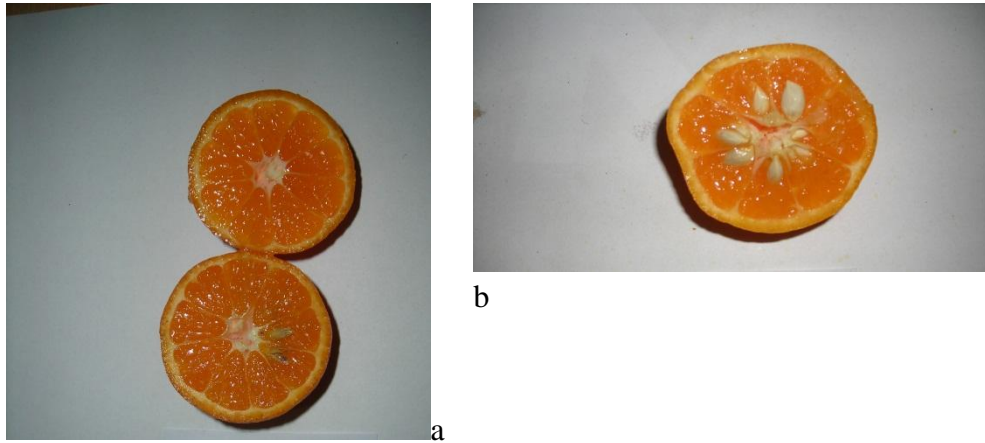
Şekil 4.8. 2011 yılı melez meyvelerin döküm periyodu

Çizelge 4.15. 2011 yılı melezlemesi meyve döküm periyodu

	Melezleme kombinasyonu	Mezlenen çiçek sayıları (02-18.05.11)	Tutan meyve sayımı	Ara meyve sayımı (18.06.11)	Hasat meyve sayımı (19.11.11)
1	Clementine × Moro	99	40 (30.05.11)	20	1
2	Clementine× Sanguinello	131	48 (30.05.11)	4	4
3	Clementine × Tarocco	122	40 (30.05.11)	15	0
4	Clementine × K1	22	10 (30.05.11)	7	2
5	Clementine × K2	21	17 (30.05.11)	8	0
6	Clementine × H1	30	19 (01.06.11)	13	1
7	Clementine × H2	30	20 (01.06.11)	15	1
8	Clementine × H3	40	37 (01.06.11)	21	14
9	Clementine × A1	31	20 (01.06.11)	14	7
10	Clementine × A2	31	22 (01.06.11)	15	1
11	Clementine × A3	23	14 (01.06.11)	13	12
	Toplam / Oran	580	297	141	43



Şekil 4.9. 2011 yılı elde edilen melez meyveler



Şekil 4.10. (a) C x S meyve iç görüntüsü, (b) C x H3 meyve iç görüntüsü

Çizelge 4.16. Meyvelerden çıkarılan tohum sayıları (2011)

	Melezleme kombinasyonu	Hasat edilen meyve sayısı	Her bir meyveden elde edilen tohum sayıları										Toplam tohum sayısı		
1	Clementine × Moro	1	1												10
2	Clementine × Sanguinello	4	1	11	5	9									26
3	Clementine × Tarocco	0	-												0
4	Clementine × K1	2	2	-											2
5	Clementine × K2	0	-												0
6	Clementine × H1	1	4												4
7	Clementine × H2	1	2												2
8	Clementine × H3	14	6	8	10	12	4	11	8	9	7				135
			3	6	18	9	24								
9	Clementine × A1	7	4	2	1	5	4	5	2						23
10	Clementine × A2	1	4												4
11	Clementine × A3	12	12	7	13	13	15	19	15	10					142
			8	20	10										
	Toplam	43													348

4.3. 2011 Yılı Melez Tohumları Çimlenme Sayımları

2011 yılında elde edilen meyvelerden çıkarılan tohumlar çimlendirilmiştir. Belirli aralıklarla çimlenme sayımları yapılmış ve Çizelge 4.17'deki çimlenme verileri ortaya çıkmıştır. Toplam ekilen 348 tohumdan 161 adet (%46.26) tohum çimlenmiştir. Buna göre en yüksek çimlenme yüzdesi %50.70 ile 'C' x A3 kombinasyonundan, en düşük ise 'C' x K1 ve 'C' x H2 kombinasyonlarından hiç tohum çimlenmemiştir. 'C' x A2, 'C' x H1 %25, 'C' x HÜ'den %48.88, 'C' x A1'den %43.47 çimlenme yüzdeleri elde edilmiştir. 'C' x T ve 'C' x K2 melezlemelerinden 2011 yılında meyve hasat edilemediği için tohum ekilememiştir.

Çizelge 4.17. 2011 yılı melez tohumları çimlenme periyodu (Çimlenme tarihi 2012 yılına göre dikkate alınacaktır)

Melezler	Ekim t. Sayıları	27/04	02/02	10/02	16/02	23/02	12/03	23/03	29/03	06/04	13/04	20/04	27/04	Çim. (%)
C × M	10	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	40.00
C × S	26	2	2	3	5	5	5	6	6	7	7	7	7	26.92
C × T	0													0.00
C × K1	2													0.00
C × K2	0													0.00
C × H1	4								1	1	1	1	1	25.00
C × H2	2													0.00
C × H3	135			1	7	7	23	45	57	63	63	63	66	48.88
C × A1	23			1	4	6	8	8	9	10	10	10	10	43.47
C × A2	4							1	1	1	1	1	1	25.00
C × A3	142			13	24	25	51	65	69	69	72	72	72	50.70
TOPLAM	348	5	6	18	43	45	89	129	147	155	158	158	161	46.26

4.4. SRAP Analizi Çalışmasından Elde Edilen Bulgular

15 birey üzerinde 7 primer kombinasyonu denemesiyle yapılan SRAP analizi çalışmasında 66 adet toplam bant elde edilmiştir (Çizelge 18-20, Ek Şekil 1-6, Ek Çizelge 3-9). Bunlardan 24 adedi polymorfik, 42 adedi monomorfiktir. %36.4 polimorfizm görülmüştür.

7 primer çiftinde (Me1-Em14) 950,550 , (Me3-Em1) 400, (Me3-Em2) 900, (Me3-Em3) 1400,1300, (Me3-Em9) 1300, (Me11-Em9) 650, (Me11-Em10) 2700, 1200 bant seviyelerinin ebeveynler arasında farklı olması ‘Clementine’, K1 ebeveynlerinin birbirinden farklı olduğunu ortaya koymuştur (Çizelge 4.20).

‘Clementine’ ana ebeveyni ile melez bireylerin gerçekten melez birey olduğunun Ek Çizelge 3’teki farklı bant seviyelerine göre ispatlanmıştır. Örneğin (Me1-Em14) 950, 550, 300, (Me3-Em1) 400 bant seviyelerindeki farklılık ve diğer primer çiftlerinin farklı bant seviyelerindeki farklılıklar ‘Clementine’ ile (1-2) melez bireyinin kesin olarak melezlemeyle elde edildiğini ortaya koymuştur. Diğer melez bireylerin de Ek Çizelge 4-9’daki farklı primer çiftleriyle farklı bant seviyesi elde edilmesi onların da kesin olarak melez birey olduğunu ispatlamıştır.

Çizelge 4.18. SRAP primerlerinden elde edilen polimorfik+monomorfik=toplam bant sayıları

Primer Bitki	1-14	3-1	3-2	3-3	3-9	11-9	11-10
Toplam Bant	3+7=10	4+4=8	4+4=8	1+6=7	6+7=13	3+6=9	3+8=11
C	3+7	0+8	0+8	0+7	2+11	0+9	1+10
K1	1+9	1+7	2+6	1+6	1+12	1+8	1+10
1-2	0+10	1+7	0+8	0+7	2+11	0+9	0+11
1-3	3+7	2+6	1+7	0+7	3+10	1+8	0+11
1-5	3+7	1+7	1+7	0+7	5+8	2+7	1+10
1-7	2+8	0+8	0+8	0+7	4+9	2+7	1+10
2-1	1+9	1+7	0+8	0+7	3+10	2+7	1+10
2-3	3+7	2+6	0+8	0+7	2+11	2+7	2+9
2-4	1+9	2+6	1+7	0+7	5+8	1+8	2+9
2-5	1+9	3+5	3+5	0+7	3+10	3+6	0+11
2-6	2+8	3+5	1+7	0+7	3+10	2+7	0+11
3-2	1+9	1+7	0+8	0+7	3+10	1+8	1+10
4-1	0+10	1+7	3+5	0+7	1+12	1+8	0+11
6-2	2+8	2+6	0+8	1+6	0+13	1+8	1+10
6-3	1+9	1+7	0+8	1+6	2+11	1+8	1+10

Çizelge 4.19. C-K1 ebeveynleri arasındaki baz çifti farklılıkları

	C – K1
Me1-Em14	950, 550
Me3-Em1	400
Me3-Em2	900
Me3-Em3	1400, 1300
Me3-Em9	1300
Me11-Em9	650
Me11-Em10	2700, 1200

Çizelge.4.20. Melez bireylerin ana ebeveynle olan baz çifti farklılıkları

Primer çiftleri (Me-Em) (bp)	1-14 (bp)	3-1 (bp)	3-3 (bp)	3-2 (bp)	3-9 (bp)	11-9 (bp)	11-10 (bp)
Bireyler							
C- (1-2)	950, 550, 300	400	-	-	850,750	650	1200
C- (1-3)	-	400,350	-	800	1300,1100, 800	700	1200
C- (1-5)	-	350	-	800	1100,850,700	700,650	-
C- (1-7)	950				1100,850, 800,700	700, 650	-
C- (2-1)	550, 300	350	-	-	1100	2000,650	-
C- (2-3)		1700,350			1300,800	700, 650	1400
C- (2-4)	950, 300	1700,350		800	1100,850,800	650	1400
C- (2-5)	950, 300	1700,1400, 350	-	1300, 900, 800	1100,850,750	2000, 700, 650	1200
C- (2-6)	550	1700,1400, 400	-	1300	700	2000,700	1200
C- (3-2)	550, 300	1700	-	-	700	650	-
C- (4-1)	950, 550, 300	350		1400, 1300, 800		650	1200
C- (6-2)	300	400,350	900	-	1300,750	650	-
C- (6-3)	950, 550	1400	900	-	-	650	-

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Denemede yapılan 3 İtalyan çeşidi kan portakalı içerisinde TTC canlılık testine göre en yüksek canlılık %22.15 ile ‘Sanguinello’ çeşidinde, 8 yerli kan portakalı genotipi içerisinde yapılan denemeye göre en yüksek canlılık %43.38 ile H3 genotipi ön plana çıkmaktadır.

Çiçek tozu çimlendirme çalışmasında yaptığımız 1. Grup denemede %1 agar + %25 sakkaroz *in vitro* ortamında ‘Tarocco’ çeşidinde %6.51 en fazla çimlenme yüzdesi, ardından yine aynı ortamda ‘Moro’ çeşidinde %6.13 çimlenme yüzdesi gerçekleşmiştir. 2. Grup denemede %1 agar + %25 sakkaroz *in vitro* ortamında H3 genotipinde %12.76 çimlenme yüzdesinde en yüksek elde edilmiştir. 3. Grup denemede en fazla çimlenme %1 agar + %25 sakkaroz ortamında %8.28 A3 genotipinde elde edilmiştir.

Çalışmayla 2010 yılı ve 2011 yılı melezlemelerinde baba ebeveyn olarak kullanılan kan portallarından İtalyan çeşitleri olan ‘Moro’ ve yerli genotipler olan K1 ve K2’nin çiçek tozu canlılıkları (TTC) diğer genotiplere göre düşük görülmektedir. İlerde melez birey elde etme amacıyla 11 baba genotip ve ‘Clementine’ arasında yapılabilecek melezlemelerden A3, H3, baba ebeveyn olarak kullanılırsa daha fazla melez tohum ve akabinde melez birey elde edilebilecektir.

Çiçek tozu çimlendirme testi sonuçlarında da A3 genotipi % 1 agar+%25 sakkaroz ortamında 5 genotip arasında %8.28 yüzde ile en yüksek ve H3 genotipi de %1 agar +%25 sakkaroz ortamında %12.76 en yüksek çimlenme elde edilmesiyle TTC testi ile paralellik göstermektedir. Daha sonra bu baba ebeveyn ile oluşturulan kombinasyonlarda ‘Clementine’ × A3 genotipinde TTC ile paralel olarak 142 tohum sayısı ile ‘Clementine’ × H3 kombinasyonunda yine TTC ile paralel olarak 135 adet 2. sırada en fazla testleri desteklemektedir. Daha sonra 2011 yılı melezlemelerinden elde edilen meyvelerin bu tohumlarının çimlenmelerinden ‘Clementine’ × A3 kombinasyonu tohumları %50.70 çimlenme ile en yüksek, daha sonra ‘Clementine’ × H3 %48.80 ile 2. Sırada en yüksek gerçekleşmiştir. Bu verilerde önceki açıklamaları desteklemektedir.

Eti (1990)'a göre çiçek tozu canlılık testi (TTC) yapılan 5 turunçgil genotipine göre en yüksek canlılık yüzdesi 1989 yılında 'Robinson' çeşidinde %80.8, 1990 yılında yine 'Robinson' çeşidinde %71.8 elde edilmiştir.

Eken (2006), 2003 yılı 'Petride agar' yöntemi çiçek tozu çimlendirme denemesinde en yüksek çimlenme oranı %1 agar + %20 sakkaroz ortamından Fairchild çeşidinde %59.81 ile daha sonra, yine aynı çimlendirme ortamında Klemantin SRA-70 (%53.71) ve Klemantin SRA-73 (%50.76) klonlarında elde etmiştir.

Eken (2006) çalışmasına göre, 2003 yılındaki denemesinde çiçek tozları canlılık düzeyleri için TTC testinde en yüksek canlılık yüzdesi %80.30 ile 'Klemantin SRA-70' çeşidinden elde edilmiş, daha sonra %78.26 ile 'Dancy', %74.73 ile 'Sunburst', %67.10 ile 'Klemantin SRA-73' ve %64.85 ile 'Fairchild' en düşük değeri ise 'Marsh Seedless' %13.60 altıntop çeşidi canlılık göstermiştir.

Çimlendirme testi çiçek tozu çimlendirme denemesi Eti (1992)'ye göre bazı turunçgil çeşitlerinde yapılan çimlendirme testlerinde en yüksek çimlenme %1 agar +%15 sakkaroz ortamında 1989 yılında 'Robinson'da %66.2, 1990 yılında ise yine aynı ortamda 'Fremont' çeşidinde %72.9 elde edilmiştir.

Ateyyeh (2005)'e göre *Citrus maxima*'nın çiçek tozu çimlenme yüzdesi %0.8 agar ve %20 sükröz ortamında %44.9 ile diğer ortamlardan daha yüksek, *Citrus paradisi*'ye ait çiçek tozlarında ise 20% sakkaroz + 0.5 %agar *in vitro* ortamında %52.3 ile en yüksek çimlenme elde edilmiştir. Zeytinyağı, *Prunus domestica* türünün çiçek tozlarının çimlenmesini bastırmıştır ve en yüksek çimlenme %0.8 agar, %10 sakkaroz ve 50 ppm borik asit içeren ortamda %48.7 oranında gerçekleşmiştir.

Ahmed vd. (2007) turunçgil melezlemesi yaptığı ebeveynlerin çiçek tozu canlılıklarını belirlediği çalışmada 'Dancy' mandarininde %16.27, 'Pixie' mandarini %92.00, 'Honey' mandarini %87.56, 'Minneola' tangelo %86.21, 'Orlando' tangelo'da %77.93, 'Seminole' tangelo'da %49.29 canlılık tespit edilmiştir.

Eti (1991) çalışmasına göre, 'Kırmızı Williams' armut çeşidinde %20'lik sakkaroz ortamında %72'lik en yüksek çimlenme gerçekleşmiştir. TTC testi sonuçları da çimlenme sonuçlarıyla paralellik göstermiştir.

Dominigues vd. (1999)'nin çalışmasında, 44 farklı şeker portakalı çeşidinin çiçek tozları canlılıkları 'Rubi Blood' çeşidinde %68.7, 'Blood oval'de %16.3, 'Sanguinea de Mombuca'da %77.7, 'Sanguinea de Piracicaba'da %62.4 tespit edilmiştir.

Chaudhary vd. (2010) yaptıkları çalışmada, *Murraya koenigii*'de çiçek tozu canlılığı %37.54 tespit edilmiştir. Çiçek tozu çimlenmesi %10 sakkaroz solüsyonunda başlamış ve %15 sakkaroz solüsyonunda en yüksek çimlenme %33.3 elde edilmiştir.

Seday (2010), TTC testinde en yüksek canlılık yüzdesi %55.26 ile A67 tipinde, en düşük değer ise %18.42 ile 'Valencia' portakal çeşidinde görülmüştür. A67 tipinden sonra canlılık düzeyi en yüksek A90 (%44.81), D22 (%38.24), 'Nour' (%36.75) ve A82'de (%34.82) elde edilmiştir.

Seday (2010), çimlenme testine göre en yüksek çimlenme değeri %1 agar + %20 sakkaroz'da A67 tipinde %71.45, daha sonra %1 agar + %15 sakkaroz'da D22 tipinde %70.90, en düşük çimlenme 'Küt diken' limon çeşidinde %1 agar + %5 sakkaroz için %4.30 yüzdesinde elde edilmiştir.

Eti (1990)'a göre, bir çiçekteki çiçek tozu sayısında yerli portakalda 276706, 'Clementine' mandarininde 128348, 'Robinson'da 213264 adet elde etmiştir. 11 farklı kan portakalı çeşidinde yaptığımız çiçek tozu miktarında en fazla miktar A1'de 139421, daha sonra 122967 ile A2'de, H3'te 102500, en az miktarda ise 'Tarocco' çeşidinde 38798 adet tespit edilmiştir. Bir çiçekteki başçık sayısında yerli portakalda 20.9, yerli mandarinde 15.7, 'Clementine'de 15.3, 'Robinson'da 20.8 elde etmişler. Yaptığımız çalışmada kan portakallarında 22.00 ortalama ile K2'de, 21.87 A1'de, A3'te 20.57, H3'te 20.50, H1 ve H2 genotiplerinde ortak olarak 20.37 bir çiçekte başçık sayısı elde edilmiştir. Bir başçıktaki çiçek tozu sayısında A1'de 6375 ile rakamsal olarak en fazla, daha sonra 5685 ile A2, A3'te 4875, H3'te 5000, K1'de 4185, K2'de 2750, 'Sanguinello'da 4000, 'Tarocco'da 1750 ile en az elde edilmiştir.

Seday (2010)'a göre çiçek tozu üretim miktarında 'Küt diken' limon çeşidinde 1.720.000 ile en fazla miktar, 'Valencia'da 874000, D22 tipinde 654000 ve A67 467000 ile en az miktara sahiptir.

Bir çiçekteki çiçek tozu sayısında H3 ve A3 sırasıyla 102500, 100229 miktarla 3. ve 4.sırada görülmesine rağmen, en fazla canlılık bu genotiplerdedir. Diğer çeşitlerin hem çiçek tozu miktarları az hemde çiçek tozu canlılıkları düşük görünmektedir. Bu canlılıkların meyvedeki tohum sayısına yansımada en fazla tohumun bu çeşitlerde olmasıyla (142, 135) doğru bir orantı, bu çeşitlerin tohumlarının çimlenmelerinde de [72 (%50.70), 66 (%48.8)] adet sayı ile doğru bir orantı görülmektedir. Ancak bu çeşitler bir çiçekteki anter sayısında son sıralarda görünmektedir.

'Clementine'nin ilk olarak melezleme programında erkek ebeveyn olarak 1914 yılındaki çalışmada *Citrus paradisi* Macf. × 'Clementine' melezlemesinde kullanılmıştır. Daha sonra 'Clementine' × 'Duncan' altıntopu melezlemesi çalışmasında 163 melez bitki üretilmiştir. 1918 yılında (*C. reticulata* × *C. paradisi*) × 'Clementine' karşılıklı (reciprocal) melezlemesinde ise 33 melez üretilmiştir. 1934'de 3 tangelo varyetesinin 'Clementine' ile melezlemesinden 51 melez elde edilmiştir. 'Clementine' 14 erkekle tozlandığında 481 melez bitki elde edilmiştir. 'Clementine' × 'Hamlin' portakalı melezlemesinden 25 populasyondan sadece 2 bitki morfolojik olarak kimliklendirilmiştir.

Oiyama ve Kobayashi (1990) yaptıkları çalışmada, 'Clementine' × 'Kawano Natsudaidai(4×)' melezlemesinden 20 meyve 430 tohum ve 'Clementine' × 'Miyachi Iyokan' melezlemesinden de 12 meyve 151 tohum elde etmişlerdir.

Yeniyl (2000) mandarin çeşitlerinden 'Fairchild' × 'Klemantine SRA 73' melezlemesinden 21.57 adet ortalama ile, 'Robinson' × 'Lee'den 23.82 adet, Robinson kendileme uygulamasından en az tohum sayısı 2.50 adet elde edilmiştir. 'Nova' × 'Minneola'dan en fazla 4.38 adet, 'Nova' × 'Robinson'dan 1.00 adet en az tohum elde edilmiştir.

Rapisarda vd. (2003), yaptığı çalışmada 'Oroval' Clementine' × 'Moro' kan portakalı melezlemesinden 35 melez bitki elde etmişler.

Seday (2010)'a göre D22 × A90'den 10,00 ile en fazla normal gelişmiş tohum, A67 × 'Nour'dan 8.86, D22 × A67'den 7.69, A67 × A82'den 6.21, A67 × A90 2.67, D22 – Serbest Tozlanma 1.38, A82 × A82 1.25 tohum elde edilmiş ve A67 × A67, D22 × D22, A90 × A90 hiç tohum elde edilememiştir.

Hossain ve Rabbani (2011)'de yaptıkları çalışmada limon türüne ait 8 genotipte melezlemeler yapmışlardır. Kendine tozlamadan %17-32 (ebeveyn P3-P2) arasında meyve tutumu elde edilmiş Kendi kendine tozlanmadan en yüksek meyve tutumu P2 (32%), ve sonrasında P4 (28%), P6 (28%), P1 (24%), and P5 (24%) ve en düşük P3'de (%17) elde edilmiş. En fazla tohum-meyve P2 kendilemesinden (17-24), P6'da (15-22), P4'de (15-19), P1'de (13-18) ve en az P5'te (0-3) tohum içeren meyve elde edilmiştir. Melezlemede ise en fazla meyve tutumu P1 x P2'den %56, P2 x P3 (%56), P2 x P6 (%52), P4 x P6 (52%), P1 x P5 (%48) ve P3 x P5 %20 elde edilmiştir. Melezlemeyle tohum-meyve olarak P2 x P3 (21-33) en yüksek, P3 x P7 (3-7) en az elde edilmiştir

2010 yılında yaptığımız ana ebeveyn olarak 'Clementine' ve 5 farklı kan portakalı çeşidiyle yaptığımız çalışmada 'Clementine' x 'Sanguinello'da 7 meyvede 39, 'Clementine' x K1'de 8 meyveden 35, 'Clementine' x 'Moro' 6 meyveden ve 'Clementine' x 'Tarocco'da 4 meyveden 5, 'Clementine' x K2'de 2 meyveden 2 tohum elde edilmiştir. 2011 yılında 'Clementine' ana ebeveyni ile 11 farklı baba ebeveynin kullanıldığı çalışmada ise 'Clementine' x A3 melezlemesinde 12 meyveden 142, 'Clementine' x H3'de 14 meyveden 135, 'Clementine' x 'Sanguinello'da 26, 'Clementine' x A1'den 23, 'Clementine' x 'Moro'dan 10, 'Clementine' x H1'den 4, 'Clementine' x K1'den 2 tohum elde edilmiştir. 'Clementine' x 'Tarocco ve 'Clementine' x K2'den hiç meyve elde edilememesinden dolayı hiç tohum elde edilememiştir.

2010 ve 2011 yıllarında meyve tutma yüzdesinde elde ettiğimiz değerlerde 2010 yılında en yüksek oran 'Clementine' x K1'den %4.30, en düşük oran 'Clementine' x 'Tarocco'da %1.54 yüzdesinde ve diğer kombinasyonlarda da farklı yüzdeler elde edilmiştir. 2011 yılı melezlemesinde 'Clementine' x H3'den %92.50 ile en yüksek meyve tutumu, 'Clementine' x 'Tarocco'da %32.79 ile en düşük oran ve 'Clementine' x K2'de %80.95, 'Clementine' x A2'de %70.96, 'Clementine' x H2'de %66.66, 'Clementine' x A1'de %64.51, 'Clementine' x H1 %63.33 'Clementine' x A3'te %60.86 'Clementine' x K1'de %45.45 'Clementine' x Moro'da %40.40, 'Clementine' x 'Sanguinello' %36.64 yüzdelerinde farklı oranlar elde edilmiştir.

2010 ve 2011 yıllarında meyve tutum adedinde en yüksek sayı 'Clementine' x 'Sanguinello' kombinasyonunda sırasıyla (35, 48 adet) olduğu görülmektedir.

Her iki yılda da yapılan melezlemelerde çeşit ayrımı gözetmeden toplam tutumlarda 2010 yılında 1397 çiçek melezlemesinden meyve tutumu 33 meyve, %2.36 yüzdeyle ve hasatta 27 meyve, %1.93 meyve tutum yüzdesi ile, 2011 yılında ise 580 çiçek melezlemesinden, meyve tutumu 297 meyve, %51.2 yüzde ve hasatta 43 meyve %7.41 yüzde ile sonuçlandırılmıştır. İki yılın karşılaştırılmasında 2011 yılında daha yüksek meyve tutumu ve meyve hasadı gerçekleştirilmiştir.

2010 yılı melezlemelerinden tüm kombinasyonlardan 27 meyveden 86 tohum, 2011 yılında ise melezleme kombinasyonlarının tümünde 43 meyveden 348 tohum elde edilmiştir.

Eken (2006) yaptığı çalışmada, meyve tutma yüzdesinde en yüksek oran 'Robinson' x 'Lee' (%37.86) ve 'Robinson' x 'Fairchild' (%36.81), en düşük oran 'Robinson' x 'Marsh Seedless' (%0.13) ve 'Robinson' x 'Nova' (%1.66) uygulamalarında elde etmiştir. Diğer kombinasyonlarda da diğer ara değerler tespit edilmiştir.

Seday (2010), 'Clementine' tipleri olan (A67, A82, A90, ve D2, 'Nour'), 'Kütdiken' limonu, 'Valencia' portakalı aralarında ve serbest tozlamasındaki kombinasyonlardan derim anında tutma değerleri D22 x 'Kütdiken' %33.67 en yüksek, daha sonra A82 x 'Kütdiken'den %25.50, A90 x 'Kütdiken' 10.95, A82 x A90 %8.80, A67 x A82 (%6.67), A67 x D22 %6.22) ve A67- Serbest Tozlanmasından %5.88, A82 x A82 %1.91 ve A90 x A82 %0.46 en düşük meyve tutum yüzdesi elde edilmiştir. En düşük meyve tutma değeri ise ortak olarak %0.49 ile A67 x A67 ve A67 x 'Kütdiken' melezlemelerinden elde edilmiştir.

2011 yılı melez tohumlarına yaptığımız çimlendirme denemesinde en yüksek oran 142 tohumun 72 adedinin çimlenmesiyle %50.70 ile 'Clementine' x A3, 135 tohumun 66 adedinin çimlenmesiyle %48.8 ile 'Clementine' x H3 kombinasyonlarından elde edilmiştir. En düşük çimlenme ise C x T, C x K2'de meyve elde edilememesinden tohumda oluşmamasından çimlenme görülmemiştir. C x H2, , C x K1 kombinasyonlarından hiç tohum elde edilmemiştir. Bundan sonra en düşük çimlenme ise %25 ile C x A2 ve C x H1 kombinasyonlarından ortak olarak elde edilmiştir.

Shinde vd. (2007), 27 turunçgil anacının çimlenme ve polyembriyoni çalışmasında en yüksek çimlenme %54-81 yüzde ile L-19 Rangpur laym, Iambheti yerel, kaba limon Chettali, 'Malta' limon, L-12 'Eureka' limon, Rangpur laym yerel, L-2 Rangpur laym, Sohmyndong, *Citrus macrophylla*, Nemu-tenga, Narangi cborg, Calamondin ve Galgal limon çeşitlerinde, en düşük çimlenme Troyer sitranjı, Canizo sitranjı, Cleopatra mandarin (Grabstan), Troyer sitranjı (Punjab), Sitranj A.P., Mannalade portakalı ve Savage sitranjında %31-45 yüzde ile diğer anaçlarda da %46-53 kapsamında tohum çimlenmesi görülmüştür.

15 bireyde SRAP moleküler belirteçleri kullanılarak yapılan çalışmamızda 24'ü polimorfik, 42'i monomorfik olan toplamda 66 bant elde edilmiştir. %36.4 polimorfizm oranı vardır. 'Clementine' ve K1 ebeveynlerinin birbirinden farklı olduğu 8 primer çiftinin değişik bant seviyelerinden örneğin Me1-Em14 primer çiftlerinin 950, 550 bant seviyeleri farklılığından ortaya konmuştur. 13 adet melez bireyin melezlemeyle oluştuğu 8 primer çiftinin değişik bant seviyelerindeki farklılıklarla örneğin; 1-2 melezinin Me1-Em14 (950, 550, 300) bant seviyelerindeki farklılıklarla ortaya konmuştur

Filho vd. (1998), turunçgillerde RAPD markörleri kullanarak 10 tür ve 7 melez içeren 35 mandarin genotipleri arasındaki genetik benzerliği belirlenmiş ve bir octamer ve 21 decamer primeri 109 RAPD bandı üretmiş ve bunlardan 45'inin polimorfik olduğu görülmüştür.

Li ve Quiros (2001), *Brassica oleracea* L.'nin çift haploid hatlarını ve doğal rekombinant hatlarında SRAP belirteç sistemini test etmişler. İzole edilen jel bantlarının %45'i gen bankasında bilinen genlerle eşleşmiş. SRAP belirteçlerinin yüzde 20'si kodominant olduğu görülmüştür. SRAP belirteçlerinin dağılımı 9 ana bağlantı (linkage) grubunda ortaya çıkmıştır.

Oliviera vd. (2003), turunçgil melez popülasyonunda 123 RAPD belirtecinin ayrımı analiz edilmiştir. Birçok belirteç, muhtemelen doğrudan seçim işleminden dolayı tüm çeşitlerde 3:1 ayırım oranı gösterirken, 'Pera' şeker portakalında 1:3 ayırım oranı göstermiştir. Belirteçlerin en yüksek oranı F1 popülasyonunda umulan ayırım oranı 1:1'den sapmadır. 'Crova' mandarini için 53 ve 'Pera' sweet portakalı için 12 RAPD belirteci elde edilmiştir. Bunlar bir ebeveyn için heterozigot iken diğer ebeveyn için homozigot bulunmuştur. 'Cravo' mandarini için belirteçlerde

anlamli fark elde edilmiştir. ‘Pera’ şeker portakalı için önemli derecede anlamli bir fark elde edilmemiştir. Her iki sonuç da gösterir ki ayırım tipleri 1:1’e yakındır.

Göçmen vd. (2004), ‘Satsuma’ × ‘Clementine’ melezlemesi ile elde ettikleri 404 bitkiden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. RAPD moleküler tekniğiyle ‘Satsuma’ ve ‘Clemantine’ çeşitlerinin genetik olarak birbirine oldukça benzer olduğu belirlenmiş ve ‘Satsuma’ ve ‘Clemantine’ mandarininde toplam 62 monomorfik DNA bantı oluşmuş ve polimorfik DNA bantı belirlenmemiştir. Moleküler belirteçler ve fenotipik gözlem sonucunda seçilen bireylerin paralellik gösteren sonuçlarında; 343 bitki poliembriyonik, 32 bitki zigotik olduğu belirlenmiştir. Nadir allellerde de çalışılmıştır. %5’ten %10’a daha az sıklıkta meydana gelen bantların adedi sırasıyla 376’nın dışında 239 ve 311 adet elde edilmiştir.

Uzun vd. (2009a), Aurantioidea’da 86 turunçgil ve akrabaları arasındaki ilişkiyi bulmak için SRAP belirteçleri kullanılmıştır. 21 SRAP primer kombinasyonu her bir primer kombinasyonu 17.9 ile 376 polimorfik parça toplamı üretmiştir.

Uzun vd. (2009b) kaba limon genotiplerinde SRAP belirteçleri ile genetik çeşitliliği incelemiştir. Çalışmada, 182 adet bant elde edilmiş ve bunların 143 adedi polimorfik bulunmuştur.

Uzun (2009), Türkiye turunçgil koleksiyonlarında 825 adet genotipte SRAP belirteçleri ile genetik çeşitliliği ortaya koymuştur. 21 adet primer kombinasyonu kullanılmış. Elde edilen sonuçlara göre, portakal, limon, altıntop ve turunç türleri içerisinde düşük düzeyde varyasyon olduğu saptanmış ve mandarin, şadok ve ağaç kavununun turunçgiller içerisindeki üç temel tür olduğu görüşü bu çalışmada da desteklenmiştir. Dendrogramda bütün genotiplerin benzerlik düzeyleri 0.21 ile 1.00 arasında değişmiştir.

Uzun vd. (2011), SRAP ve SSR belirteçleri ile 45 limon, 5 ağaç kavunu, 4 kaba limon, 2 Volkamer limonu koleksiyonları arasındaki genetik çeşitlilik değerlendirilmiştir. SSR primerleri 2.0 parça ortalaması ile 26 tane polimorfik parça toplamı üretirken, 21 SRAP primer kombinasyonu da her bir kombinasyonda 6.7 parça ortalaması ile 141 polimorfik parça toplamı üretmiştir. SRAP ve SSR verilerinin birleştirilmesiyle elde edilen aritmetik ortalama analizleri 0.65-1.00’a benzer bir kapsama sahip olduğu bulunmuştur.

Gülşen ve Uzun (2011), 'Clementine' ve 'Orlando' arasında türeyen 164 F₁ bireyi popülasyonu turunçgil genetik bağlantı haritası elde etmek için toplam 609 belirteç; 385 SRAP, 97 RAPD, 95 SSR, 18 ISSR, 12 POGP, and 2 RGA belirteç içeren bağlantı analizlerinde kullanılmıştır. 'Clementine' bağlantı haritası 215 belirteç içermekte, 9 bağlantı grubuna yerleşen 144 test melezi ve 71 melez arası karşılaştırılmıştır. 'Orlando' bağlantı haritası 9 bağlantı grubunda yerleşik 126 test melezi ve 61 ara melez karşılaştırması 189 belirtece sahip olduğu bulunmuştur. Cabsr (*Alternaria kahverengi benek hastalığına dayanıklılık geni*) için ayırım oranı 1:1'den dikkate değer bir şekilde farklı değildir.

Bu çalışmada, SRAP moleküler belirteçleri kullanılarak belirteçler yardımıyla seleksiyondan (MAS) yararlanılarak melezlemeden elde edilen bireylerin gerçek melez oldukları ortaya çıkarılmıştır. Böylece gelecekteki çalışmalarda zaman, işgücü ve maddi kazanç sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

- Ahmed, W., Ziaf, K., Nawaz, M.A., Saleem, B.A., Ayyub, C.M. 2007. Studies on combining ability of citrus hybrids with indigenous commercial cultivars. **Pak. J. Bot.**, 39(1): 47-55.
- Ali, M.A., Bacha, M.A., Farahat, F.A. 1998. Pollen viability, germination and rates of pollen tube growth in some pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.). **Agric. Science** (1):73-81.
- An, H.J., Jin, S.-B., Kang, B.C., Park, H.G. 2008. Production of somatic hybrids between Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) and Navel Orange (*Citrus sinensis*) by protoplast fusion. **J. Plant Biol.**, 51(3):186-191.
- Ateyyeh, A.F. 2005. Improving in vitro pollen germination of five species of fruit trees. **Agr. Sci.**, 32(2):189-194
- Bolat, İ., Pırlak, L. 1999. An investigation on polen viability, germination and tube growth in some Stone fruits. **Tur. J. Agric. For.** 23:383-388.
- Chaudhary, V., Rana, A., Chauhan, S., Prakash, A. 2010. Study of *in vitro* pollen germination, pollen tube growth and pollen viability in *Murraya koenigii* l. (Rutaceae). **Res. J. Agri. Sci.**, 1(3): 249-251
- Çevik-Şahin, M., Moore, G.A. 2011. Cinsler arası melez bir turunçgil popülasyonunda çekirdeksizlik ve çok embriyoluluk özelliklerinin istatistiksel ve genetiksel analizleri. **Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 6(2):17-23.
- Dayı, Ö. 2003. Aydın Ekolojisinde Antepfıstığının Çiçek Tozu Canlılık ve Çimlenme Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Dominigues, E.T., Neto, A.T., Sobrinho, J.T. 1999. Viabilidade do pólen em variedades de laranja doce, **Sci. Agric.** 56: 265-272
- Davies, F.S., Albrigo, L.G. 2005. Turunçgiller (Çeviri: Dalkılıç Z), Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları No:22, Aydın, 272s.

- Eken, İ. 2006. Robinson Mandarininde Değişik Tozlayıcıların Meyve Tutum ve Kalitesi Üzerine Etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana
- Erkoç, F., Elçin, A.E. 2012. Pipetleme Alıştırmaları. <http://w3.gazi.edu.tr/web/erkoc/BIYOKIMYA/pipetleme.pdf>. Erişim tarihi: 09.07.2011
- Eti, S. 1990. Çiçek tozu miktarını belirlemede kullanılan pratik bir yöntem, **Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 5, (4): 49-58.
- Eti, S. 1991. Bazı meyve tür ve çeşitlerinde değişik *in vitro* testler yardımıyla çiçek tozu canlılık ve çimlenme yeteneklerinin belirlenmesi, **Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 6 (1): 69-80.
- Eti, S. 1992. Minneola Tangelo'nun döllenme biyolojisi üzerine araştırmalar, **Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi** 5 (4): 197-201.
- FAOSTAT, 2009. Agricultural Statistics. <http://faostat.fao.org/>
- FAOSTAT, 2010. Agricultural Statistics. <http://faostat.fao.org/>
- Filho, H.D. C., Machado, M.A., Targon, M.L.P.N., Moreira, M.C.P.Q.D.G., Pompeu, J. 1998. Analysis of the genetic diversity among mandarins (*Citrus* spp.) using RAPD markers. **Euphytica** 102:133–139.
- Gmitter, F.G.Jr., Hu,,X. 1990. The possible role of Yunnan, China, in the origin of contemporary *Citrus* species (Rutaceae). **Econ. Bot.** 44:267-277.
- Göçmen, M., Polat, İ., İkten, H., Devran, Z., Arı, E. 2004. Proje Özeti. Mandarinlerde (*Citrus reticulata*) melezleme sonucu oluşan zigotik bitkilerin moleküler tekniklerle belirlenmesi,
- Gülşen, O., Uzun, A., Kafa, G. 2006. Turunçgillerde vegetatif özelliklerin kalıtımı: üç farklı F1 popülasyonunda çöğür gelişimi ve kendileme depresyonu. **Alatarım** 5 (1):1-9.

- Gulsen, O., Uzun, A., Canan, I., Seday, U., Canihos, E. 2010. A new citrus linkage map based on SRAP, SSR, ISSR, POGP, RGA and RAPD markers. **Euphytica** 173:265–277.
- Gülşen, O., Uzun, A. 2011. Turunçgil araştırmalarında biyoteknoloji çalışmaları. **Anadolu Tarım Bilim. Dergisi** 26(1):68-76.
- Han, X., Wang, L., Liu, Z., Jan., D.R., Shu, Q. 2008. Characterization of sequence-related amplified polymorphism markers analysis of tree peony bud sports. **Sci. Hort.** 115:261-267.
- Hao, Q., Liu, Z., Shu, Q.-Y., Zhang, R., de Rick, J., W.L.-S. 2008. Studies on Paeonia cultivars and hybrids identification based on SRAP analysis. **Hereditas**, 145(1):38-47.
- Hossain, M.I., Rabbani, M.G. 2011. Study on the cross compatibility of some lemon genotypes (*Citrus limon* L.), **Bangladesh J. Agric. Res.** 36(2):241-246.
- Ikten, H., Mutlu, N., Gulsen, O., Kocatas, H., Aksoy, U. 2010. Elucidating genetic diversity and population structure among the Turkish female figs. **Genetica** 138:169-177.
- Javaid, M.A., Abbas, M.M., Mohar, T.A., Awan, M.Z. 2010. Varietal improvement in feutrell's early through hybridization, **J. Agric. Res.** 48(3): 391–395.
- Karp, D. 2007. The bloods: mutations, chemistry and flavor, **Fruit Gardener**, 39(1): 16-22.
- Koyuncu, F., Yılmaz, H. 2000. Bazı çilek çeşitlerinde çiçek tozu üretim miktarları ve çimlenme oranlarının belirlenmesi üzerinde bir araştırma. **Turk J. Agric. For.** 24:699-703.
- 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.

- Oiyama, I., Kobayashi, S., 1990. Polyembryony in undeveloped monoembryonic diploid seeds crossed with a citrus tetraploid. **HortScience** 25(10):1276-1277.
- Oliviera, R.P. de, Aguilar-Vildoso, C.I., Machado, M.A., 2003. Selection processes in a citrus hybrid population using RAPD markers. **Pesq. Agropec. Bras.**, 38(11):1297-1302.
- Rapisarda, P., Pannuzzo, P., Romano, G., Russo, G. 2003. Juice components of a new pigmented citrus hybrid *Citrus sinensis* (L.) Osbeck × *Citrus clementina* Hort. ex Tan. **J. Agric. Food Chem.**, 51:1611-1616.
- Rapisarda, P., Fabroni, S., Peterek, S., Russo, G., Mock, H.-P. 2009. Juice of new citrus hybrids (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. × *C.sinensis* L. Osbeck) as a source of natural antioxidants. **Food Chemistry** 117:212–218.
- Recupero, G. R., Russo, G., Recupero, S. 2005. New promising Citrus triploid hybrids selected from crosses between monoembryonic diploid female and tetraploid male parents **HortScience** 40(3): 515-520.
- Reece, P.C., Hearn, C.J. 1964, The breeding behavior of the 'Clementine' tangerine **Proc. Fla State Hort. Soc.**, 1:76-78.
- Rouse, R.E., Sherrod, J.B., 1996. Optimum temperature for Citrus seed germination, **Proc. Fla. State Hort. Soc.** 109:132-135.
- Ruiz, C., Breto, M. P., Asins M.J., 2000. A quick methodology to identify sexual seedlings in citrus breeding programs using SSR markers, **Euphytica** 112: 89–94.
- Saunt, J. 1990. Citrus Varieties of the World. Sinclair International Limited, Norwich, England. 126+p.
- Serttaş, T. 2003 Bazı Mandarin Çeşitlerinde Uyuşmazlık Durumları ile Karşılıklı Tozlamada Meyve Tutumu ve Kalitesinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.

- Seday, Ü. 2010. Seleksiyonla Elde Edilen Bazı Klementine Mandarin Tiplerinin Kendine Verimlilik Durumlarının ve Uygun Tozlayıcıların Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Shinde, B.N. Patil, V.K., Kalalbandi, B.M., 2007. Studies on germination and polyembryony of different citrus rootstocks seedling at nursery stage. **Asian J. Hort.**, 2(1):180-183.
- Tamam, A. 2008. Bazı Avokado (*Persea americana* Mill.) Çeşitlerinin Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Turunç, A. 2010. Klementine Mandarininde (*Citrus clementina* Blanco) SSR Markörleri ile Genetik Haritalama. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Uzun, A. 2009. Turunçgillerde Genetik Çeşitliliğin SRAP Markörleriyle Karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana.
- Uzun, A., Yeşiloğlu T. 2012. Genetic diversity in citrus. In Genetic Diversity in Plants, **InTech**, Rijeka, Croatia. 11, 213-230.
- Uzun, A., Yesiloglu T., Aka-Kacar, Y., Tuzcu, O., Gulsen, O. 2009a. Genetic diversity and relationships within Citrus and related genera based on sequence related amplified polymorphism markers (SRAPs). **Sci. Hort.**, 121:306–312.
- Uzun, A., Yeşiloğlu T., Aka-Kacar, Y., Tuzcu, Ö., Gülşen, O., Seday, Ü., Canan, İ. 2009b. Kaba Limon (*Citrus jambhiri* Lush.) genotiplerinde genetik çeşitliliğin SRAP markırları ile belirlenmesi. **Alatarım**, 8:1.
- Uzun, A., Gulsen, O., Seday, U., Bircan, M., Yılmaz, K.U. 2010. SRAP based genetic analysis of some apricot cultivars. **Rom. Biotechnol. Lett.** 15(4):5396-5404.

- Uzun, A., Yesiloglu, T., Polat, I., Aka-Kacar, Y., Gulsen O., Yildirim B., Tuzcu, O., Tepe, S., Canan, I., Anil, S. 2011. Evaluation of genetic diversity in lemons and some of their relatives based on SRAP and SSR markers. **Plant Mol. Biol. Rep.**, 29:693–701.
- Vardi, A., Levin, I., Carmi, N. 2008. Induction of seedlessness in citrus: From classical techniques to emerging biotechnological approaches. **J. Amer. Soc. Hort. Sci.** 133(1):117-126.
- Webber, H.J., 1967. History and Development of the Citrus Industry <http://websites.lib.ucr.edu/agnic/webber/Vol1/Chapter1.htm>. Erişim tarihi 09.06.2011.
- Yeniyl, Ö. 2000. Bazı Mandarin Çeşit ve Melezlerinin Karşılıklı Uyuşmazlık Durumlarının Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Yuan, Q., Gao, J., Gui, Z., Wang, Y., Wang, S., Zhao, X, Xia, B., Li, X. 2011. Genetic relationships among alfalfa germplasms resistant to common leaf spot and selected Chinese cultivars assessed by sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. **Afr. J. Biotechnol.** 10(59):12527-12534.
- Zhao, W., Fang, R., Pan, Y., Yang, Y., Chung, J.-W., Chung, I.M., Park Y.-J. 2009. Analysis of genetic relationships of mulberry (*Morus L.*) germplasm using sequence-related amplified polymorphism (SRAP) markers. **Afr. J. Biotechnol.** 8(11):2604-2610.

EKLER

Ek Çizelge 1. TTC testi sonucu saptanan 8 genotipe ait çiçek tozlarının canlılık düzeyleri (%) varyans analiz tablosu (VAT)

Uygulanan Transformasyon : ARCSINUS

VARYANS ANALİZ TABLOSU

Varyasyon Kaynağı□	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesapl. F	Tablo Değeri %5	Değeri %1
Faktor-A	7	2928.356	418.337	24.785**	2.710	4.140
HATA	15	253.184	16.879			
Genel	22	3181.540	144.615			

ns =önemsiz (not significant)

* =önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %5)

** =önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

Ek Çizelge 2. Kan portakallarının bir çiçekteki başçık sayıları VAT

VARYANS ANALİZ TABLOSU

Varyasyon Kaynağı□	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesapl. F	Tablo Değeri %5	Değeri %1
Faktor-A	10	16.835	1.684	4.058**	2.315	3.285
HATA	22	9.127	0.415			
Genel	32	25.962	0.811			

ns = önemsiz (not significant)

* = önemli %5 alfa seviyesinde (significant at alfa level %5)

** = önemli %1 alfa seviyesinde (significant at alfa level %1)

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Gökhan ORUÇ
Doğum Yeri ve Tarihi : AYDIN 04.01.1987

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi-Ziraat Mühendisliği
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi-Fen Bilimleri Enst.
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce, Fransızca

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

- a) Makaleler
 - SCI
 - Diğer
- b) Bildiriler
 - Uluslararası
 - Ulusal
- c) Katıldığı Projeler

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Antalya Tarım A.Ş. Staj (2007)
Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı
Babadağ Tarım İlçe Müdürlüğü (2011-)

İLETİŞİM

E-posta Adresi : gokhan.oruc@hotmail.com
Tarih : 03.09.2012