

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**BAZI TURUNÇGİL TÜR VE ÇEŞİTLERİNDE MUTASYON ISLAHIYLA
ELDE EDİLEN GENOTİPLERİN SOĞUĞA TOLERANSLARININ
BİYOKİMYASAL ANALİZLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Zeynep ERYILMAZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2019

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**BAZI TURUNÇGİL TÜR VE ÇEŞİTLERİNDE MUTASYON ISLAHIYLA
ELDE EDİLEN GENOTİPLERİN SOĞUĞA TOLERANSLARININ
BİYOKİMYASAL ANALİZLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Zeynep ERYILMAZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI TURUNÇGİL TÜR VE ÇEŞİTLERİNDE MUTASYON ISLAHIYLA
ELDE EDİLEN GENOTİPLERİN SOĞUĞA TOLERANSLARININ
BİYOKİMYASAL ANALİZLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Zeynep ERYILMAZ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi
Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FDK-2015-180 nolu
proje ile desteklenmiştir.**

TEMMUZ-2019

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI TURUNÇGİL TÜR VE ÇEŞİTLERİNDE MUTASYON ISLAHIYLA
ELDE EDİLEN GENOTİPLERİN SOĞUĞA TOLERANSLARININ
BİYOKİMYASAL ANALİZLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

Zeynep ERYILMAZ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 10/07/2019 tarihinde jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK (Danışman)

Prof. Dr. Salih ÜLGER

Prof. Dr. M. İlhan ÇAĞIRGAN

Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU

Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ

ÖZET

BAZI TURUNÇGİL TÜR VE ÇEŞİTLERİNDE MUTASYON ISLAHIYLA ELDE EDİLEN GENOTİPLERİN SOĞUĞA TOLERANSLARININ BİYOKİMYASAL ANALİZLERLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Zeynep ERYILMAZ

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri

Danışman: Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Temmuz 2019; 125 sayfa

Birçok turunçgil çeşidi doğal mutasyonlarla oluşmuş ve yeni çeşitler bu mutantların vejetatif çoğaltımıyla elde edilmiştir. Zira turunçgil türlerinde poliembryoni, yabancı tozlanma, yüksek heterozigoti ve kısırılık gibi nedenlerden dolayı klasik ıslah yöntemlerinden melezleme ıslahı ile yeni çeşitler geliştirilmesi, yoğun emek ve masraf gerektirmekte bazen de mümkün olamamaktadır. Bu nedenle son yıllarda dünyada ve ülkemizde turunçgil çeşitlerinin geliştirilmesinde pazar, üretici ya da tüketici tarafından kabul görmüş bir çeşidin olumlu özelliklerini koruyarak, bir ya da birkaç olumsuz özelliklerini değiştirebilen yapay mutasyon ıslahı yöntemi yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu hipotezden yola çıkılarak yürütülen bu çalışmada, Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymı çeşitlerinde yapay mutasyon ıslahı yöntemi uygulanarak Etkili Mutagen Dozunun (EMD) belirlenmesi ve bu dozlar kullanılarak oluşturulan popülasyonunda varyasyon yaratarak soğuğa toleranslı yeni genotiplerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Araştırmada materyal olarak, Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymı çeşitleri kullanılmıştır. Tüm türlere ait çeşitlerde, varyasyon yaratarak yeni çeşitler geliştirmek amacı ile üzerinde aşı gözleri bulunan sürgünlere akut Kobalt 60 (⁶⁰Co) kaynağından farklı dozda [30, 40, 50, 60, 70, 80 Gray (Gy)] gama ışını uygulanmıştır. Daha sonra ışınlanmış aşı gözleri T göz aşısı tekniği ile Yerli turunç anacı üzerine aşılanmıştır. Bu araştırma üç aşamadan oluşmuştur. Araştırmanın birinci aşamasında, turunçgil çeşitlerinin her biri için EMD belirlenmiş ve belirlenen bu dozla ana popülasyonu oluşturmak üzere aşı gözlerine gama ışını uygulanarak M₁V₁ popülasyonu oluşturulmuştur. Araştırmanın ikinci aşamasında, M₁V₁ popülasyonu klonal olarak çoğaltılarak M₁V₂ ve M₁V₃ popülasyonları oluşturulmuştur. Daha sonra, ön seleksiyon kriterlerine göre her bir turunçgil çeşidinden 10 adet mutant adayı birey belirlenmiştir. Son aşamasında da ise turunçgil çeşitlerinin her birinden seçilen mutant adayı bireyler ve kontrol bireylerinde yaprak oransal su içeriği, klorofil içeriği, toplam çözünbilir protein miktarı, membran geçirgenliği belirlenmiştir. Ayrıca üç farklı dönemde prolin konsantrasyonu ile iyon sızıntı yöntemiyle yapay don testleri yapılarak, seçilmiş mutant adaylarının durumu değerlendirilmiştir.

Araştırma sonucunda; EMD sırasıyla Moro portakalı çeşidinde 68 Gy, Interdonato limonunda 50 Gy ve Meksika laymında ise 45 Gy olarak belirlenmiştir. İncelenen fizyolojik özellikler bakımından gama ışını uygulamasının turunçgil türlerine ait genotiplerde aşı tutma oranının düştüğü, sürgün boyunun ve boğum aralıklarının kısaldığı

görülmüştür. Seçilen mutant adayları biyokimyasal analizler bakımından incelendiğinde, türlerde genel olarak kontrol bitkilerine göre yaprak oransal su içeriği bakımından Moro portakalında M-5, Meksika laymında L-9 genotiplerinde arttığı, Interdonato limon genotiplerinin tamamında düştüğü kaydedilmiştir. Klorofil içeriği, Moro portakalı genotiplerinde genel olarak düşüş gösterirken, Interdonato limonunda I-3 genotipinde, Meksika laymında ise L-7, L-8 ve L-9 genotiplerinde artış kaydedilmiştir. Toplam çözünebilir protein konsantrasyonu bakımından M-10, M-3, M-1, Interdonato genotiplerinde I-3, Meksika laymı genotiplerinde ise L-2 genotipinde yükseldiği belirlenmiştir. Bitkilerde prolin birikimi türlere göre farklılık göstermiş ve en düşük M-5, I-5 ve L-9 genotiplerinde tespit edilmiştir. Don testlerinde M-5 genotipinin düşük sıcaklık toleransı -4.11°C, I-4 genotipinde -3.51°C ve L-8 ise -2.91°C olarak belirlenmiştir.

Araştırma bulguları sonucunda, EMD, biyokimyasal özellikler ve düşük sıcaklıklara toleransın türlere göre farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Citrus, Don testi, EMD, Interdonato limonu, Meksika laymı, Membran zararı, Moro portakalı, Prolin, Protein, Yapay mutasyon, Yaprak su içeriği.

JÜRİ: Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Prof. Dr. Salih ÜLGER

Prof. Dr. M. İlhan ÇAĞIRGAN

Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU

Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ

ABSTRACT

EVALUATION OF THE COLD TOLERANCE WITH SOME BIOCHEMICALS ANALYSES IN THE GENOTYPES OBTAINED FROM MUTATION BREEDING IN SOME *CITRUS* SPECIES AND CULTIVARS

Zeynep ERYILMAZ

PhD Thesis in Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

July 2019; 125 pages

Many Citrus species have come into existence as a result of natural mutations, and new varieties have been developed by vegetative propagation of these mutants. Due to cross pollination, high heterozygosity and infertility, the development of new varieties of Citrus species with classical hybridization breeding is a costly and labour intensive process, which is sometimes impossible to accomplish. In recent years, the artificial mutation breeding method has been used in development of citrus varieties. This method makes it possible to improve one or more characteristics of a variety (which is accepted by the market, farmer or consumer) while preserving the positive characteristics. In the light of this hypothesis, in this study, identification of Effective Dosage of The Mutagen (EMD) in the Moro orange, Interdonato lemon, and Mexican lime and determination of new genotypes that are tolerant to cold in the mutant populations created with the identified aimed dosages.

As a biological material, Moro orange, Interdonato lemon and Mexican lime were used in this study. Shoots, including buds, were irradiated with gamma ray from a Cobalt 60 (^{60}Co) source, in order to develop new varieties by creating variation in all varieties of the chosen species. Then the irradiated buds were grafted onto a local sour orange (*Citrus aurantium* (L.) Yerli) rootstock using the T budding technique. In the first phase of the study, the EMD was identified for each citrus cultivar and the M_1V_1 populations were formed up by applying gamma ray with the identified EMD to buds of the cultivars. In the second phase, M_1V_2 , M_1V_3 populations were created from clonal propagation of the M_1V_1 population. Afterwards, ten mutant individuals were identified in each Citrus species based on pre-selection criteria. In the third phase, the ratio of leaf water content, chlorophyll content, total soluble protein amount, and membrane permeability were determined in the selected mutant and control individuals from each of the Citrus cultivars. In addition, the mutant candidates were evaluated in three different periods for proline concentration and the artificial freezing test, based on the Ion leakage method.

As a result of this study; the EMD was determined to be 68 Gy, 50 Gy, and 45 Gy in Moro Blood orange, Interdonato lemon, and Mexican lime respectively. In terms of physiological properties examined in the study, it was observed that gamma ray application resulted in the reduction of grafting success, shortened shoots and internode length. When mutant candidates were analyzed in terms of biochemical properties, it was found that the rational leaf water content, in general, increased in the citrus species, Moro orange M-5 and Mexican lime L-9 genotypes and decreased in all of Interdonato

genotypes. While Moro orange genotypes in general showed a decrease in chlorophyll content, an increase was recorded for Interdonato lemon I-3 genotype and Mexican lime L-7, L-8, and L-9 genotypes compared to plants. Regarding total soluble protein concentration in plants, an increase has been identified in M-10, M-3, M-1 genotypes from Moro orange, I-3 genotype from Interdonato lemon and L-2 genotype from Mexican limes. Proline accumulation in the plants was shown to vary depending on species. The lowest level was found in M-5, I-5, and L-9 genotypes. In the freezing test, the low temperature tolerance was found to be -4.11°C for I-4, -3.51°C for L-8, and -2.91°C for L-9.

In conclusion, we could conclude that EMD, Biochemical properties, and tolerance to low temperatures vary depending on citrus species.

KEYWORDS: *Citrus*, Chlorophyll content, Freezing test, GR (EMD), Interdonato lemon, Membrane damage, Mexican lime, Moro blonde orange, Induced mutation, Leaves water content, Proline, Protein.

COMMITTEE: Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Prof. Dr. Salih ÜLGER

Prof. Dr. M. İlhan ÇAĞIRGAN

Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU

Assoc. Prof. Dr. Zeynel DALKILIÇ

ÖNSÖZ

Turunçgiller, çekici renkleri, lezzeti, aroması, ve yüksek besin değeriyle insanlar tarafından sevilmiş dünyanın başlıca meyveleri arasında olmasına rağmen yetiştiriciliği düşük sıcaklıklar tarafından sınırlandırılmıştır. Turunçgillerde dondurucu sıcaklıklar yüzyıllardan beri üretimi etkileyen ana faktör olmaya devam etmektedir. Florida’da 1894-1895 yılında yaşanan don zararrından sonra 1893 yılında hastalıklara dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi için başlatılan melezleme ıslahı çalışmalarının düşük sıcaklıklara toleranslı çeşitlerin geliştirilmesi yönüne kaymasına neden olmuştur. Fakat yüz yıldan daha fazla bir süredir melezleme ıslahı ile yeni çeşitlerin geliştirilmesinin çok zor olduğu görülmüştür. Doğal mutasyonlarla elde edilen çeşitlerin üstünlüğünün farkına varılması ile son yıllarda dünyada ve ülkemizde yapay mutasyon ıslahı çalışmaları önem kazanmıştır. Yapay mutasyon ıslahı yöntemi ile Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymında düşük sıcaklıklara toleranslı yeni çeşitlerin geliştirilmesinin mümkün olduğu ve gelecekte yeni çeşitlerin geliştirilmesi için yapılacak çalışmaların ilk basamağını oluşturan bu doktora çalışmamın belirlenmesinde, değerli fikir ve katkılarıyla beni yönlendiren, her türlü kolaylığı sağlayan ve benden bilgilerini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez konumun olgunlaşması ve yürütülmesi esnasında bilgi ve tecrübeleriyle yön gösteren kıymetli hocalarım Prof. Dr. Salih ÜLGER’e, Prof. Dr. M. İlhan ÇAĞIRGAN’a, tezimi en ince ayrıntısına kadar okuyup değerlendiren ve değerli katkılarda bulunan sayın hocalarım Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU’na ve Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ’a, beni mutasyon ıslahı çalışmalarına yönlendiren, bilgi ve tecrübesiyle çalışmalarına katkıda bulunan Dr. Burak KUNTER’e teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Birçok kişinin emeğiyle tamamlanan tezimde bilgi ve tecrübesiyle yardımlarını esirgemeyen, çalışma arkadaşlarım Dr. Dilek GÜVEN’e, laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Emine GÜMRÜKCÜ’ye, Nalan KARATEPE’ye, Asuman YERDELEN’e Beyza BİNER’e Özgül KARAGÜZEL’e Semiha KİREMİTÇİ’ye, soğuğa toleranslılık analizlerinde Murat ORAL’a, İsmail ERYILMAZ’a, Hamit YALÇIN’a Mehmet ERBAŞ’a, Sibel SARGIN’a en içten teşekkürlerimi sunarım. Arazi ve laboratuvar aşamalarını yürüttüğüm Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürü Abdullah ÜNLÜ’ye, Meyvecilik bölüm şefi Mehmet ÖZDEMİR’e don testlerinde laboratuvarlarından faydalandığım Akdeniz Ün. Gıda Müh. Bölüm başkanı Ayhan TOPUZ’a ve Prof Dr Mustafa KARKAN’a ve don testlerimin yapılmasında uzaktan da olsa bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Dr. Nurengin METE’ye ve Dr. Öznur ÇETİN’e çok teşekkür ederim. Prolin analizlerinde bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Muharrem GÖLÜKCÜ’ye, Orçun ÇINAR’a ve uzakta olmasına rağmen bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Füsun YÜREKLİ’ye, klorofil analizlerinde her türlü desteği sağlayan Dr. Filiz ÖZTÜREN’e ve toprak su labratuvarındaki diğer arkadaşlara, istatistik analizlerinde yardımlarını esirgemeyen Ertuğrul TURGUTOĞLU’na, 3000’den fazla turunçgil fidanın aşılmasında çok değerli aşu ustaları Güzel DEMİRCİ’ye, Mehmet ACAR’a, Aysel ÖZSOY’a, Şerife MURCAN’a, İlknur Olgaç’a ve BATEM’de staj yapan, turunçgil dikenlerinden elleri kanamasına rağmen severek benimle bitkilerin yetiştirilmesinde, çok büyük desteklerini gördüğüm tüm stajyer öğrencilere yardımlarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım ve doktora öğrenimim boyunca desteklerini gördüğüm, bana göstermiş oldukları sabır ve güvenden dolayı öncelikle sevgili annem Türkan ŞİMŞEK’e,

ablam Gonca ŞİMŞEK ve değerli tüm aile bireylerine, bu uzun süreçte yaşadığım tüm sıkıntıları ve mutlulukları benimle paylaşan, sevgili eşim Adem ERYILMAZ'a, doktora dönemim boyunca ilgimi esirgemek zorunda kaldığım canım kızlarım İrem ERYILMAZ'a ve İpek ERYILMAZ'a gösterdikleri sabırdan dolayı ve beni bekledikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Bazı turunçgil tür ve çeşitlerinde mutasyon ıslahıyla elde edilen genotiplerin soğuğa toleranslarının biyokimyasal analizlerle değerlendirilmesi .” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

10/07/2019

Zeynep ERYILMAZ



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xviii
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
2.1. Mutasyonla İlgili Çalışmalar.....	4
2.2. Fizyolojik ve Biyokimyasal Analizlerle İlgili Çalışmalar	19
2.3. Düşük Sıcaklık ve Yapay Don Testleriyle İlgili Çalışmalar.....	24
3. MATERYAL VE METOT	37
3.1. Materyal	37
3.1.1. Deneme de kullanılan turuncgil türleri	37
3.1.2. Fidanların yetiştirildiği ortamın özellikleri	40
3.1.3. Deneme alanı iklim özellikleri	41
3.2. Metot	42
3.2.1. Etkili mutagen dozunun belirlenmesi.....	42
3.2.2. Populasyonların oluşturulması	44
3.2.2.1. M ₁ V ₁ populasyonunun oluşturulması	44
3.2.2.2. M ₁ V ₂ populasyonunun oluşturulması	45
3.2.2.3. M ₁ V ₃ populasyonunun oluşturulması	46
3.2.3. M ₁ V ₂ ve M ₁ V ₃ populasyonlarında incelenen ön seleksiyon kriterleri	47
3.2.3.1. Sürgün boyu (cm)	48
3.2.3.2. Boğum aralığı (mm)	48
3.2.3.3. Yaprak alanı (cm ²).....	49
3.2.3.4. Normal ve anormal yaprak sayısı (adet).....	49
3.2.3.5. Mutasyon frekansı (%)	49
3.2.4. Mutant adayı bireylerin seçimi.....	50
3.2.5. Fizyolojik ve biyokimyasal analizler	50
3.2.5.1. Yaprak oransal su içeriği (%)	50
3.2.5.2. Yaprak klorofil içeriği (mg/g)	51
3.2.5.3. Yapraklarda toplam çözünebilir protein konsantrasyonu (%).....	52
3.2.5.4. Membran geçirgenliği (%).....	53

3.2.5.5. Prolin konsantrasyonunun belirlenmesi ($\mu\text{mol/g YA}$)	55
3.2.6. Düşük sıcaklık (don) testleri	56
3.2.7. İstatistiksel değerlendirme	59
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	60
4.1. Etkili Mutagen Dozunun Belirlenmesi.....	60
4.1.1. Moro portakalı.....	60
4.1.2. Interdonato limonu	61
4.1.3. Meksika laymı	62
4.2. Populasyonların Oluşturulması	63
4.2.1. M_1V_1 populasyonu	63
4.2.2. M_1V_2 populasyonu	64
4.2.3. M_1V_3 populasyonu	66
4.3. M_1V_2 ve M_1V_3 Populasyonlarında İncelenen Ön Seleksiyon Kriterleri.....	68
4.3.1. Sürgün boyu (cm).....	68
4.3.2. Boğum aralığı (mm).....	69
4.3.3. Yaprak alanı (cm^2)	71
4.3.4. Normal ve anormal yaprak sayısı (adet)	72
4.3.5. Mutasyon frekansı (%).....	74
4.4. Mutant Adayı Bireylerin Seçilmesi.....	74
4.5. Fizyolojik ve Biyokimyasal Analizler	82
4.5.1. Yaprak oransal su içeriği (%).....	82
4.5.2. Yaprak klorofil içeriği (mg/g).....	84
4.5.2.1 Moro portakalı	84
4.5.2.2. Interdonato limonu.....	84
4.5.2.3. Meksika laymı	85
4.5.3. Yapraklarda toplam çözünebilir protein içeriği (%)	89
4.5.4. Membran geçirgenliği (%)	90
4.5.5. Yaprak prolin konsantrasyonu ($\mu\text{mol/g YA}$)	92
4.5.5.1. Moro Portakalı	92
4.5.5.2. Interdonato limonu.....	93
4.5.5.3. Meksika laymı	94
4.6. Düşük Sıcaklık (Don) Testleri	96
4.6.1. Hücrel membran zararının belirlenmesi (%)	97
4.6.1.1. Moro portakalı	97
4.6.1.2. Interdonato limonu.....	99
4.6.1.3. Meksika laymı	102
4.6.2. Düşük sıcaklık toleransı (LT_{50}).....	105
4.6.2.1. Moro portakalı	105
4.6.2.2. Interdonato limonu.....	106
4.6.2.3. Meksika laymı	107

5. SONUÇLAR	111
6. KAYNAKLAR	113
ÖZGEÇMİŞ	



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°	: Derece
°C	: Santigrad derece
cm	: Santimetre
da	: Dekar
EC	: Elektriksel iletkenlik
g	: Gram
Gy	: Gray
ha	: Hektar
LD ₅₀	: Bireylerin %50'sinin öldüğü dozu
LT ₅₀	: Düşük Sıcaklık Toleransı
m	: Metre
mm	: Milimetre
mm ²	: Milimetre kare
N	: Normal
pH	: Hidrojen konsantrasyonu
ppm	: Milyonda bir

Kısaltmalar

AÜ	: Akdeniz Üniversitesi
EC	: Elektriksel iletkenlik
FAO	: Food and Agriculture Organizations
TGK	: Turunçgil genetik kaynakları
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
SI	: Uluslararası Birimler Sistemi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Kullanılan cam seraya ait görünüm; a) sera; b) turunçgil fidanlarının sulandığı damlatıcı başlıklar	37
Şekil 3.2. Yerli turunç fidanlarına ait görünüm; a) Yerli turunç fidanları; b) meyve.....	38
Şekil 3.3. Moro Kan portakalı çeşidine ait görünüm; a) ağaç; b) meyve.....	39
Şekil 3.4. Interdonato limonuna ait görünüm; a) ağaç; b) meyve	39
Şekil 3.5. Meksika laymına ait görünüm; a) ağaç; b) dalda meyve	40
Şekil 3.6. Yerli turunç anaçlarına ait görünüm; a) tohum tavaında çöğürler; b) siyah plastik torbalara şaşırtılmış çöğürler	41
Şekil 3.7. Aşı gözlerinin üzerinde bulunduğu sürgünlere ait görünüm	43
Şekil 3.8. Etkili mutagen dozunun belirlenmesine ait görünüm; a) aşı kalemleri; b) aşı kalemlerinin ışınlanması; c) T göz aşısı; d) Yerli turunç anaçları üzerine aşılınmış aşı gözler.....	43
Şekil 3.9. Bitki etiket örneği, nem oranı belirlenen aşı kalemleri parçalarına ait görünüm; a) etiket; b) aşı kalemi parçaları	44
Şekil 3.10. M_1V_1 populasyonuna ait görünüm; a) aşı tutmuş sürmüş fidan; b) aşı tutmamış fidan	45
Şekil 3.11. M_1V_1 populasyonuna ait görünüm; a) aşılama çalışması; b) sürmüş fidanlar	45
Şekil 3.12. M_1V_1 populasyonu bireylerinden aşı gözü eldesi; a) iki göz üzerinden kesilen M_1V_1 bireyleri; b) aşı gözü alınan sürgün	46
Şekil 3.13. M_1V_2 populasyonun oluşturulması; a) aşılanan M_1V_2 bireyleri; b) tutan aşı gözlerinin tepesinin kesilmesi	46

Şekil 3.14. M_1V_3 populasyonunun ait görünüm; a) M_1V_2 Moro portakalı genotipleri; b) Moro portakalı yeni aşılınmış fidanlar; c) M_1V_2 Interdonato limonu genotipleri; d) Interdonato limonu yeni aşılınmış fidanlar; e) M_1V_2 Meksika laymı genotipleri; f) Meksika laymı yeni aşılınmış fidanlar	47
Şekil 3.15. Sürgün boyu ölçümüne ait görünüm.....	48
Şekil 3.16. Boğum aralığı ölçümüne ait görünüm	48
Şekil 3.17. Yaprak alanı ölçümüne ait görünüm; a) üç çeşidin yaprağı (soldan sağa portakal, limon ve laym yaprağı); b) yaprak alanı ölçümünden görünüm.....	49
Şekil 3.18. Normal ve anormal yapraklara ait görünüm; a) Moro portakalı normal yaprak; b) Moro portakalı anormal yaprak.....	49
Şekil 3.19. Yaprak oransal su içeriği belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; a) yaprak örneklerinin buz kutusu içerisinde getirilmesi; b) yaprak örneklerinin hazırlanması	50
Şekil 3.20. Yaprak oransal su içeriği belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; a) örneklere saf su eklenmesi; b) yaprak örneklerinin tartılması.....	51
Şekil 3.21. Klorofil içeriğinin belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; a) yaprak örneklerinin kesilmesi; b) yaprak örneklerinin tartılması.....	51
Şekil 3.22. Klorofil içeriğinin belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; a) yaprak örneklerine kalsiyum bikarbonat eklenmesi; b) yaprak örneklerinin parçalanması; c) homojenize edilen örneklerin süzülmesi; d) spektrometrede örneklerin klorofil miktarının okunması	52
Şekil 3.23. Toplam çözünebilir protein miktarının belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; a) yaprakların kurutulması; b) yaprak örneklerinin öğütülmesi; c) yakma işlemi için asidin eklenmesi; d) örneklerin yakılması; e) örneklerin destilasyonu; f) örneklerin titrasyon yapılması	53

Şekil 3.24. Membran geçirgenliğinin belirlenmesine ait aşamalardan görünümler; a) yaprak disklerinin alınması; b) yaprak disklerinin cam şişelere koyulması; c) örneklerin çalkalayıcıda tutulması; d) örneklerin EC1 ve EC 2 değerinin okunması; e) otoklavdan bir görünüm	54
Şekil 3.25. Prolin analizi için örnek alınan Meksika laymı genotiplerinin bulunduğu seradan bir görünüm.....	55
Şekil 3.26. Prolin miktarının belirlenmesine ait aşamalardan görünümler; a) yaprak örneklerinin alınması; b) yaprakların saf su ile yıkanması; c) örneklerin parçalanması; d) örneklerin mavi bant filtre kâğıdında süzülmesi; e) örneklerin sıcak su banyosunda inkübe edilmesi; f) karışımın 4 ml tolüenle ekstrakte edilmesi	56
Şekil 3.27. Düşük sıcaklık (don) testlerine ait aşamalardan görünümler; a) yaprak örneklerinin buz kutusunda taşınması; b) örneklerin saf su ile yıkanması; c) örneklerden yaprak disklerinin alınması; d) örneklerin -20° C don testi; e) örneklerin buz içerisinde bekletilmesi; f) örneklerin çalkalanması; g) örneklerin otoklavlanması; h) örneklerin EC değerlerinin okunması	58
Şekil 3.28. Düşük sıcaklık (LT ₅₀) değerinin hesaplanmasına ait görünümler; a) log değerinin bulunması; b) anti log değerinin bulunması	59
Şekil 4.1. Moro portakal çeşidine ait EMD	60
Şekil 4.2. Interdonato limon çeşidine ait EMD	61
Şekil 4.3. Meksika laym çeşidine ait EMD	62
Şekil 4.4. M ₁ V ₁ popülasyona ait görünümler; a) Moro portakalı fidanları; b) Interdonato limonu fidanları; c) Meksika laymı fidanları	64
Şekil 4.5. Meksika laymı fidanlarına ait görünümler; a) aşı tutmayan birey; b) aşı tutmuş birey; c) aşı tutmuş fakat sürmemiş birey	65

Şekil 4.6. M_1V_2 popülasyona ait görünüm; a) Moro portakal fidanları; b) Interdonato limon fidanları; c) Meksika laymı fidanları.	66
Şekil 4.7. M_1V_3 popülasyonuna ait bireyler; a) Interdonato limonu genotipleri; b) Meksika laymı genotipleri; c) sera içerisinde görünüm.....	67
Şekil 4.8. Moro portakalı genotiplerinde boğum aralığı kısalmış bireylere ait görünüm; a) Moro portakalı kontrol bireyi; b) Moro portakalı genotipi; c) Moro portakalı genotipi	70
Şekil 4.9. Yaprak alanı farklı Moro portakalı genotiplerine ait görünüm; a) geniş yapraklı; b) dar yapraklı	72
Şekil 4.10. M_1V_2 popülasyonu bireylerine ait anormal yapraklar; a) Moro portakalı; b) Interdonato limonu; c) Meksika laymı	73
Şekil 4.11. Moro portakalı genotiplerine ait görünüm (soldan sağa kontrol ve mutant aday bireyler)	75
Şekil 4.12. Moro portakalı genotiplerine ait görünüm (kontrol ve seçilen mutant aday bireyler) a) M-K ve M-1; b) M-K ve M-2; c) M-K ve M-3; d) M-K ve M-4; e) M-K ve M-5; f) M-K ve M-6; g) M-K ve M-7; h) M-K ve M-8.....	76
Şekil 4.13. Moro portakalı genotiplerine ait görünüm (kontrol ve seçilen mutant aday bireyler); a) M-K ve M-9; b) M-K ve M-10	77
Şekil 4.14. Interdonato limonu genotiplerine ait görünüm (soldan sağa kontrol ve mutant aday bireyler).....	78
Şekil 4.15. Interdonato limonu genotiplerine ait görünüm (kontrol ve seçilen mutant aday bireyler); a) I-K ve I-1; b) I-K ve I-2; c) I-K ve I-3; d) I-K ve I-4;	78

Şekil 4.16. Interdonato limonu genotiplerine ait görünüm(kontrol ve seçilen mutant adayı bireyler); a) I-K ve I-5; b) I-K ve I-6; c) I-K ve I-7; d) I-K ve I-8; e) I-K ve I-9; f) I-K ve I-10	79
Şekil 4.17. Meksika laymı genotiplerine ait görünüm(soldan sağa kontrol ve mutant adayı bireyler).....	80
Şekil 4.18. Meksika laymı genotiplerine ait görünüm(kontrol ve seçilen mutant adayı bireyler); a) L-K ve L-1; b) L-K ve L2; c) L-K ve L-3; d) L-K ve L-4; e) L-K ve L-5; f) L-K ve L-6; g) L-K ve L-7; h) L-K ve L-8	81
Şekil 4.19. Meksika laymı genotiplerine ait görünüm(kontrol ve seçilen mutant adayı bireyler); a) L-K ve L-9; b) L-K ve L-10.....	82
Şekil 4.20. Turunçgil türlerine ait kontrol bireylerin yaprak ve klorofil analiz ekstraktına ait görünüm; a) Moro portakalı yaprağı; b) Interdonato limonu yaprağı; c) Meksika laymı yaprağı; d) Moro portakalı; e) Interdonato limonu; f) Meksika laymı	86
Şekil 4.21. Prolin analizinden görünüm; a) Moro portakalı; b) portakal genotipleri	93
Şekil 4.22. Prolin analiz sonuçlarına ait görünüm; a) süzölmüş örnekler; b) Interdonato limonu genotiplerinde	94
Şekil 4.23. Meksika laymı prolin analizi sonuçlarına ait görünüm; a) aspire edilmemiş örnekler; b) Meksika laymı genotipleri.....	95
Şekil 4.24. Toluenle aspire edilen turunçgil türlerine ait örneklerden görünüm (Soldan sağa Moro portakalı, Interdonato limonu, Meksika laymı)	95
Şekil 4.25. Arazide Meksika laymı ağacına ait görünüm; a) kasım ayı; b) mart ayı.....	107
Şekil 4.26. Üzerine kar yağmış portakal fidanı (22 Aralık 2016 Antalya’da kar yağışı).....	109

Şekil 4.27. Antalya’da 2019 yılında dolu yağışından zarar görmüş turunçgil ağacı.....	110
Şekil 4.28. Düşük. Mutasyon ıslahı sonucu elde edilen genotipler; a) Interdonato limonu; b) Meksika laymı; c) Moro Portakalı.....	110



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Mutasyon ıslahı çalışmasında kullanılan genotipler.....	37
Çizelge 3.2. Denemede kullanılan torfun fiziksel ve kimyasal özellikleri	40
Çizelge 3.3. Deneme serasının 2016, 2017 ve 2018 yıllarına ait iklim verileri.....	41
Çizelge 3.4. EMD belirlenmesinde uygulanan dozlar, uygulama süresi ve saati	42
Çizelge 4.1. Moro portakal çeşidine uygulanan farklı gama ışını dozlarının, aşı tutma ve sürme oranları ile ortalama sürgün boyu üzerine etkileri, EMD ve nem oranı.....	60
Çizelge 4.2. Interdonato limon çeşidine uygulanan farklı gama ışını dozlarının, aşı tutma ve sürme oranları ile ortalama sürgün boyu üzerine etkileri, EMD ve nem oranı.....	61
Çizelge 4.3. Meksika Laymı çeşidine uygulanan farklı gama ışını dozlarının, aşı tutma ve sürme oranları ile ortalama sürgün boyu üzerine etkileri, EMD ve nem oranı.....	62
Çizelge 4.4. M_1V_1 populasyonunda genotiplere göre kontrol ve ışın uygulanmış bireylerin nem, aşı tutma ve sürme oranları.....	63
Çizelge 4.5. Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerde M_1V_2 aşamasındaki aşılar da sürme oranları.....	64
Çizelge 4.6. Farklı turunçgil türlerine ait genotiplerde M_1V_3 aşamasındaki aşılar da sürme oranları	67
Çizelge 4.7. M_1V_2 aşamasında süren aşılar da saptanan ortalama sürgün boyları	68
Çizelge 4.8. M_1V_3 aşamasında süren aşılar da saptanan ortalama sürgün boyları	68
Çizelge 4. 9. M_1V_2 populasyonundaki aşılar da ortalama boğum aralıkları (mm).....	69
Çizelge 4.10. M_1V_3 populasyonundaki aşılar da ortalama boğum aralıkları.....	69
Çizelge 4.11. M_1V_2 aşamasında aşılar da ölçülen yaprak alanı (cm^2).....	71
Çizelge 4.12. M_1V_3 aşamasında aşılar da ölçülen yaprak alanı (cm^2).....	71
Çizelge 4.13. M_1V_2 aşamasında aşılar da saptanan normal ve anormal yaprak sayısı.....	72
Çizelge 4.14. M_1V_3 aşamasında aşılar da saptanan normal ve anormal yaprak sayısı (adet)	73
Çizelge 4.15. M_1V_2 ve M_1V_3 populasyonlarında mutasyon frekansı	74

Çizelge 4.16. Moro portakalı genotiplerinde M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında saptanan fenotopik özellikler ve mutant frekansı.....	75
Çizelge 4.17. Interdonato limonu genotiplerinde M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında saptanan fenotopik özellikler ve mutant frekansı.....	77
Çizelge 4.18. Meksika laymı genotiplerinde M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında saptanan fenotopik özellikler ve mutant frekansı.....	80
Çizelge 4.19. Farklı turunçgil tür ve çeşitlerine ait genotiplerde yaprak oransal su içeriği.....	83
Çizelge 4.20. Moro Portakalı genotiplerinde saptanan yaprak klorofil içeriği.....	84
Çizelge 4.21. Interdonato limon çeşidine ait genotiplerin yaprak klorofil içeriği.....	85
Çizelge 4.22. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerin yaprak klorofil içeriği.....	86
Çizelge 4.23. Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinin yapraklarında toplam çözünabilir protein içeriği	89
Çizelge 4.24. Turunçgil türlerine ait genotiplerin yaprak membran geçirgenliği.....	91
Çizelge 4.25. Moro Portakalı çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarında saptanan prolin konsantrasyonları.....	92
Çizelge 4.26. Interdonato limon çeşidine ait genotiplerin kasım, ocak ve mart aylarına ait prolin konsatrasyonu	93
Çizelge 4.27. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerin kasım, ocak ve mart aylarına ait prolin konsatrasyonu	94
Çizelge 4.28. Moro Portakalı genotiplerinin kasım ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%)	97
Çizelge 4.29. Moro Portakalı genotiplerinin ocak ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%)	98
Çizelge 4.30. Moro Portakalı genotiplerinin mart ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%)	99
Çizelge 4.31. Interdonato limonu genotiplerinin kasım ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%).....	100
Çizelge 4.32. Interdonato limonu genotiplerinin ocak ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları.....	101
Çizelge 4.33. Interdonato limonu genotiplerinin mart ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%).....	102

Çizelge 4.34. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerinin kasım ayına ait hücrel membran zararlanma oranları	103
Çizelge 4.35. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerinin ocak ayına ait hücrel membran zararlanma oranları	104
Çizelge 4.36. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerinin mart ayına ait hücrel membran zararlanma oranları	105
Çizelge 4.37. Moro portakalı genotiplerinin dönemsel düşük sıcaklık toleransı (LT ₅₀).....	106
Çizelge 4.38. Interdonato limonu genotiplerinin dönemsel düşük sıcaklık toleransı (LT ₅₀).....	107
Çizelge 4.39. Meksika laymı genotiplerinin dönemsel düşük sıcaklık toleransı (LT ₅₀).....	108

1.GİRİŞ

Turunçgiller, yüksek C vitamini ve antioksidan içeriği nedeniyle antik çağlardan bu yana insanlar tarafından sevilen ve üretilen meyve gruplarının başında gelmektedir. Turunçgiller, gen merkezi olduğu düşünülen, genellikle doğu ve güney Asya muson ikliminin hakim olduğu, yağmur ormanları ve uzun ağaçlar tarafından gölgelenmiş tropikal çevreler olan, Himalaya eteklerinde bulunan Kuzeydoğu Hindistan, Güneybatı Çin'in Yunnan eyaleti ve Myanmar gibi spesifik bölgeleri kapsayan güneydoğu Asya'dan dünyaya yayılmıştır (Habermann ve Souza 2014; Inglese ve Sortino 2019). Turunçgiller dünyada 6 kıtaya götürülmüş ve 140'dan fazla ülkede yetiştirilmektedir (Ollitrault ve Navarro 2012).

Subtropik iklim meyveleri içerisinde yer alan turunçgiller, dünyada 9.28 milyon hektar üretim alanı ve 146.599.168 milyon ton üretimiyle önemli bir yere sahiptir. Turunçgiller güney ve kuzey yarım kürede yetiştirilmektedir. Güney yarım küre turunçgil üretim alanının % 14.22'sine ve üretim miktarının ise % 20.95'ne sahiptir. Bu yarım kürede Brezilya, Arjantin ve Güney Afrika önemli üretici ülkeler konumunda olup, yetiştiricilik genellikle meyve suyu amaçlı yapılmaktadır. Buna karşın kuzey yarım küre, toplam turunçgil alanının % 85.78'ni ve toplam turunçgil üretiminin ise % 79.05'ni oluşturmaktadır. Bu yarım kürede bulunan ülkelere Çin % 28.01 üretim alanı ve % 26.50 üretim hacmi ile ilk sırada yer alırken, bunu % 10.21 üretim alanı ve % 7.79 üretim hacmi ile Hindistan ve % 3.11 üretim alanı ve % 4.78 üretim hacmi ile ABD izlemektedir. Kuzey yarım kürede bulunan ülkemiz ise % 3.10 üretim alanı ve % 3.23 üretim hacmi ile sırasıyla dünyada 12. ve 7. sırada yer almaktadır (Anonymous 1).

Tropik ve subtropik iklim kuşağında yetiştirilen, turunçgillerin dünyada coğrafi dağılımını belirleyen en önemli faktör düşük sıcaklıklardır. Dünya üzerinde birçok ülkeye götürülen turunçgillerin üretimi ise çok nadir bölgelerde yapılabilmektedir. Dünyada ticari anlamda 40° kuzey ve güney enlemleri arasında ve sıcaklığın -6.6°C altına düşmediği ekolojilerde yetişmektedir (Albrigo 2012). Ticari olarak yetiştirilen turunçgiller herdem yeşil, soğuğa hassas, -2.2°C ile -13°C arasındaki sıcaklıklardan zarar gören bitkilerdir. Güneydoğu ABD gibi dünyanın birçok yerinde, turunçgillere zarar verici donlara karşı çok hassas bölgelerde yetiştirilmektedir (Ladaniya 2008). Bu bölgelerde zaman zaman meydana gelen don olayları çok büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Tarih boyunca turunçgil üretimini düşük sıcaklıklar etkilemiştir ve bu konuda çalışmalar yapılmıştır. Dünyada Subtropik koşullarda, turunçgil üretiminin yapıldığı alanlarda iklim faktörlerini değiştirmek mümkün olmadığı için turunçgil türlerinde soğuğa toleranslı çeşitlerin geliştirilmesi öncelikli araştırma konuları arasında yer almaktadır (Albrigo 2012). Çeşit geliştirmede farklı ıslah yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Bu yöntemler arasında seleksiyon, melezleme ve mutasyon ıslahları ile biyoteknolojik yöntemlerden protoplast füzyonu ve gen aktarımı yöntemi sayılabilir (Albrigo 2012).

Turunçgil çeşitlerinde soğuğa toleranslı tiplerin geliştirilmesine yönelik çalışmalarda sınırlı sayıda başarı elde edilebilmiştir. Turunçgillerde soğuğa toleranslı çeşitlerin geliştirilmesine yönelik ilk çalışmalar 1894-1895 kış aylarında Florida'da yaşanan şiddetli don olayından sonra başlamıştır. Bu kapsamda yürütülen çalışmalarda,

soğuğa toleranslı üç yapraklı portakalı (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. RUTACEAE) ile bütün turunçgil türleri ve çeşitleri melezleme yapılarak soğuğa toleranslı çeşitler elde edilmeye çalışılmıştır (Reuther vd. 1968; Ollitrault ve Navarro 2012; Gmitter 2019). Fakat melezleme ıslahı yöntemiyle soğuğa toleranslı genotiplerin elde edilebilmesi için çok fazla sayıda melez birey elde edilerek değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu çalışmalar yapılırken arazideki yürütülecek olan bölümde çok fazla işçiliğe ve üretim masrafına gerek duyulmaktadır. Ayrıca turunçgillerde görülen uyumsuzluklar, nüseller embriyonu, kendileme depresyonu gibi biyolojik kısıtlayıcı nedenlerden dolayı melezleme ıslahı ile yeni çeşitlerin geliştirilebilmesi çok zor olmaktadır (Jain vd. 2000; Latado vd. 2012). Günümüzde yapılan moleküler çalışmalar sonucu soğuğa toleranslılık geninin çok fazla gen ile kontrol edildiği ve soğuğa toleranslılığın bitkilerin aklimasyon yeteneği ile de ilişkili olduğu belirlenmiştir (Champ 2004; Çevik vd. 2012).

Turunçgillerin doğal melezleme ve mutasyonlara eğiliminin fazla olmasından dolayı günümüzde ticari olarak yetiştirilen turunçgil çeşitlerinin büyük bir kısmı doğal ve yapay mutasyonlar sonucu meydana gelmiştir. Bu nedenle turunçgillerde son yıllarda ıslah yöntemlerinden en fazla tercih edileni mutasyon ıslahıdır. Mutasyon ıslahı bir çeşidin olumlu özelliklerini koruyarak bir, iki olumsuz özelliğini değiştirebildiği için tercih edilen bir yöntemdir (Latado vd. 2012). Bugüne kadar yapılan mutasyon ıslahı çalışmalarında çekirdeksiz tipler elde edilmiştir (Zhou vd. 2008; Latado vd. 2012; Handaji vd. 2016). Yakın zamanda yapılan bazı araştırmalarda ise düşük doz gama ışını uygulamasının soğuk, kuraklık, su, ısı, ağır metal gibi abiyotik stres koşullarına turunçgillerin toleranslılığının arttığını ortaya koymuştur (Majd vd. 2009; lestari 2012; Wang vd. 2017).

Dünyada renk ve aroma bakımından en kaliteli turunçgil meyveleri subtropik iklim kuşağında yetiştirilmektedir. Türkiye subtropik iklim kuşağında yer almasından dolayı turunçgil yetiştiriciliği için elverişli ekolojik koşullara ve büyük bir potansiyele sahiptir. Ülkemizde turunçgil yetiştiriciliğinin büyük bir bölümü Akdeniz Bölgesi'nin kıyı şeridinin tamamında, Ege Bölgesi'nin büyük bir kısmında, Ege Körfezi'nden Edremit'e kadar ve Karadeniz bölgesinde ise Ordu ilinden itibaren Rus sınırına kadar olan kısmında yapılmaktadır. Söz konusu olan bölgelerde Akdeniz bölgesinde ticari anlamda yetiştiriciliği yapılan türlerden portakal, limon, mandarin ve altıntop yetiştirilebilmesine rağmen, Ege ve Karadeniz bölgesinde soğuğa daha dayanıklı olması nedeniyle ağırlıklı olarak mandarin yetiştirilmektedir (Özcan ve Ulubelde 1984).

Ülkemizde son yıllarda turunçgil üretiminin yapıldığı alanların imara açılması sonucu turunçgil üretimi biraz daha serin olan iç kısımlara kaymaya başlamıştır. Bu durum, Akdeniz iklim kuşağı dışındaki alanlarda yapılan turunçgil yetiştiriciliğinde, plantasyonların kış soğuklarından etkilenmesine ve bazı yıllar oldukça fazla verim kayıpları yaşanmasına neden olmaktadır. Yine bazı yıllarda kış aylarında meydana gelen ani sıcaklık düşüşleri turunçgil yetiştiriciliği yapılan mevcut bölgelerimizdeki ağaçlarda da zararlanmalara neden olabilmektedir. Ülkemizde 1950, 1953 ve 1964 yıllarında oluşan düşük sıcaklıkların limon üretimimizde bir önceki yıllara göre % 46, % 7 ve % 53 oranlarında düşüşlere neden olduğu bildirilmiştir (Tuzcu vd. 1977). Bu nedenle, sahil şeridinden içeriye doğru uzanan alanlarda ve don zararının meydana gelebileceği turunçgil alanlarında farklı türler için soğuklara toleranslı uygun turunçgil çeşitlerinin geliştirilmesi oldukça önemlidir. Değişik türlerde soğuğa toleranslı genotiplerin geliştirilmesinin, turunçgil üretim alanımızın ve dolayısıyla toplam üretimde önemli bir

artışın sağlanabileceği aşikârdır. Üretimin arttırılması yanında, dünya pazarlarının istediği özelliklere sahip yeni turunçgil çeşitlerinin geliştirilmesine de ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu nedenle planlanan bu çalışmada; mutasyon ıslahı yöntemiyle dünyada turunçgil sektöründe önemli bir yere sahip olan Moro portakalı (Gusso vd 2008; Maccarone ve Rapisarda 2008; Dutt vd. 2016; Martínez-Nicolás vd. 2016; Cuellar vd. 2016), Interdonato limonu, Meksika laymı çeşitlerinde en uygun “Etkili Mutagen Dozu” (EMD) belirlenmesi ve bu belirlenen EMD’na göre her bir türe ait çeşitte aşı gözlerine gama ışını uygulanarak bir populasyon oluşturulması amaçlanmıştır. Buna ilave olarak ön seleksiyon kriterlerine göre M_1V_2 populasyonundan (Broertjes ve Van Harten 1988; Sarsu vd. 2018) seçilen ve M_1V_3 aşamasına getirilen bazı genotiplerde, soğuğa toleranslılık çalışmaları kapsamında nispi su içeriği, klorofil miktarı, yapraklarda toplam çözünebilir protein içeriği, membran geçirgenliği (%), prolin analizi ve yapay don testleri ile toleranslı genotiplerin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Mutasyonla İlgili Çalışmalar

Mutasyon kavramı ile ilk defa 1901 yılında Hugo de Vries'in '*Mutasyon kanunlarının bilinmesi, bitki ve hayvanlarda isteğe bağlı olarak tamamen yeni özelliklerin yaratılmasını sağlayacaktır*' ifadesiyle karşılaşmıştır. Mutasyon, genetik yapıda meydana gelen aktarılabilen kalıcı değişiklikler olarak ifade edilmektedir. Mutasyonlar rastgele olaylardır ve hepsi pleotropik özelliktedir. Genellikle zararlı olan etkiler göstermektedir. Mutasyonlar ıslah yoluyla bitki gelişimi için gerekli temel değişkenliği sağlamaktadır. Yapay ve doğal mutasyonlar benzer genetik değişiklik spektrumunu başlatabilmektedir. Mutasyon, klasik melezleme ıslahını tamamlayan eşsiz bir araç olarak görülmektedir (Saamin ve Thompson 1998).

Mutasyonlar oluş şekillerine göre doğal ve yapay mutasyonlar şeklinde ikiye ayrılmaktadır. Doğal mutasyonlar kendiliğinden oluşan, birçok durumda nedeni veya kökeni bilinmeyen mutasyonlardır. Doğal fiziksel koşullar (güneş ışığı, kozmik ışın ve UV ışığı, doğal radyoaktivite), kimyasal maddeler (özellikle alkalimli maddeler) ve biyolojik etmenlerin bitkilerin gametik ve somatik biyolojik mekanizmalarının bozulmasına neden olarak mutasyonların oluşmasını sağlamaktadır. Kendiliğinden oluşan kalıtsal mutasyonlar, gezegendeki vahşi yaşamda gözlenebilen geniş çeşitliliğin oluşmasına neden olmaktadır (Ahloowalia vd. 2004).

Doğal mutasyonlar geniş bir özellik yelpazesi için varyasyon sağlamada etkili olmuş olsa da doğada meydana gelme olasılığı çok düşüktür. Seksüel olarak çoğalan türlerde, doğal mutasyonların ortaya çıkma olasılığı 10^{-6} olarak tahmin edilmektedir. Muller (1930) ve Stadler (1928b) tarafından yapılan mutasyon ıslahı çalışmalarıyla, mutasyonları doğada gözlemlenenden çok daha yüksek bir frekansta oluşturarak bu sınırlamanın üstesinden gelmenin bir yolunu sağlamışlardır. Mevcut veriler, mutasyon frekansının, mutagenli uygulamalar ile büyük ölçüde artırılabilirliğini göstermektedir. Yapay mutasyon ıslahı ile doğal mutasyonlar tarafından üretilenlerden 103 kat daha fazla mutant elde edilebilmektedir. Örneğin *Arabidopsis thaliana* doğal mutasyon frekansı 7×10^{-9} 30 generasyon için, oysaki EMS ile muamele edildiğinde yapay mutasyonda G:C > A:T değişim oranı ikinci generasyonda ortalama 300 kbs olarak hesaplanmıştır (Saamin ve Thompson 1998; Latado vd. 2012).

Yapay mutasyonların meydana gelmesini sağlayan mutagenler kimyasal ve fiziksel olarak ikiye ayrılmaktadır. Kimyasal mutagenler: etil metanat sülfat (EMS); dietil sülfat (DES), etil amin (EI), etil nitroso üren (ENU), etil nitroso üre (ENH), metil nitroso üre (MNH) ve azidlerdir. Kimyasal mutagenlerin avantajları ve etkisi kanıtlanmıştır. Kimyasal mutagenler fiziksel mutagenlere göre kromozomda nispeten daha fazla değişiklik yapmaktadır. Güçlü nokta mutasyonları, daha az kromozom zararı, yüksek mutasyon oranı ve yoğunluğu bilinen düşük mutasyon spektrumlarıdır. Dezavantajları ise mutagenizasyon rastgeledir, kullanımı zordur, yaygın kullanımları yoktur, çok tehlikeli, çevre dostu olmayan, düzenlenmiş çok hücreli sistemlerde etki zorlukları, tekrarlanan bilirlilikteki zorluklar, zigotlarla ya da pre-embryo materyallerde sınırlama, her genotip için doz oranının belirlenmesi gerekmektedir (Jain vd. 2000; Lestari 2012).

Fiziksel mutagenler kullanılarak yapılan yapay mutasyon ıslahında, ultraviyole (UV) ışığı ve iyonlaştırıcı (X-ışını, gama ışını, alfa ve beta partikülleri, proton ve nötronlar) radyasyonlar kullanılmaktadır. Fiziksel mutagenler çok farklı özellikte bulunmaktadır; X-ışını, X-ışını makinesi ile uygulanmakta ve etkisi mm ile cm arasında; gama ışını, radyoizotop (^{60}Co , ^{137}Cs) ve nükleer reaktör ile uygulanmakta, etkisi cm'lerde; nötronlar, nükleer reaktör veya hızlandırıcılar ile uygulanmakta ve etkisi cm'lerde; beta partikülleri, hızlı elektronlar ve katot ışınları, radyoizotoplar ile uygulanmakta ve etkisi mm'lerde; alfa partikülleri, radyoizotoplar ile uygulanmakta etkisi mm fraksiyon; protonlar, nükleer reaktörler uygulanmakta ve etkisi cm'lerde olmaktadır. Yapay mutasyon ıslahında en çok fiziksel mutagenler kullanılmaktadır. Fiziksel mutagenlerin avantajları ile etkinliği kanıtlanmıştır. Çevre dostu olup her yerde kullanımı vardır. Güçlü, tehlikeli olmayan, maliyeti düşük ve UV hariç çok hücreli sistemlerde etkisi yüksektir. Dezavantajları ise mutagenez rastgeledir, iyi bilinmeyen mutasyon spektrumları, işlem görmüş bitkilerde yüksek derecede kısırılık oranı, her genotip için doz oranının belirlenmesi gerekmektedir (Saamin ve Thompson 1998; Latado vd. 2012).

Mutagenler farklı etkilere sahiptir. Bazıları belirli bölgeleri etkilerken bazıları da bir noktayı etkilemektedir. Mutasyonlar oluş yerlerine göre genom, kromozom ve gen mutasyonları olarak üç ana kategoriye ayrılmaktadır. Fiziksel mutagenden gelen ışın enerjisi bitki dokusunda kimyasal reaksiyonu başlatarak DNA'nın yapısında kalıtsal değişikliklere neden olmaktadır. Bu değişiklikler genel olarak gende, kromozomda, hatta kromozomal parçalanma dahil genom seviyelerinde, ters çevirme, çoğaltma, yer değiştirme ve nokta mutasyonları şeklinde oluşmaktadır. İyonize radyasyonda daha çok X ve gama ışınları özellikle meyve ıslahında kullanılmaktadır (Latado vd. 2012; Lestari 2012; Lundqvist vd. 2012).

Uygulanan mutagen dozu mutasyon frekansını ve sıklığını etkilemektedir. Doz hızı genellikle röntgen (r) veya rad (R)/dakika olarak ifade edilmektedir. Mutagenler akut, kronik ve yarı akut şekilde uygulanmaktadır. Akut olarak uygulamalarda hızlı şekilde uygulanmaktadır. Uygulama birkaç dakika ile birkaç saat arasında değişmektedir. Meyve türleri için akut olarak uygulamada 10-1000 R/dakika oranında kullanılmaktadır. Kronik uygulamalarda ise doz oranı 10-100 R/gün arasında değişebilmektedir ve uygulamalar haftalar, aylar hatta yıllarca bile sürebilmektedir. Yarı akut uygulamalarda ise doz 1R/dakikadan daha azdır. Akut doz kronik dozdan daha etkilidir. Nishida (1973) tarafından, yarı akut 1 kR/gün dozun daha düşük doz olan 23-50 R/gün dozdan daha etkili olduğu saptanmıştır (Lestari 2012).

Uluslararası Radyasyon Birimleri Komitesi (ICRU) radyasyon çalışmalarında kullanılan kavramlar olan aktivite, ışınlama dozu, soğurulma dozu ve doz eşdeğeri için özel birimler tanımlamıştır. Bunlar sırasıyla; Curie (Ci), Röntgen (R), rad ve rem'dir. Bu özel birimler, 1986 yılından itibaren terk edilmeye başlanmış ve yerine tüm dünyada kullanılan birimlerin aynı olması düşüncesi ile M.K.S. sistemini esas alan "Uluslararası Birimler Sistemi (SI)" kullanılmaktadır. Aynı kavramlar için SI birimleri sırasıyla Becquerel (Bq), Coulomb/kg, Gray (Gy), ve Sievert (Sv) olarak seçilmiştir. Gray (Gy) ; ışınlanan maddenin 1 kg'ında 1 Joule'lük enerji soğurulması meydana getiren herhangi bir radyasyon miktarıdır. 1 Gy= 100 rad, 1rad= 0.01 Gy (Anonim 1).

Mutasyon bir tek hücrede meydana gelen rastgele bir olaydır. Bir mutasyonun kendini bütün bitkide gösterebilmesi için mutagen uygulanan hücrelerin meristem hücreler olması gerekmektedir. Uygulama için en çok kullanılan uygun meristematik hücreler sürgün tomurcukları veya tohumlardaki meristematik hücrelerdir. Ovüller, polenler ve mikro sporlar ise daha az miktarda kullanılmaktadır (Jain vd. 2000).

Örçen (2012)'ne göre diketolon bitkilerin aktif meristemleri etrafı promordialar ile sarılmış tipik bir kubbe gibidir. Apeksin yapısı genel olarak 1924 yılında Schmidt tarafından formüle edilen tunica-corporis kavramı ile ifade edilmektedir. Buna göre apekte iki hücre bölgesi bulunmaktadır. Tunika, bir korpus hücre kütesinin üzerinde yer alan düşük sayıda tabakadan (genellikle 2-3) oluşturmaktadır. Tunika katmanları LI ve LII, korpus ise LIII olarak ifade edilmektedir. Yapay mutasyonların LII katmanında olursa genetik değişikliğe neden olmaktadır. Ayrıca bir bitki organizmasının bütün hücreleri aynı genotipik yapıya sahiptir. Kimeralı bitkilerde hücrelerin sahip olduğu genotipik yapının birbirlerinden farklı, genetik olarak değişik iki ya da daha fazla tipte dokudan oluşan bitkilerin kimeralı olduğunu ve kimeranın ilk olarak tanımının 17. yüzyılın sonlarında portakal üzerinde yapıldığını bildirmiştir.

Vejetatif üretilen bitkilerde yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmalarında M_1V_2 populasyonunda kimerik yapıların devam etmesi söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle M_1V_2 populasyonda olağan dışı özellikleri belirlemek için çok iyi gözlem ve ölçümlerin (sürgün boyu, boğum arası mesafe, dallanma tipi vb.) yapılması gerekmektedir. Ayrıca M_1V_3 populasyonunda belirlenen mutant adaylarının özelliklerinin ortaya koyulabilmesi için M_1V_2 populasyonundaki bu ölçümler oldukça önemlidir. M_1V_3 populasyonunda ise mutant adaylarının ön değerlendirilmesine başlanabilmektedir ve M_1V_2 ve M_1V_3 populasyonlarında durağanlaşmış mutant adaylarında verim, kalite, biyokimyasal, mineral içeriği, meyve büyüklüğü, çiçek özellikleri, ağırlık gibi temel istenen özelliklerin değerlendirilmesi yapılabilir veya daha ileri nesillere kadar gerçekleştirilebilmektedir (Çağırğan 2006; Sarsu vd. 2018).

Prina vd. (2012), yapay mutasyon ıslahında mutant bireylerin tespitinin uzun zamandır bir darboğaz oluşturduğunu ve mevcut önceliklerin, hastalık ve zararlılara karşı direnç, kuraklığa, sıcaklığa ve tuzluluğa karşı tolerans gibi, önemli biyotik ve abiyotik stres ile ilgili özelliklerin tarama protokollerini geliştirmek ve yaymak olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca gelişmiş özelliklere sahip mutant bitkilerin seçilmesi mutant tarama ve mutant bireylerin tanımlanması olarak iki ana aşamadan oluştuğunu bildirmişlerdir.

Latado vd. (2012)'ne göre bazı turunçgil türlerinde özellikle portakallar ve altıntoplarda yüksek seviyede heterozigotinin olması M_1 veya M_1V_1 bireylerinde mutasyonların saptanmasını kolaylaştırabildiğini ve bununla nedenin mutagenlerin resesif alellerin (Aa veya aa) sıklığını artırarak fenotiplerin tanımlanmasını sağlamalarından dolayı olduğunu belirtmişlerdir.

Mutasyon ıslahı çalışmalarında mutagen uygulamasından sonra mutantların belirlenmesi için uzun bir zaman ve geniş bir populasyona ihtiyaç vardır. Fakat değiştirilen özellik ebeveynlerde yoksa özellikle makro özelliklerle ilgili olan bodurluk, yarı bodurluk, kendine verimlilik, erken olgunlaşma, renk değişiklikleri kolayca ayırt edilebilmektedir (Sarsu vd. 2018).

Bitki ıslahında yapay mutasyon üretme kavramının ortaya atılmasından yirmi bir yıl sonra 1922 yılında İtalya'da Alberto Pirovino, X-ışınları ve ultraviyole ışık kullanarak bitkileri değiştirmeye çalışmıştır. Muller 1927 yılında X-ışını kullanarak *Drosophila*'daki mutasyon oranının olabileceğini kanıtlamış ve onu Stadler, arpa ve mısırdaki aynı sonuçları bularak desteklemiştir. Bu sonuçlardan hemen sonra İsviçre'de Nilsson-Ehle ve Gustafsson X-ışını kullanarak arpada mutasyon ıslahı ile ilgili çalışmalara başlamıştır. İkinci dünya savaşından sonra fiziksel ve kimyasal mutagenler kullanılarak tohum ve vejetatif yolla üretilen bitkilerde mutasyon ıslahı uygulanabilir duruma gelmiştir (Bado vd. 2015).

Dünyada mutasyon ıslahı ile 1934 yılında Endonezya'da ilk mutant birey X-ışınlarıyla tütün bitkisinden elde edilen 'Clorina F1' çeşididir. İkinci mutant ise Hindistan'da 1948 yılında pamuk bitkisinden elde edilen 'M.A.9.' çeşididir (Maluszynski vd. 1995).

Bitki mutasyonu ıslahının etkisi, mutant çeşitlerin sayıları cinsinden de ölçülebilir: şu anda dünya genelinde resmi olarak açıklanan 214 ürün türünde 3222 ürün çeşitleri (Matijevic vd. 2013) ve mutant çeşit veri tabanında (MVD) 3283 adet tescilli mutant çeşit bulunmaktadır (Anonymous 2).

Buğday, mısır, nohut, pirinç, susam gibi tarla bitkilerinde, mutasyon ıslahı ile yeni çeşitlerin geliştirilmesi, insanların beslenmesinde ve dünya ekonomisinde çok önemli katkılara neden olmuştur (Çağırğan vd. 2006).

Çeltik çeşitlerinin birçoğu mutasyon ıslahı yöntemiyle elde edilmiştir. Çeltik tohumlarına mutagen uygulamasıyla elde edilen genotiplerden seçilen bireylerde yarı bodurluk, erkencilik gibi istenen karakterlerin belirlenmesinin yanında çeltik üretimini arttıran tuza ve soğuğa karşı toleranslılık gibi özellikler de kazandırılmıştır. Kimyasal mutagen uygulanarak elde edilen 23 mutant çeltik üretiminde önemli ekonomik gelişmelere neden olmuştur. Çin'in Zhefu çeltik çeşidi 1.400.000 ha alanda, Yuanfengzao çeşidi 1 milyon ha alanda üretimi yapılmaktadır (Lestari 2012).

Geniş bir ürün yelpazesi tohumla çoğaltılamamaktadır. Bunlar kök, stolon, yumru ve meyve kesimleri ve hatta yaprak parçaları ile vejetatif olarak çoğaltılan bitkilerdir ve kökler, yumrular, yapraklar ve meyveler için yetiştirilirler. Bu bitkiler muz, mango, turuncgil, süs bitkileri ve birçok meyve ağaçları, çay, kahve, kauçuk gibi çok önemli ekonomik öneme sahip olanlardır. Bu bitkilerde kendine kısırlık, poliembriyoni gibi nedenlerle geleneksel ıslah yöntemleriyle yeni çeşitlerin elde edilmesi çok zor olmaktadır. Bu nedenle, vejetatif üretilen bitkiler için mutasyon ıslahı, genetiğin genişletilmesinde alternatif bir yaklaşım sunmaktadır (Sarsu vd. 2018).

Mutasyon ıslahı yöntemiyle birçok meyve türünde yeni çeşitler geliştirilmiştir. Kirazlarda çok sayıda kompakt yapılı kiraz, kompakt bir kayısı (*Prunus armeniaca* L.); benzer yapılı elmalarda birçok mutant, kompakt yapılı armut geliştirilmiştir (Saamin ve Thompson 1998).

Reuters vd. (1968) tarafından, turuncgillerde çeşit geliştirmek için bilinen ilk melezleme ıslahı çalışmalarının 1893 yılında Swingle ve Webber tarafından hastalıklarla turuncgillerin ilişkisini incelemek amacıyla yapıldığı bildirilmiştir. Florida'da 1894-95

yılında meydana gelen don olayından sonra üç yapraklı portakal anacın soğuklara dayanıklılığından yola çıkılarak, soğuklara dayanıklı turuncgil çeşitleri geliştirmek amacıyla melezleme çalışmaları Swingle tarafından başlatılmıştır. Turuncgillerde görülen, tohumlarda poliembriyoni, yüksek heterozigoti, uyumsuzluk, kısırılık gibi çeşitli biyolojik engeller yeni çeşitlerin geliştirilmesini engellemektedir. Birçok turuncgil çeşidi doğal mutasyonlar sonucu oluşmuş ve bunların tohum veya sürgünlerden seçildiğine inanılmaktadır. Teksas'ta seçilen birçok altıntop çeşidi, Brezilya'da Bahia portakalından seçilen Washington Navel portakalı, daha az asitli laym çeşidi doğal mutasyonlara verilebilecek en iyi örnekleri oluşturmaktadır (Latado vd. 2012). Doğal mutasyonlar sonucu oluşan birçok mutant turuncgil genotipleri seleksiyon ıslahı ile seçilerek turuncgil endüstrisine kazandırılmıştır (Olliurot ve Navarro 2012). Bunlardan bazıları ile ilgili literatür derlemesi aşağıda sunulmuştur.

Turuncgil türleri içerisinde altıntoplar (*Citrus paradisi* Macf.), turuncgillerde mutasyon ıslahının önemini anlatmak için verilebilecek en iyi örneği oluşturmaktadır. Florida'ya 1830 yılında getirilen altıntop, Florida limanı yakınlarında altıntop fidanları dikilerek 'Duncan' adı verilmiştir. Bu dikilen fidanlardan meyve eti rengi yönünden beyaz ve kırmızı ile çekirdekli ve çekirdeksiz doğal ve yapay mutasyonlar sonucu bugün ticari olarak yetiştirilen altıntoplar geliştirilmiştir. Meyveler arasında Ruby Red altıntopu, meyve etinin kırmızımsı rengiyle Teksas'ta 1929 yılında doğal mutasyonlar sonucu oluşmuş ve seçilmiş ilk mutant meyve çeşidi olarak literatüre geçmiştir (Hensz 1991; Rouse vd. 2001).

Chen (2008) son yıllarda Çin'de doğal mutasyonlar sonucu oluşmuş on üç adet süper yeni portakal çeşit seleksiyonu yaptıklarını bildirmiştir. Bunların içinde, Jincheng seedless, Jincheng late, Xinxiu, Duhongcheng seedless, Xuegang seedless, Changyecheng ve Daguo Bintangcheng olduğunu ve bütün çeşitlerin kaliteli, verimli ve hem sofralık hem de sanayiye yönelik kullanılabilme özelliği olan portakal çeşitleri olduğunu belirtmiştir.

Enio vd. (2008)'ne göre Venezuela'da yetiştirilen Valencia portakalı (*Citrus sinensis*. Osb.)'nin olgunlaşma zamanı mart ayı sonu nisan ayı başı olduğu, bu nedenle, orta ve küçük ölçekli çiftçiler portakalları fiyatların yüksek olduğu aralık ayı sonunda hasat ederek meyve suyu fabrikalarına satmaya çalıştıkları fakat meyve suyu endüstrisi tarafından erken hasat edilen portakalların kalitesinin düşük olmasından dolayı geri çevrildiği için ekonomik kayıplara neden olduğu ve üreticilerin erken dönemde olgunlaşan yeni portakal çeşitlerine ihtiyaç duyduklarını belirtilmişlerdir. Meyve suyu endüstrisi gelişmiş olan Florida'da portakallar olgunlaşmasına göre eylül-kasım ayları arasında olgunlaşanlar erkenci; aralık-ocak aylarında orta mevsimde olgunlaşan, şubat-ağustos ayları arasındakilerin geççi olarak sınıflandırıldığını ve Venezuela'da yetiştirilen portakallarda yapılan seleksiyon ıslahı çalışmaları ile altı tane erkenci portakal genotipi belirlendiği, bunların doğal mutasyonlar sonucu olduğu, bunların HA1B0503 ('Hamlin'), PA6F2422 ('Pineapple'), PA1B0708 ('Pineapple'), CM6E3602 ('Criollo Montero SS'), PB1B0606 ('Parson Brown') ve IVIA-125-3 ('Saluistiana') genotipleri olduğu Kleopatra (*Citrus reshni* Tan ex Hort) ve Sitromello Swingle (*Citrus paradisi* x *Poncirus trifoliata*) anaçları üzerine aşılardan bu genotiplerden HA1B0503 ('Hamlin'), CM6E3602 ('Criollo Montero SS') genotiplerinin verim, meyve kalitesi ve erkencilikleriyle ön plana çıktığını bildirmişlerdir.

Macarrone ve Rapisarda (2008), Tarako, Moro, Sanguinello renkli portakal çeşitlerinin meyve sularının, antosiyanin içermesi nedeni ile son yıllarda önem kazandıklarını ve bu nedenle kimyasal, teknolojik, besin içerikleri ve özelliklerinin ayrıntılı şekilde araştırıldığını belirtmişlerdir

Kan portakalları ile ilgili bir başka araştırmada ise Gusso vd. (2008), kan portakalı üretiminin, son yıllarda insan beslenmesinde antosiyanin antioksidan içeriği nedeniyle İtalya ve İtalya dışında birçok ülkede artış gösterdiğini bildirmiştir. Seleksiyon ıslahı ile 1935 yılında Caselli tarafından 10 adet renkli portakal çeşidinin belirlendiğini, bunlar arasında kolay soyulabilen Tarrako portakalı, erkenci bir çeşit olan Moro portakalı ve geççi bir çeşit olan Sanguenello portakalları ile İtalya'da renkli portakal üretimi yapıldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar kan portakallarında bu geçen sürede, çeşitlerde doğada mutasyonlar nedeniyle yeni tiplerin oluşması nedeniyle 2001 yılında tekrar bir seleksiyon ıslahı çalışması yürütüldüğünü ve 17 adet yeni klon belirlendiğini, belirlenen bu klonların olgunlaşma dönemleri, meyve kaliteleri, meyve kabuk ve meyve eti, antosiyanin içerikleri, meyve iriliği bakımından daha üstün karakterlere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Yuan vd. (2008)'ne göre, 'Jingxian' kan portakalının Çin'de Hunan eyaleti Jingxian vilayetinde bulunan tek Çin orjinli renkli portakal olduğunu Moro, Tarako, Sanguenalla gibi renkli portakallar Çin'e Akdeniz ülkelerinden 1958 götürüldüğünü, Jingxian portakalının 1974 yılında fidan mutasyonu şeklinde belirlendiğini bildirmişlerdir. Bu çeşidin ağaçlarının güçlü büyüme eğiliminde olduğu, verimli ve strese toleranslı, meyvelerinin ekim ayı sonunda olgunlaştığını, ortalama meyve ağırlığının 166.5 g, meyve kabuğu ve meyve etinin antosiyanininden dolayı koyu kırmızı renkli olduğunu bildirmişlerdir. Meyve suyu oranı yüksek, lezzetli, kuru madde miktarı % 11-14 arasında, meyvelerin uygun koşullarda birkaç ay depolanabildiğini, şubat ve nisan aylarında uygun koşullarda depolanması durumunda meyve suyu ve renginin artabileceğini belirlemişlerdir. Bununla birlikte bu çeşidin kalın kabuklu, kaba meyve suyu tulumcukları olan ve çok çekirdekli bir çeşit olduğu, daha sonraki yapılan seleksiyon çalışmasıyla dal mutasyonu şeklinde belirlenen 'Jingxian number 1' ve 'Jingxian number 7' klonlarının seleksiyonlarından daha erken olgunlaşan, meyve kabuğu ve meyve eti daha koyu renkli daha uzun süre depolanabilen kaliteli yeni çeşitler saptanmışlardır.

Anderson (2008), Arjantin turunçgil üretiminin % 48'nin limonlardan oluştuğunu ve burada 50 yıldan daha uzun bir süredir turunçgil ıslahı programı yürütüldüğünü belirtmiştir. Yürütülen bu program ile Rio'da, Santa Ana'da doğal mutasyonlar sonucu oluşmuş, çekirdeksiz Claro limonun (*Citrus limon* (L) Burm.) seleksiyon ıslahı ile seçildiğini, bu çeşidin ağaçlarının orta büyüklükte olduğunu, verimli, yılda iki defa kışın ve yazın hasat edildiğini, soğuğa hassas, meyve iç ve dış kalitesi çok iyi, orta büyüklükte, meyve suyu oranı yüksek olarak tescil edildiğini bildirmiştir.

Doğal mutasyonlar turunçgillerde yeni çeşitlerin geliştirilmesinde oldukça önemlidir. Fakat bu mutasyonların doğada görülme sıklığı oldukça düşüktür. Buna karşılık fiziksel ve kimyasal mutagenler uygulanarak yapılan yapay mutasyonlar ile genetik farklılığı sağlayan yeni mutasyonların oranı artırılabilir. Bununla beraber turunçgillerde yapay mutasyonla geliştirilmiş çok az yeni çeşit bulunmaktadır. Çünkü turunçgil bitkileri vejetatif olarak üretilmekte, gençlik kısırlığı uzun ve üretimi için geniş alanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Turunçgillerde yapay mutasyon ıslahında en fazla fiziksel

mutagenlerden gama, X-ışınları ya da termal nötron ile yapılan yapay mutasyon ıslahı yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemde başlangıç materyali olarak aşı gözleri ile tohumlar kullanılmaktadır. Turunçgillerde yapılan birçok yapay mutasyon ıslahı projesinde çekirdeksizlik ya da daha az çekirdekli, hastalıklara dayanıklılık, meyve kabuk ve etinin renginin geliştirilmesi, ağaç boyunun azaltılması ve farklı zamanlarda olgunlaşan çeşitlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir (Latado vd. 2012).

Turunçgillerde mutasyon ıslahı çalışmalarıyla mutant turunçgil genotiplerinin elde edilmesindeki en büyük engellerden birisi kimera oluşumudur. Mutasyon ıslahında sürgün ucundaki çok hücreli apikal meristem hücreleri yani tomurcuklar kullanıldığı zaman izole edilmiş bu hücrelerde mutasyon tesadüfen ve rastgele bir hücrede oluşmaktadır. Vejetatif üretilen bitkilerde kimeralardan kaçınmak için bitkiler M_1V_1 aşamasından M_1V_3 aşamasına (doku kültüründe M_1V_4) kadar üretilerek mutantların seleksiyonundan önce sektörel büyümenin sabit hale getirilmesi gerekmektedir. Tohumla çoğaltılan bitkilerde kimeralar M2, M3, M4 bireylerinde kendiliğinden yok olmaktadır (Broertjes ve Van Harten 1988).

Latado vd. (2012)'ne göre turunçgillerde yapay mutasyon ıslahı konusunda çok uzun yıllardır çalışmalar yürütüldüğü ve diğer ürünlerle turunçgiller karşılaştırıldığında yapay mutasyon ıslahı ile çok az yeni çeşit geliştirilebildiği, Uluslar Arası Atom Enerjisi tarafından (IAEA) resmi olarak çok az yeni çeşit açıklandığı bildirilmiştir.

Mutasyon ıslahında yapılan çalışmaların önemli bir kısmı çekirdeksiz genotiplerin geliştirilmesi üzerine ve turunçgil türlerinden portakal, mandarin, limon ve altıntop da yoğunlaşmıştır. Mutasyon ıslahında çekirdeksizlik ile ilgili farklı türlerde yapılan çalışmaların bazılarını aşağıda yer verilmiştir.

Turunçgillerde mutasyon ıslahı yöntemi ile yeni çeşitlerin geliştirilmesinde ilk çalışmalara 1959 yılında Teksas'ta 'Hudson' altıntopu tohumları radyasyona tabi tutularak yapılmıştır ve bugün piyasalarda aranan ve oldukça koyu renkli meyve et rengine sahip olan Star Ruby altıntopu geliştirilmiştir (Hensz 1971). Çekirdeksiz, kırmızı etli olan 'Star Ruby' altıntopu beğenilerek üretilmiştir. Fakat daha sonra 'Star Ruby' altıntopunun veriminin düşük ve değişken olması nedeniyle yeni çeşitler elde etmek için 'Star Ruby' altıntopunun aşı gözlerine termal nötron ışınları uygulanarak yapılan mutasyon ıslahı çalışmalarıyla 1984 yılında Teksas'ta 'Rio Red' altıntopu geliştirilmiştir. Bu çeşit meyve eti ve meyve kabuğu renklenmesi ile diğer renkli altıntoplara göre daha çok tercih edilmektedir (Hensz 1991).

Altıntoplarda yapılan bir başka yapay mutasyon ıslahı çalışmasında. Foster altıntopunun aşı gözlerine 3, 5, 7, 9 ve 11 krad dozlarında gama ışını uygulamış ve bu gözler sera ve fidanlıkta turunç anacı üzerine aşılanmıştır. Etkili mutagen dozu serada aşılananlar için 5 krad, fidanlıkta aşılananlar için 9 krad olarak belirlenmiştir (Hearn 1986).

Hearn (1984) tarafından Pineapple portakalı ile Duncan ve Foster altıntopu tohumları kullanarak yürütülen yapay mutasyon ıslahı araştırmasında tohumlara 10, 15, 20, 25 ve 30 krad dozlarında gama ışını uygulanmıştır. Etkili mutagen dozlarının çeşitlere göre farklı olduğu belirlenmiş ve Pineapple portakalı için 10–15, Duncan altıntop için 15, Foster altıntopu için 10 krad'dan daha düşük olduğu bulunmuştur. Radyasyon hassasiyeti

en yüksek Foster altıntopunda belirlenmiştir ve bu özelliğinin, materyaldeki yüksek nem içeriğinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Araştırma sonucunda, az sayıda çekirdek içeren mutantların yanında, çekirdeksiz mutantlar da elde edilmiştir. En yüksek çekirdeksiz mutant genotip Pineapple ve Duncan altıntopu çeşitlerinde bulunmuştur.

İsaril’de portakallarda yapılan ilk yapay mutasyon ıslahı çalışmasında Shamouti portakalının (*Citrus sinensis*) tohumlarına ve aşı gözlerine kobalt-60 kaynağından gama ışını uygulanarak radyasyon hassasiyeti belirlenmiştir. Tohumlarda etkili mutagen dozu (LD₅₀) 80-100 Gy arasında belirlenirken 125 Gy uygulama yapılan tohumların % 90’nın öldüğü, kabuğu soyulan tohumların erken çimlenmesine ve büyümesine rağmen radyasyon hassasiyetinde bir farklılık görülmediği saptanmıştır. Araştırmada, gama ışının farklı dozları küçük fidanlara ve ağaçtan kesilen aşı gözlerine olmak üzere iki farklı şekilde uygulanmıştır. Fidanlar üzerindeki tomurcuklarda etkili mutagen dozu (LD₅₀) 40-80 Gy arasında saptanırken, kesilen aşı gözlerinde 50 Gy olarak belirlenmiştir. Ayrıca 75 Gy gama ışını uygulamasında çok az bireyin yaşadığı, ağaç üzerinde yapılan ışınlama ile kesilerek alınan aşı gözlerinde yapılan uygulama yöntemlerinde önemli bir farklılık belirlenmemiştir (Spiegel-Roy ve Padova 1973).

Farklı dozlarda ışın uygulanarak Ruby Blood ve Xinhucheng portakalları ile Ponkan mandarininde yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmasında portakallarda etkili mutagen dozunun 0.5 krad, mandarinde 3 krad olarak saptanmış ve mandarinlerde polenleri kısır ve çekirdeksiz 22 adet portakal selekte edilmiştir (Zhou vd. 1998).

Çin’de Jincheng portakalında yürütülen yapay mutasyon ıslahı çalışmasında etkili mutagen dozu 80 ve 100 Gy arasında olduğu belirlenmiştir. Edilen sonuçlar göz önüne alınarak Jincheng çeşidine ait poliembriyonik tohumlara 100 Gy gama ışını uygulatarak, ışınlanmadan 15 yıl sonra Hongju 418 ve Hongju 420 olmak üzere 2 çekirdeksiz mutant saptanmıştır (Jain vd. 2000).

Mutasyon ıslahı ile portakallarda çekirdeksizlik oluşturmak için yapılan bir başka çalışmada Jincheng portakalının aşı gözlerine,⁶⁰Co kaynağını kullanarak 3000 Radyan (R), 4000 R ve 5000 R dozlarında ışınlama yapılmıştır. Araştırmada M₁V₃ aşamasında çekirdeksizliğin stabil hale geldiği ve çekirdeksizlik için en uygun dozun 4000 R olduğu saptanmıştır (Qi vd. 2008).

Tang (2008)’e göre, Hongcheng portakalı (*C. sinensis*) verimli, kaliteli bir çeşit olduğu fakat çok sayıda çekirdek içermesinden dolayı, çekirdek sayısını azaltmak için aşı gözlerine ve sürgünlere 80 Gy dozunda gama ışını uygulaması yapıldığını bildirmiştir. Araştırmada ışın uygulanan aşı gözlerinin aşılandıktan sonra % 35.5’nin, sürgünlerde ise % 67.2 sürdüğü, bu ışın uygulamalarından 41 adet az çekirdekli genotip elde edildiği ve bu genotiplerden Shaohehcheng portakalının meyve kalitesi ve az çekirdeklik özelliği ile çeşit olarak tescil edildiğini bildirmiştir.

Renkli meyvelerin antioksidan kapasitelerinden dolayı öneminin artması nedeniyle son yıllarda turuncgillerde de renkli çeşitlerde çekirdeksizlik özelliğinin yanında renk özelliğinin artırılmasına yönelik çalışmalara ağırlık verilmiştir. Yürütülen ıslah çalışmalarında mutasyon ıslahı çalışmaları önemli bir yere sahiptir. Aşağıda mutasyon ıslahı ile yürütülen bazı çalışmalara yer verilmiştir.

Russo vd. (2016) İtalya’da 2009 yılından beri renkli portakallarla ilgili yürütülen ıslah programında Tarocco Scirè D2062 ve Gallo C898 genotiplerine gama ışını uygulayarak meyve iriliği ve meyvenin ağaç üzerinde kalıcılığı iyi olan bu portakal çeşitlerinin meyve eti renklenmesinde antosiyanin oluşumunun az olması nedeniyle iyileştirilmesi için çalışmalar yapıldığı bildirilmişlerdir. Bu ıslah programında 2009-2011 yıllarında üç defa ışınlama yapıldığı, ilk yıl 20-40 Gy kullanıldığı ve 40 Gy’de bireylerin öldüğü, ikinci ve üçüncü yılda da 40 Gy kullanıldığını belirtmişlerdir. İlk gözlemlerde, meyve rengi, şekli ve sapı kalınlığında olmak üzere bazı özellikleri bakımından ebeveynlerden farklı olduğunu saptamışlardır. Bazı dejenere olmuş genotiplerde az veya hiç renklenme olmadığı Tarako GC898’in (11AF7P12 olarak kodlanmış) meyve eti ve suyu daha renkli olan bir genotip olduğunu, bu özelliklerin üç generasyon üretilmesinden sonra kalıcı olarak oluşup oluşmadığı belirlendiğini ve çeşitli çevresel şartlarda deneme yapılacağını bildirmişlerdir.

Turunçgil meyveleri içerisinde bulunan flovonoidlerin antioksidan etkisi nedeniyle insan sağlığını arttırdığı, mevcut denemeler ve epidemiologik kanıtlarla kabul edilmiştir. Bu bioaktif bileşenlerin faydalı biyolojik özellikleri, hücre canlılığı, büyümesi ve farklılaşmasında yer alan farklı sinyal yollarını düzenleyen antioksidant etkilerinden oluşmaktadır. Kan portakalları, bu sağlığı artırıcı maddelerin flavanonlar ve antosiyaninler gibi daha yüksek miktarlarda bulunması ile karakterize edilmektedir (Martinez-Nicolas vd. 2016).

Cuellar vd. (2016)’ne göre likopen birikiminin bazı turunçgil çeşitlerinde olmasına rağmen mutant pomelo, altıntop ve son zamanlarda sarı portakallarda birikmesi alışılmadık bir özellik olduğunu bildirmişlerdir. Bu fenotopik özelliğin temeli moleküler olarak açıklanamamıştır. Güney Afrika’da ıslah programıyla kırmızı renkli mutant Ruby Valencia ve Kirkwood Navel portakalları seçilmiştir. Bu mutantların, meyvelerinde ebeveynlerine göre olgunlaşma sırasında toplam karatonoid ve özellikle çok miktarda phytone ve likopen biriktiği görüldüğünü, biyokimyasal ve moleküler veriler meyve ve bitkinin sürgün dal ve gövdesinde ksilem dokuda likopen biriktiğini saptanmışlardır. Dikkate değer renklenme yaşlı dallarda ve kaliksin tabanında, meyvelerin ayrılma yerinde, vasküler iletim demetlerinde daha belirgin olarak görüldüğünü bildirmişlerdir.

Caruso vd. (2016), İtalya’da 3-4 yıldır yürütülen turunçgillerde yeni çeşitlerin geliştirilmesi programında çekirdeksiz ve renkli çeşitler elde etmeği amaçladıklarını ve bunun için seleksiyon ıslahı, melezleme, kimyasal ve fiziksel mutagenler kullanılarak mutasyon ıslah yapıldığını ve bu yöntemlerin moleküler biyoloji yöntemiyle desteklendiğini bildirmişlerdir. Moro ve Sun Red genotipleri diğerlerine göre daha koyu renk oluşturduğunu, Ruby genin moleküler olarak belirlendiğini, Tarocco Meli, Moro M45, Sanguinello 49-5-5 ve Avana apireno çeşitlerinin aşı gözlerine 40 Gy civarında gama ışını uygulatarak 2015 yılında 2000 bitkinin araziye dikildiğini bildirmişlerdir.

Sıcak tropik ve subtropikal koşullar da yetiştirilen portakal ve altıntoplarda antosiyanin birikimi olmamaktadır. Antosiyanin pigmentleri daha çok İtalya’da ve Akdeniz iklimi olan dünyadaki diğer birkaç bölgede yetişen kan portakallarında üretilmektedir. Bu portakal çeşitleri, kendilerine özgü "kan" renk özelliklerini veren antosiyaninler üretmek için meyve olgunlaşması sırasında soğuk koşullara maruz kalması gerekmektedir. Meksika laymı çeşidine kırmızı rengi veren gen aktarılarak, Meksika laymının meyve, yaprak, dal, çiçeklerinde antosiyanin biyosentezini düzenleyen iki gen

Vitis vinifera'dan klonlanan VvmybA1 ve Moro kan portakal çeşidinde klonlanan (VvmybA1) genler yapısal olarak belirlenmiştir. Günümüzde portakal ve altıntoplarda renkli çeşitlerin geliştirilmesi çalışmaları yürütülmektedir (Dutt vd. 2016).

Wang vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada Tarako (Citrus sinensis) portakalında renk pigmentinin oluşmasını sağlayan Cs6g17570, Cs5g31400 ve Cs9g04810 genleri belirlenmiştir. Bu genlerden Cs9g04810 geni hem Tarako hem de sarı renkli Washington Navel portakalında belirlenmiştir. Cs6g17570, Cs5g31400 genleri ise sadece Tarako portakalının meyve, yaprak, taç yaprağı, stigma organlarında belirlenmiştir. Bu genlerden Cs6g17570 geni tüm kan portakallarında antasiyanın seviyesi ile pozitif ilişkili olduğu belirlenmiş ve bu genin tomurcuk mutasyon olan Tarako portakalında, Cs6g17570 geni aktarılmıştır. Arabidopsis thaliana'nın transgenik fidesi ile karşılaştırıldığında daha koyu renklenme olduğu belirlenmiştir. Çalışmada bu genlerin soğuk stres uyaran genler tarafından aktive edildiği saptanmıştır.

Turunçgillerde dış ortamda yapay mutasyon ıslahı ile yeni çeşitlerin elde edilmesi çalışmalarının yanında doku kültüründe yetiştirilen turunçgil bitkilerinde fiziksel ve kimyasal mutagenler uygulanarak yeni çeşitler geliştirilmesi ile ilgili çalışmalarda yapılmaktadır. Bunlardan bazıları aşağıda verilmiştir.

Turunçgillerde ploidi manipülasyonu önemli bir konudur. Çünkü çekirdeksiz çeşitlerin geliştirilebilmesi için $2n$ olan kromozom sayılarının katlanarak $4n$ olan tetraploidlerin elde edilmesi ve bu bireylerin apomiktik olmayan $2n$ kromozomlu bireylerle melezlenmesi sonucu $3n$ kromozomlu çekirdeksiz troplid bireyler elde edilmektedir. Tetraploid bireyler turunçgillerde doğal olarak bulunmazlar bunların elde edilmesi gerekmektedir. Tetraploidleri elde etmek için kullanılan yöntemden farklı bir yöntemi belirlenmiştir. Turunçgillerde virüsten arındırmada yaygın olarak kullanılan sürgün ucu aşılama tekniğiyle tetraploid bireyler elde edilmiştir. Apomiktik genotip Clemenules, Fina ve Marisol mandarinleri ve Moncada mandarinini sürgünleri doku kültüründe Carizo sitranj anacı üzerine aşılandıktan 7-10 gün sonra % 0.1 kolhisin uygulanarak 3 yılda 3250 adet triploid genotip elde edilmiştir. Bu yöntemin en önemli avantajı elde edilen bireylerin gençlik kısırlığının olmadığı belirlenmiştir (Aleza vd 2009).

Elyazid vd. (2014)'ne göre Balady mandarinini (*Citrus reticulata* Blanco) Mısır'da yetiştirilen en önemli mandarin çeşitlerinden biridir. Fakat bu çeşidin periyodise göstermesi, meyve kabuğunun gevşek ve çok çekirdekli olması istenmeyen özellikleridir. Turunçgil sektöründe mandarinlerde çekirdeksizlik istenen bir özellik olduğu için bu çeşidin tohumlarına % 0.01, % 0.05, % 0.1, % 0.2 oranında 12, 24 ve 48 saat süreyle kolhisin uygulayarak yarı katı MS ortamına aktarıldığını, yaşayan birey sayısı dozların ve sürenin artmasıyla azaldığı en düşük yaşama oranı % 0.2 oranında ve 48 saat süreyle uygulamada belirlendiğini bildirmişlerdir. En yüksek DNA içeriği % 0.2 oranıyla 24 saat kolhisin uygulamasında saptamışlardır. Sonuçlara göre değerlendirildiğinde en yüksek tetraploid oluşumunu % 0.1 oranında kolhisinin 48 saat boyunca uygulamasından elde edildiğini bildirmişlerdir.

Taehyun ve Jinyeong (2016)'a göre, kolhisinin bitkilerde poliploidi artırmak için kullanılan bir kimyasaldır. Turunçgil ıslahında çekirdeksizliği sağlayan triploid genotiplerin oluşmasını sağlayan tetraploid bireyleri elde etmek için kolhisin

uyguladıklarını bildirmişlerdir. Diploid olan Sangdojosaeng (*Citrus unshiu*), hybrid *Citrus sagakashi* 34 gou çeşitlerinin sürgünlerine % 0.1 oranında kolhisin 30 dakika uygulandıktan sonra Üç yapraklı portakal anacı üzerine aşılandığını bildirmişlerdir. Sürgünlerde, flow sitometri ile belirlenen ploidi seviyesi sonuçlarına göre birçok sürgünün ($2x+4x$) kimera olduğu ve bazılarının da tetraploid ($4x$) olduğu, tetraploid genotiplerde diploid genotiplere göre daha geniş, kalın yapraklar ve daha az oranda stoma oluşturduğu ve daha yavaş büyüdüğü ve tetraploid genotiplerin tekrar Üç yapraklı portakal anaçları üzerine aşılandığını bildirmişlerdir. Araştırmada üçüncü yıl tekrar yapılan ploidi analizleri sonucu bu tetraploid özelliğinin korunduğu ve diploid ebeveynlere göre çiçekleri daha geniş taç yaprak, pistil, yumurtalık, stigma oluşturduğu ve yaprakları da tetraploidler gibi geniş ve kalın olduğu belirlenmiş ve bu tetraploid genotiplerin gelecekte turuncgil ıslahında çekirdeksiz ve yeni çeşitlerin geliştirilmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Dünyada turuncgillerde yapılan mutasyon ıslahı çalışmalarının büyük bir kısmı mandarinlerde çekirdeksiz yeni çeşitlerin geliştirilmesi için yapılmıştır (Davies ve Albrigo 2005). Yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda verilmiştir.

Russo vd. (1981) mandarinde yaptıkları mutasyon ıslahı çalışmalarında, Monreal mandarinini çeşidinde, her biri 4 göz içeren aşı kalemlerine 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 krad dozlarında gama ışını uygulatıldığını, bu gözlerin turunc üzerine aşıladıklarını bildirmişlerdir. Araştırmada, 8 ve 10 krad dozların uygulandığı aşı gözlerinin tamamının öldüğünü, diğer doz uygulamalarından farklı kabuk rengine sahip, küçük ve ticari anlamda çekirdeksiz meyveleri (4-5 çekirdekli) olan genotipler geliştirdiklerini, kontrol bireylerinde ise ortalama çekirdek sayısı 20 adet olarak belirlediklerini, en uygun uygulama dozunun ise 4 ile 6 krad olarak saptadıklarını bildirmişlerdir.

Hongjiangcheng mandarininde çekirdek sayısını azaltmak amacıyla yapılan mutasyon ıslah çalışmasında, sürgünlere 8 krad gama ışını uygulanmış, denemede 2-6-2 ve 1-9-22 mutant bireylerde, meyve başına ortalama 3 çekirdek bulunurken bazılarında ise hiç çekirdek bulunmamıştır. Ortalama meyve ağırlığı 122 g üzerinde, suda çözünabilir kuru madde (SÇKM) oranı % 13.0-13.5 olarak saptanmıştır (Tang vd. 1993).

İtalya-Toronto’da yaygın olarak yetiştirilen, Comune Clementine mandarininden mutasyon ıslahı çalışması sonucu, Fedele ve Grosso Puglia tipleri elde edilmiş ve olgunlaşma dönemi boyunca, mutasyon sonucu oluşmuş bu iki genotipin ebeveyn olarak kullanılan Comune Clementine mandarininden morfolojik ve kimyasal özellikler yönünden farklı olduğu belirlenmiştir (Russo vd. 2016).

Ülkemizde mandarinlerde yapılan bir çalışmada, Kafa vd. (2007) Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsünde, Klemantin, Nova ve Robinson mandarin çeşitlerinde aşı gözlerine, kobalt-60 kaynağı kullanarak 30, 50 ve 70 Gy akut gama ışını uygulaması sonucunda EMD değerini, Klemantin mandarininde 40 Gy, Nova mandarininde 35 Gy ve Robinson mandarininde 36 Gy olarak belirlemişlerdir.

Mandarinlerde mutasyon ıslahı ile yeni çeşitlerin kazandırıldığı çalışmalardan biri W. Murcott çeşidi ile yapılandır. Bu mandarin çeşidi 10-20 çekirdek içermektedir ve bu çeşidin aşı gözlerine ışın uygulanması sonucu meyve başına 1 ya da daha az çekirdek içeren Tango çeşidi ıslah edilmiştir. Çalışmada 30-80 Gy arasında değişen gama ışınları

kullanmış ve Tango mandarininin Kaliforniya koşullarında ocak ayı ortasında olgunlaştığı ve nisan ayına kadar ağaç üzerinde kalitesini kaybetmeden kaldığı belirlenmiştir (Williams ve Roose 2008a).

Mandarinlerde Amerika'da yapılan bir başka mutasyon ıslahı çalışmasında da, meyve başına ortalama 20-30 çekirdek içeren Daisy, Fairchild ve Kinnow mandarinlerinde, aşı gözlerine gama ışını uygulamasıyla meyve başına 2-3 çekirdek oluşturan Daisy SL, Fairchild SL ve Kinnow SL çeşitleri tescil edilerek turunçgil sektörüne kazandırılmıştır (Williams ve Roose 2008b).

Ortalama 25 çekirdekli olan Kinnov mandarini çeşidi, çok çekirdekli olması nedeniyle daha çok meyve suyu sanayinde kullanılmaktadır. Bu çeşitte yapılan mutasyon ıslahı çalışmasında aşı gözlerine 20 Gy dozunda ışın uygulaması ile ortalama 5 adet/meyve olan yeni genotipler elde edilmiştir (Khalil vd. 2011).

Majd vd. (2009) tarafından, İran'da Klementin mandarini çeşidinde yapılan mutasyon ıslahı çalışmasında aşı gözlerine 35, 40 ve 45 Gy dozlarında ışın uygulaması yapıldığını, M_1V_3 aşamasından sonra araziye aktarılan bireylerde gama ışını uygulamasının çekirdeksiz meyveler, erken ya da geç olgunlaşan ve soğuğa toleranslı mutant genotipler elde edilmesini sağladığını bildirmişlerdir.

Bermejo vd. (2011)'ne göre, çekirdeksizlik, taze tüketim için satılan turunçgil çeşitlerinde istenilen bir özellik olduğunu, gama ışını uygulaması ile elde edilen çekirdeksiz partenokarpik 'Moncada' mandarinin farklı klonları, çekirdeksizlik, polen çimlenmesi, meyve özellikleri ve kalite özellikleri bakımından incelendiği araştırmaya göre bazı klonların polen çimlenmesi ve çekirdeksizliğin yanında kontrol bireylerine göre farklı ağırlık, büyüklük, asitlik, olgunluk indeksi gösterdiği, biyobileşenleri farklı seviyede olduğunu belirlemişlerdir.

Mandarinlerde radyasyon hassasiyetinin belirlenmek için yapılan bir yapay mutasyon ıslahı çalışmasında 'Murcott' tangor, 'Thomas' ve 'Fremont' mandarinin tomurcuk ve epikotilleri ile 'Rangpur' laymında sadece doku kültüründe epikotiller kullanılmıştır. Araştırmada yapay mutasyon ıslahında, çeşitlerin, uygulama yapılan dokuların ve uygulama şeklinin etkilerini belirlemek için, doku kültüründe epikotiller, dışarıda tomurcuklara 0, 10, 20, 30, 40 ve 50 Gy dozlarında gama ışını uygulanarak incelenmiştir. Işın uygulamasından 60 gün sonra tomurcuklarda sürme oranı, sürgün uzunluğu, epikotillerde ise yanıt veren eksplant sayısı ve regenerasyon sayısı belirlenmiştir. Aşı gözlerinde test edilen bütün mutagen dozları sürgün boyunun azalmasına neden olmuş ve Büyüme Gerilemesinin (GR 30) 30 Gy olarak belirlenmiştir. Doku kültüründe ise sadece Murcot mandarini ve Rangpur laymında dozların artmasıyla sürgün boyu ve rejenere olan sürgün sayısı önemli derecede azaldığı ve Büyüme Gerilemesinin (GR 30) 16.2–20.7 Gy arasında olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak radyasyon hassasiyetinin (GR) çeşitlere göre değiştiği ve diğer durumlarda çok fazla farklılığın olmadığı belirlenmiştir (Gonzaga vd. 2011).

Montanola vd. (2012)'ne göre, turunçgillerde aşı gözlerine gama ışını uygulaması ile başarılı şekilde çekirdek sayısının azaltılabildiğini ve bu nedenle 2007 yılında Şili'de başlatılan turunçgil ıslahı programında limon ve mandarin çeşitlerinin aşı gözlerine gama ışını uygulatarak anaçlar üzerine aşılandığını bildirmişlerdir. Araştırmada 2009 yılında

4500 hibrit mandarin, 1200 Klementin, 1500 limon genotipinin araziye dikilerek değerlendirildiğini belirtmişlerdir. İki hasat sezonundan sonra fenotopik varyasyonlar gözlemlendiği, limonlarda 164 çekirdeksiz, 4 tane dikensiz ve süs bitkileri için bir tane kompakt yapılı genotip olduğu, mandarinlerde 316 birey az çekirdekli, 14 birey ise çekirdeksiz olarak saptandığı ve bu tekniğin turuncgil ıslahını 5 yıl kısalttığını bildirmişlerdir.

Handaji vd. (2008)'ne göre, Fas'ta INRA ile birlikte çekirdeksiz yeni turuncgil çeşitlerini geliştirmek için ışınlama programını başlattığını ve bu amaçla 'Anana', 'Vietnam', 'Kara' mandarinlerinin tohumlarına, aşı gözlerine ve fidanlarına kobalt-60 kaynağından beş farklı doz (25 Gy, 30 Gy, 50 Gy, 70 Gy, 90 Gy) uygulatarak etkili mutagen dozunun belirlendiğini bildirmişlerdir. Çalışmada radyasyon hassasiyeti bakımından çeşitler arasında farklılık görülmediği, genel olarak 90 Gy dozunda yaşayan birey sayısının azaldığı, tohumları soymanın radyasyon hassasiyeti üzerine etkili olmadığı sadece erken çimlenme ve büyümeyi sağladığı, fidanlarda etkili mutagen dozunun (LD₅₀) 70-90 Gy arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Ollitrault ve Navarro (2012)'ne göre turuncgillerde çeşit geliştirmek için mutasyon ıslahı 1935 yılından beri yoğun olarak kullanılmaktadır. Mutasyon ıslahında en çok gama ışını uygulandığı ve bu yöntemle Çok çeşitli mutasyonlara (nokta mutasyonu, kromozom kırılmaları ve yeniden düzenlemeler) neden olabileceğini bildirmişlerdir. Çekirdeksiz çeşitler elde etmek için aşı gözlerine 30-50 Gy gama ışını uygulamasını önermektedirler ve Roose ve Williams (2007), tarafından çekirdekli Murcott mandarin çeşidinin aşı gözlerine gama ışını uygulaması ile çekirdeksiz Mor mandarini elde edildiğini, Grosser vd. (2007) tarafından, hasat dönemini uzatmak, bazı meyve kalitesi özelliklerini geliştirmek ve tohum içeriğini azaltmak için Florida'da portakallarda mutasyon ıslahı çalışması yürütüldüğünü bildirmişlerdir.

Lopez vd. (2012)'ne göre, son yıllarda turuncgillerde mutasyon ıslahı ile çeşitli özellikleri olan turuncgil mutantları oluşturulduğunu ve bunların ticari olarak önemli özellikler olduğunu belirtmişlerdir. IVIA'da yetiştirilen Clementine Ougan (*C. suossima*) mandarinin, Çin'de Zhejiang bölgesinde yetiştirilen çok özel bir mandarin çeşidi olduğunu ve yaptıkları seleksiyon ıslahı çalışması ile Qing-Ougang mandarini, Ougan mandarinin doğal bir mutan olduğunu, bu çeşit olgunlaştığı zaman meyve dış kabuğu yeşil kaldığını, Qing-Ougang mandarini ağaç, yaprak, çiçek özellikleri bakımından Ougan mandariniyle aynı olduğu veya küçük farklılıklar bulunduğu, ağaçların güçlü büyüdüğü, meyveleri yuvarlak şekilli, çok verimli, çok iyi depolanabildiği, ebeveyne göre daha küçük meyveli, ortalama meyve ağırlığı 130 g ağırlığında olduğu, yenilebilir oranı % 69.9, kabuk kalınlığı daha ince (3.8 mm), toplam asit ve C vitamini bakımından farklılıklarının olmadığını belirlediklerini bildirmişlerdir.

Tang (2012), çekirdekli Luogangtiancheng (*C.sinensis*) portakalı çeşidinin sonbaharda olgunlaşmış sürgünleri alınarak kobalt-60 kaynağından 0, 40, 60, 80 Gy gama ışını uygulandığını ve Hongningmeng (*C.limonia*) anacı üzerine tek göz olarak aşılatıldığını bildirmiştir. Çalışma sonucunda dozlara göre sırasıyla hayatta kalma oranları % 90.0, % 84.0, % 73.0 ve % 57.2 olarak saptandığını, mutant adayı fidanların araziye dikilmesinden 2 yıl sonra Luogangtiancheng portakalı genotiplerinden 4 adet bireyde çekirdek sayısı 1.1 adet/meyve, kontrol bireylerinde ise çekirdek sayısı 13.5

adet/meyve olarak belirlendiğini ve az çekirdekli genotiplerde polen miktarı ve canlılığı ebeveyn bireylere göre daha az olduğunu saptanmıştır.

Agisimanto vd. (2016)'ne göre birçok farklı üründe yeni genotiplerin geliştirilmesinde, gama ışını kullanılarak yapılan yapay mutasyon ıslahı yönteminin uygulanabilir olduğu kanıtlandığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar doku kültüründe yetiştirilen Limau madu (*Citrus reticulata*) mandarin çeşidinin nusellus segmentlerinin büyümesi ve kalyus oluşumu üzerine kobalt-60 kaynağından uygulanan gama ışının farklı dozlarının etkisini incelemişlerdir. Nusellus dokularına 10, 20, 40, 60, 80, 100 ve 120 Gy dozlarında gama ışını uygulandıktan sonra ardından 500 mg L-1 malt özütü (ME) ile desteklenerek Murashige ve Skoog besi ortamında embriyonik kalyus oluşumunu izlediklerini bildirmişlerdir. Araştırma sonucunda kalyus ve ayrılabilir embryo kalyusu oluşumu gama ışının farklı dozlarından önemli derecede etkilendiğini, kontrol grubu 2. ve 3. haftada, 10, 20 ve 40 Gy dozlarında ise 3. haftada, 60 ve 80 Gy dozlarında 4. haftada, 100 ve 120 Gy 35. günde gelişme başladığını, etkili mutagen dozunun 20-40 Gy arasında olduğu, araştırmada 30 Gy olarak uygulandığı, denemede kullanılan 10 ve 20 Gy dozlarının ise diğer dozlara göre daha hızlı kallus oluşumunu ve farklılaşmasını sağladığını, erken aşamada bitkicikler kontrolle karşılaştırıldığında genetik olarak farklılıkların gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Rattanpal vd. (2019) tarafından yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmasında Kinnow (*Citrus nobilis* Lour $\times$ *C. deliciosa* Tenora) mandarinden yeni çeşitler geliştirmek için, aşı gözlerine 30 Gy dozunda gama ışını uygulatarak kaba limon anacı üzerine 400 adet aşı yaptırdıklarını ve 2009 yılında ekim ayında 188 adet M₁V₁ bitkisi araziye dikilerek 2015 ile 2018 yıllarında mutant adayı bireyleri incelediklerini, ışın uygulanmış bireylerin meyve başına çekirdek oranı 0.4 ile 30.8 arasında değiştiğini, meyvelerin % 44.3 oranı orta büyüklükte, % 46.8 oranı küçük, % 8.9 oranı büyük meyveler oluşturduğunu, meyve ağırlıkları ise 94.3 g ile 253.2 g arasında değiştiğini, ağaç boyu, ağaç tacının yayılımı, polen canlılığı ve kuru madde bakımından mutant adayı bireylerde önemli farklılıklar saptandığı, çekirdek sayısı sekizden az çekirdekli istenen özelliklere sahip bir mutantın Hindistan'ın Panjab eyaletinde 'PAU Kinnow-1' adıyla tescil edildiğini bildirmişlerdir.

Handaji vd. (2016)'ne göre mandarinlerde çekirdeksizlik önemli bir ticari özellik olduğu ve çekirdeksiz ve kaliteli yeni çeşitlerin geliştirilmesinde yaygın olarak gama ışını uygulaması ile yapay mutasyon ıslahı tekniğinin kullanıldığını bildirmişlerdir. Bu amaçla Marisol Clementine çeşidinin aşı gözlerinin bulunduğu sürgünler gama ışınıyla ışılatılarak *Citrus macrophylla* anacı üzerine aşılatılmış ve 107 klon 3x2 m dikim mesafesinde araziye dikilerek incelendiğini bildirmişlerdir. Değerlendirmeler in organoleptik ve pomolojik analiz kriterlerine göre yapıldığını belirtmişlerdir. Bütün ışın uygulanmış genotiplerde asitliği dışında, şeker içeriği, meyvede çekirdek sayısı, ortalama meyve ağırlığı, meyve suyu oranı, olgunlaşma indeksi kontrol uygulamasına göre istatistiksel olarak farklı bulunduğu ve bütün ışın uygulanan bireylerin çekirdek sayısı daha düşük (0-3 adet/meyve) olarak saptamışlardır. Araştırma sonucunda 30M57, 30M67, 50M51, 50M87, 50M91, 50M89 genotipleri, çekirdeksiz ve daha büyük çaplı bulunmuş ve aşı gözleri bulunan sürgünlere gama ışını uygulamasının, çekirdeksiz genotiplerin geliştirilmesi için uygun bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Turunçgil türleri içerisinde limonda da yoğun olarak mutasyon ıslahı çalışmaları yürütülmüştür. Villafranca limonu (*Citrus limon* L. Burm.f.) çeşidinin aşısı gözlerine 50 Gy gama ışını uygulanarak turunç anacı üzerine aşılanarak M₁V₁ bireyleri oluşturulmuş ve daha sonra kontrol ve 120 adet M₁V₂ bireyini araziye dikilerek çekirdeksizlik özelliği bakımından mutant adayları bireyler incelenmiştir. Araştırmada Villafranca limonun meyvelerinde ortalama 22 adet çekirdek bulunmuş ve seçilen mutant adayları bireyler çekirdeksiz veya 1 çekirdekli genotipler olarak belirlenmiştir (Spiegel-Roy vd. 1985).

Mutasyon ıslahında aşısı gözleri, polenler, tohumların, sürgünlerin yanında küçük meyvelere de uygulanmaktadır. Femminello Siracusano limon çeşidinde yürütülen mutasyon ıslahı çalışmasında bu çeşidin genç meyvelerine çiçeklenmeden 100-120 gün sonra 0.2-4.0 Krad gama ışını uygulanarak, tohumlardan nuseller doku izole edilmiş ve in vitroda MS ortamında kültüre alınmıştır. Meydana gelen bireyler turunç, *C. macrophylla* ve Siamelo anaçları üzerine aşılanmış ve 1980 adet bitki araziye aktarılmıştır. Çalışma sonunda yedi doğal mutasyon ve 179 ışın uygulanmış birey içinden yapılan seleksiyonda 2 adet seçkin dikensiz birey saptanmıştır. Bu bireyler Femminello Siracusano NL2Kr (FS) ve Femminello Compatto NL2Kr (FC) olarak isimlendirilmiş ve, bu iki bireyin uç kurutan (*Phoma tracheiphila*)'a bir derece dayanıklılık gösterdiği, FS yüksek verimli ve daha erkenci iken, FC compact taçlı, küçük ve kaba zeminli meyvelere sahip olduğu saptanmıştır (Starrantino vd. 1988).

Ülkemizde Gülsen vd. (2007), yapay mutasyon ıslahı yöntemiyle uçkurutana dayanıklı ve çekirdeksiz bireyler elde etmek amacıyla Kütdiken limonun, aşısı gözlerine 0, 3, 5, 7 krad dozlarında gama ışını uyguladıklarını bildirmişlerdir. Araştırmada EMD 5 krad olarak belirlendiği tekrarlı aşılamalarla M₁V₃ bitkileri elde edildiği ve bunların uçkurutana dayanıklılıkları ve çekirdek durumları incelendiği, çalışma sonucunda, Kütdiken çeşidinde uçkurutan hastalığına karşı kontrol bitkilerine göre göreceli olarak toleranlı bireyler ve çekirdeksiz tipler elde edildiğini bildirmişlerdir.

Uzun vd. (2008)'e göre, ülkemizde Ürgüp ve Göreme'de bulunan doğal soğuk hava depolarında uzun süre saklanabilen Kütdiken limonu Türkiye limon üretiminde özellikle de soğuğa tolerantlığı, verimi ile önemli bir yere sahip olduğunu fakat 7-10 çekirdeğe sahip olmasının bir dezavantaj oluşturduğunu bildirmişlerdir. Yapay mutasyon ıslahı yöntemi ile çekirdeksiz tipler elde etmek amacıyla Kütdiken limonunun aşısı gözlerine 2005 yılında gama ışını uygulanarak çekirdeksiz Alata, Gülsen, Uzun çekirdeksiz limon çeşitlerinin seçildiğini bildirmişler ve bu çeşitlerin ebeveynlerine göre meyve şekli ve kalitesi bakımından çok küçük farklılıklar gösterdiği, ancak genel özellikleri yönünden Kütdiken çeşidine benzediğini saptamışlardır.

Turunçgillerde çeşitlerle ilgili birçok araştırma olmasına rağmen çok az turunçgil anaçlarında yapay mutasyon ıslahı bulunmaktadır.

Lopez vd. (2012)'ne göre, fiziksel mutagenlerle yapılan mutasyon ıslahının ilk basamağının EMD belirlemek olduğunu ve bu amaçla *Citrus aurantium* ve *Citrus macrophylla* anaçlarının tohumlarına ve doku kültüründe aşısı gözlerine kobalt-60 kaynağından 0, 10, 20, 30, 40 ve 50 Gy dozlarında X-ışını uygulandığını bildirmişlerdir. Çalışmada çimlenme yüzdesi, sürgün büyüme oranı belirlenerek EMD'nun saptandığını, *Citrus macrophylla* aşısı gözlerinde EMD 29.5 Gy, tohumlarda EMD'nun belirlenmesinde turunç anacının (*Citrus aurantium*) çok az etkilendiği ve etkili mutagen

dozunun 155.6 Gy, *Citrus macrophylla* anacında ise 129.0 Gy olarak saptandığını bildirmişlerdir.

2.2. Fizyolojik ve Biyokimyasal Analizlerle İlgili Çalışmalar

Tuzluluk, alkalilik, kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklık, başlıca abiyotik stres faktörleridir. Mutasyon ıslahı yöntemiyle abiyotik stres faktörlerine toleranslı bireylerin geliştirilmesi çalışmalarında mutant adayı bireylerin belirlenmesinde klorofil miktarı, fotosentez oranı, terleme oranı, stoma iletkenliği, yararlı su kullanımı, serbest prolin içeriği ve bunların yanında fizyolojik parametreler, biyokimyasal ve moleküler markörler kullanılabilmektedir (Sarsu vd. 2018).

1. Yaprak oransal su içeriği

Yelenosky (1978) tarafından, yapılan çalışmada sera koşullarında saksıda yetiştirilen 18 aylık Valencia portakalı (*Citrus sinensis* (L.) Osb.) ve Star Ruby altıntop (*Citrus paradisi* Macf) fidanlarında yapraklı ve yapraksız şekilde kısıtlı su uygulamasının soğuğa toleranslılık üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda düşük sıcaklıkta (-6.1°C) 3 saat yapraksız bekletilen Valencia portakalı ve Star Ruby altıntop fidanlarının sürgünlerini ölmediği, buna karşın yaprağı koparılmamış kontrol ve su stresi uygulanan yapraklı Valencia portakalı fidanları ile Star Ruby altıntopu fidanlarının hepsinin öldüğü bildirmiştir. Sonuç olarak su kısıtlamasının soğuğa toleranslılığı arttırdığı bildirilmiştir.

Kırnak vd. (2001) tarafından yapılan çalışmada sera koşullarında, mahlep anacı üzerinde aşılı bir yaşlı dalbastı kiraz fidanlarına her gün faydalı suyun % 100 (kontrol), % 75, % 50 ve % 25'i seviyesinde su verilerek fizyolojik ve morfolojik özellikler üzerine etkisi belirlenmiştir. Kiraz fidanlarına uygulanan su stresinin, yaprak su potansiyeli, yaprak oransal nem içeriği ve klorofilin azalmasına sebep olduğu ve büyüme üzerindeki en fazla engelleyici etkisinin yaprak alanında olduğu bunu sırasıyla sürgün ve gövde çapındaki değişimlerin izlendiği, genel olarak su stresinin şiddetiyle, ölçülen fizyolojik parametreler arasında lineer bir ilişki olduğu ve bitkilerin strese kaldıkları süre uzadıkça su noksanlığının yarattığı fizyolojik ve morfolojik değişimlerin daha çok belirginleştiği bildirilmiştir.

2. Klorofil içeriği

Klorofiller, fotosentetik işlem için bitkilerde bulunan en önemli yeşil pigmentlerdir. Yüksek bitkiler, klorofil b, aksesuar pigmentleri ve birkaç ek klorofil formları içermektedir. En iyi bilinen beş ana klorofil türü arasında yer alan klorofil a ve b, en çok bakteri içeren pigmentler hariç tüm ototrofik organizmalarda bulunmaktadır. Genellikle mavimsiyesil görünen klorofil a, C₅₅H₇₂O₅N₄Mg, ampirik formülüne, sarı-yeşil görünen klorofil b, C₅₅H₇₀O₆N₄Mg ampirik formüllerine sahiptirler. Yüksek bitkilerde klorofil a ve klorofil b 2:1 oranında bir arada bulunmaktadır. Gölge bitkilerinde tipik klorofil a/b oranının yaklaşık 1.6-2.2, günlük maksimum güneş ışığına maruz kalan bitkilerde tipik klorofil a/b oranının yaklaşık 2.6-2.4 olduğu belirlenmiştir. Çeşitli yayın ve araştırmalar yüksek bitkilerde klorofil a:b oranının, yeni ışık bölgelerine uyum sağlamada, ortamdaki ışık yoğunluğunu ve miktarlarını en iyi şekilde kullanmada önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Klorofil a ve b oranı tamamen yeşil yapraklarda

yaklaşık 3 oranında sabit olduğu bildirilmiştir. Klorofiller yüksek bitkilerde fotosentezden tek başına sorumludurlar. Yapraklardaki klorofil içeriği, bitki sağlığının bir göstergesidir. Klorofil a:b oranı ayrıca bitkilerde fotosentetik cihazın gelişim durumunu da göstermektedir. Yüksek bitkilerin büyümesinde ve gelişmesinde belirleyici bir role sahiptir. Klorofil içeriği ayrıca, bitkideki fotosentez oranını belirleyen yaprağın birim alandaki fotosentetik kapasitesini de göstermektedir. Verimliliği tahmin etmenin dolaylı bir yöntemi olarak klorofil içeriğinin belirlenmesi, bitkilerin fotosentetik rejiminin de iyi bir şekilde anlaşılmasını sağlamaktadır. Klorofil içeriği yaprak gelişimi ile artmakta ve yaşlanma fenomeniyle birlikte düşmektedir. Fotosentez oranı, subtropik meyve türlerinin çiçeklenme ve meyve dallarında, meyvesi olmayan dallara kıyasla daha yüksektir. Bununla birlikte, pigment, farklı turuncgil türlerinde yaprağın renk varyasyonundan da sorumlu olabilecek bir faktördür (Gogoi ve Basumatary 2018).

Khan vd. (2007)'ne göre bitkilerin büyümesi daha çok klorofil içeriğine bağlıdır ve klorofil, karbonhidratlar gibi organik maddelerin üretimi için asıl gerekli olan pigmentlerdir. Yapraklarda bulunan klorofil içeriği ile bitkinin büyümesi arasında doğrudan bir ilişki bulunduğu ve klorofillerin fotosentezdeki yararı ve üretimi artırabilmesi daha önceden yapılan çalışmalarla kanıtlandığını bildirmişlerdir. Üç farklı turuncgil türünde, toplam klorofil içeriğinin büyüme parametreleri üzerine etkisi konusunda yaptıkları araştırmada en fazla klorofil içeriğinin Tangeloda (*C. reticulata*) (0.823 mg/g TA), en az klorofil içeriğinin limonda (*C. limon*) (0.38 mg/g YA) ve portakalın (*C. sinensis*) (0.412 mg/g TA) klorofil içeriği bakımından ise. Tangelodan sonra ikinci sırada yer aldığını saptanmışlardır.

Gogoi ve Basumatary (2018)'e göre yeşil bitkiler, farklı miktarlarda çok çeşitli birincil ve ikincil metabolitleri sentezlemektedir. Klorofiller, yaprakların ve meyvelerin özellikle olgunlaşmamış aşamada, rengini veren primer metabolitlere aittir. Klorofillerin spektral özellikleri, ışık enerjisinin toplanmasında ve fotosentez için emilen ışık enerjisinin iletilmesinde esastır. Diğer bitkiler gibi, turuncgil türlerinde yaprak renginin ve fotosentetik aktivitenin değişmesi klorofil içeriğine bağlıdır. Klorofil içeriği, bitkinin birim alandaki yaprak, stres ve beslenme eksikliklerinin fotosentetik kapasitesini belirlemektedir. Araştırmacılar Hindistan'da yedi farklı turuncgil türünde yapmış oldukları çalışmada, klorofil miktarlarının bitkilerin sağlık durumu, habitat durumu, yaprak yüzey alanı ve toprağın besinleri nedeniyle klorofil içeriğinin nicel değişimi olabildiğini ve turuncgil bitkilerinde ortalama klorofil a: b oranı 0.81:0.49 olarak saptandığını bildirmişlerdir.

Kamble vd. (2015) tarafından, Mango (*Mangifera indica*), Hibiscus (*Hibiscus rosasinensis*), Guava (*Psidium guajava*), Badem (*Prunus dulcis*), Bryophyllum (*Bryophyllum pinnatum*), Sapodilla (*Manikara zapota*), Neem (*Azadirachta indica*) Ashoka (*Polyalthia longifolia*), Ficus (*Ficus benjamina*) ve Datura (*Datura metel*) bitki türlerinde, bitkinin klorofil a ve klorofil b içeriğini belirlemeye yönelik yaptıkları araştırmada genç ve yaşlı yapraklar arasında klorofil a ve b içeriğinin kalitatif farkını, bütün koşullarda yaşlı yaprakların genç yapraklara kıyasla daha yüksek klorofil içeriğine sahip olduğunu ve yaprak yaşının klorofil içeriği için önemli bir faktör olduğunu belirlenmişlerdir.

Ling vd. (2013) tarafından, çeltik bitkisinde yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmasında, düşük dozlarda uygulanan iyon ışınının (10 ve 20 Gy) bitkilerin toplam

klorofil içeriği üzerinde etkisinin düşük olduğu, 40 Gy'nin klorofil içeriği üzerinde uyarıcı bir etkisi olduğunu saptanmıştır.

Kamble vd. (2015)'ne göre bitkilerin verimliliğini tahmin etmenin dolaylı bir yöntemi klorofil içeriğinin belirlenmesi olduğunu, bitkilerin fotosentetik rejimini anlamada iyi bir yol olduğunu, çiçeklenme evresinin başlangıcında, birkaç buğday çeşidinde en üstündeki internodunda klorofil ve karotenoid içeriğinin, fizyolojik incelemeler yaptıklarını bildirmişlerdir. Araştırmada test edilen buğday çeşitleri beş gübreleme varyantında büyütüldüğü, her koşulda klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil (Klf a + b) içeriğinin ölçüldüğünü ve karotenoid içeriğinin belirlendiğini bildirilmişlerdir. Araştırma sonucunda klorofil ve karotenoid içeriğinin döllenme varyantına olan bağımlılığının tespit edildiği, klorofil ve karotenoid içeriğinin, substrattaki mineral elementlerin varlığına ve oranına bağlı olduğu, döllenme için N ve P gübreleme varyantının en uygun olduğunu saptamışlardır.

Bojovic ve Stojanovic (2005) tarafından, buğday çeşitlerinde klorofil ve karotenoid içeriğinin, substrattaki mineral elementlerin varlığına ve bitki fizyolojik ve çevresel faktörlerine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

3. Yapraklarda toplam çözünebilir protein konsantrasyonu

Ling vd. (2008)'ne göre, gama ışını sağlık ve bitki ıslahında yaygın olarak kullanılan fiziksel bir mutagendir. Portakallarda yaptıkları yapay mutasyon ıslahı çalışmasında doku kültüründe yetiştirilen bitkiciklere 0, 10, 20, 30, 40 ve 50 Gy gama ışını uyguladıklarını ve fizyolojik değişiklikleri incelendiklerini, portakalda etkili mutagen dozunun 27 Gy olduğunu, en yüksek çözünebilir protein içeriğinin 21.03 ± 1.82 mg/g TA olarak belirlendiğini 10 Gy gama ışını uygulaması yapılan bitkilerde protein miktarının 14.49 ± 4.04 mg/g YA olarak belirlendiğini, en yüksek peroksidaz aktivitesinin 50 Gy saptandığını buna karşılık klorofil içeriğinin ışın uygulanmamış bitkilerde uygulanan bitkilere göre daha yüksek seviyede belirlendiğini bunun yanında hem ışın uygulanan hem de uygulanmayan bireylerde klorofil a miktarının klorofil b den daha yüksek olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca bitki hücresinin en önemli işlevinin, savunma mekanizmaları geliştirerek gama stresine cevap vermek olduğunu, bu savunmanın gen ekspresyonu modelinde değişiklik yaparak gerçekleştirildiğini ve genel olarak radyasyon, polipeptid zincirlerinin kovalent bağlarının kırılmasıyla moleküler düzeyde protein zincirinde geri dönüşü olmayan değişikliklere neden olduğunu saptadıklarını bildirmişlerdir.

Ling vd. (2013) tarafından, çeltikte yapılan yapay mutasyon ıslahı araştırmasında, düşük dozdaki (10 Gy) iyon ışınının, bitki boyunu artırdığı, kök uzunluğu ve taze ağırlığı üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olduğu ancak yaprak sayısı üzerinde etkili olmadığını saptadıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmada 10 Gy'den yüksek dozların, kontrol bireylerine kıyasla incelenen tüm morfolojik parametrelerde azalmaya neden olduğu, en yüksek toplam çözünebilir protein içeriğinin 20 Gy ışınlanmış bitkilerde (2.11 ± 0.47 mg/g TA) gözlemlendiği, ışınlanmış bitkilerinin kontrol bireylerine kıyasla % 0.85 ile % 58.32 daha yüksek spesifik peroksidaz aktivitesine sahip olduğu, bu çalışma ile aynı zamanda düşük dozdaki iyon ışınının (10 ve 20 Gy) çeltik bitkilerinin toplam klorofil içeriği üzerine etkisinin düşük olduğu ve 40 Gy'nin klorofil içeriği üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olduğu, 40 ila 120 Gy arasında ışınlanan bitkicilerin, toplam çözünebilir azot

içeriğinde % 0.38 ile % 9.98 daha yüksek olduğu, ancak kontrol bireylerine göre önemli ölçüde fark olmadığını saptadıklarını bildirmişlerdir.

Bagher vd. (2014)'ne göre gama ışınları, maddeyi iyonlaştırmak için yeterli enerjiye sahip olduğunu, bu nedenle canlı hücrelere zarar verebileceğini, hücrede veya dokuda oluşan zararın, uygulanan bitki tür ve çeşidine, gama ışının uygulama şekline bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar tarafından fıstıkta yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışması ile 1.3M olan kobalt-60 radyasyon kaynağının ADC genini tahrip ettiğini saptadıklarını bildirmişlerdir. Ayrıca bu geni moleküler çalışmalar ile belirleyerek daha sonra bitkilere aktarma yaptıktan sonra çimlenme ve yaşama yüzdeleri, büyüme özellikleri ve morfolojik varyasyonları üzerindeki etkilerini incelemek için kullanmak üzere izole ettiklerini bildirmişlerdir.

Van Heck vd. (2015)'ne göre bitkiler karadan ve havadan farklı radyasyonlara maruz kalmaktadırlar. Bu radyasyonların biyolojik etkileri ve radyasyondan etkileşimi konusu henüz ortaya konmadığını ve daha çok akut gama radyasyonu konusunda çalışmalar yapıldığını ve radyasyonun bitkilerin büyüme, gelişme ve oksidatif enzimler üzerine olan etkilerini araştırmak amacı ile *Lemna minor* bitkilerine ¹³⁷C gama kaynağından düşük dozda (0.08 mGy/s-4.95 mGy/s) ve yüksek dozda (27-500 mGy/h) 7 gün boyunca kronik gama radyasyonu uyguladıklarını bildirmişlerdir. Araştırma bulgularına göre düşük dozlarda, L. minor bitkileri çevresel amaca uygun maruz bırakılma şartlarında hayatta kalabilse de, yüksek doz oranlarında büyümeye bağlı engelleme aşağı yukarı 27 mGy/saat'ten başladığı, % 10 büyüme engelleme yaprak alanı için Etkili Mutagen Dozu oranı (EMD10), 95 ± 7 mGy/saat, taze ağırlık için 153 ± 13 mGy /saat ve yaprak sayısı için 169 ± 12 mGy/saat olarak hesaplandığını bildirmişlerdir. Yaklaşık 5 mGy/saat doz oranına kadar, antioksidatif enzimler ve metabolitler bitkilerde etkilenmeden kaldığı, kataliz enzim aktivitelerinde belirgin değişim 27 mGy/h başladığı ve doz arttıkça bu enzimlerin arttığı en yüksek dozda olduğunu bulmuşlardır.

Hanafy Ahmed vd. (2011) tarafından *Ambrosia maritima* L. bitkisinde 0, 20, 40 ve 80 Gy dozlarında gama ışınları uygulayarak yaptığı mutasyon ıslahı çalışması sonucunda ışın uygulanmış bitkilerin normal ve tuzlu toprak koşullarında bitki gelişiminin arttırdığını, yaprak sayısı bakımından ise ilk yıl 20 ve 80 Gy ışın uygulanan bitkilerin yaprak sayısının diğerlerine göre fazla olduğu, ikinci yıl ise genel olarak bütün ışın uygulanan bitkilerin kontrol bitkilerine göre yaprak sayısının fazla olduğunu dolayısıyla bu durumun ürün miktarını arttırdığını, 40 ve 80 Gy ışın uygulanmış bitkilerin her iki sezon da taze ve kuru ağırlığı kontrol bireylerine göre artırdığı, ışın uygulanmış bitkilerde toplam şeker, çözünebilir fenollerin arttığı, 10 ve 20 Gy ışın uygulanan bitkilerde toplam klorofil, klorofil a ve klorofil b miktarının arttığı, 25 Gy gama ışını uygulanmış bitkilerde tuzluluk stresinden sonra azot fiksasyonunun arttığı bildirilmiştir. Ayrıca bitkilerde gama ışını uygulaması, ışınlama seviyesine bağlı olarak bitki morfolojisini, anatomisini, biyokimya ve bitki fizyolojisini farklı şekilde etkilediği, bu etkilerin bitki hücresel yapısındaki değişiklikleri ve metabolizma, membranların seyretilmesi, fotosentezde değişiklik, antioksidan sistemin modülasyonu ve fenolik bileşiklerin birikimi içerdiğini bildirmişlerdir.

2.2.4. Membran geçirgenliği

Genel olarak düşük sıcaklıklar hücre içi organellerin bütünlüğünün bozulmasına, fotosentezin, klorofil pigmentlerinin, protein düzeneğinin azalmasına ve genel metabolik işlemlerin azalmasına neden olmaktadır. Düşük sıcaklık stresi süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit, hidroksil ve tek oksijen gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna yol açabilmekte ve abiyotik stres durumunda ROS türlerinin üretimi ve antioksidan enzim aktivitesi artmaktadır. Metabolik işlemler sırasında kloroplasta üretilen ROS, proteinler, pigmentler, membran, lipitler ve nükleik asitler gibi hücresel bileşenleri tahrip etmektedir. Düşük sıcaklıkta turuncgil meyvelerinin antioksidan kapasitelerinin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca düşük sıcaklıklarda hücre membran bütünlüğünde kayıplara, üşüme, membran ve aktif oksijen radikal üretiminde artış ile yaprak hasarı ve elektrolit sızıntısına neden olmaktadır (Chen vd. 2006).

Hozman (2016)'na göre enzim ve proteinlerin birçoğu membranlarda yerleşik halde bulunmaktadır. Bitki dokularının membran sistemi sınırlarındaki tüm hücreler fizyolojik olayların normal olarak devam ettirilmesinde önemli rol oynamaktadır ve bu nedenle, membranlardaki değişim normal fizyolojik sürecin değişimine ve kayıplara neden olmaktadır. Elektrolit sızıntısının membran zararlanması nedeniyle hücre meydana gelen sitoplazma kayıpları olduğunu ve çevre stresinin neden olduğu membran geçirgenliği değişiminin tanımlanmasında kullanıldığını bildirmiştir.

Soğuğa aklime olmuş bitkilerde şeker birikimi, signal molekülünde ve dokuların korunmasında osmo regülasyonda rol almaktadır. Bitkilerde 24 ile 48 saat içinde çözünebilir şeker seviyesinin arttığı belirlenmiştir. Glikoz, früktoz, sukroz gibi şeker birikimi soğuk aklimasyonunda membran proteinlerinin stabilizasyonu için önerilmektedir. Bu hücre solüsyonun donma derecesini düşürerek membranların soğuk zararından korunmasını sağlamaktadır (Tripathy vd. 2011).

Rafie Rad vd. (2017)'ne göre turuncgiller tropik ve soğuk stresine hassas subtropik meyveler olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca düşük sıcaklıkların bitkilerin büyüme, gelişimini ve dağılımını sınırlayan çevresel faktörlerden biri olduğunu, tropik ve subtropik meyveler içerisinde yer alan turuncgillerin soğuğa hassas, bitkiler içerisinde yer aldığını ve bitkide düşük sıcaklık stresine tepki veren ilk yerin hücre zarı olduğunu bildirmişlerdir.

5. Prolin konsantrasyonu

Bitkilerin dona dayanımında genetik faktörlerin yanı sıra birçok içsel faktörlerde rol oynamaktadır. Düşük sıcaklık derecelerine dayanım kazanma sürecinde bitkilerde çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin olduğu uzun süreden beri bilinmektedir. Bu konu üzerinde yapılan çalışmaların önemli bir kısmı prolin analizi üzerinde yoğunlaşmış ve çalışmalarda prolin seviyesi ile soğuklara dayanıklılık arasında bir korelasyon saptanmıştır. Birçok bitki türü soğuk stresine karşı prolin biriktirmektedir. Mısır, patates, domates, buğday bitkilerinde endojen prolin birikimiyle soğuğa toleranslılık arasında pozitif bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Prolinin bitkinin strese karşı multiple rol oynadığı, prolinin görevleri, protein ve membranların, osmotik stresle ilgili genlerin, ROS enzimlerinin temizlenmesi ile ilgili düzenlenmelerin yapılmasıdır (Tripathy vd. 2011).

Düşük sıcaklıklarda turunçgil yapraklarındaki prolin birikimi, farklı turunçgil anaçları üzerine aşıllı olan Valencia portakalı, Star Ruby altıntopu fidanlarında -2.2°C belirlenmiştir. Denemede bütün çeşitlerin yapraklarında soğuk testlemesinden önce prolin seviyesi çeşide ve anaçlara göre farklılık gösterdiği en fazla prolin seviyesinin Valencia portakalında olduğu görülmüştür. Soğuk testlemesi aşamasında en fazla prolin birikiminin genç yapraklara göre daha çok yaşlı yapraklarda olduğu, üç yapraklı portakal anacı üzerine aşıllı olan Valencia portakalı yapraklarında biriktiği belirlenmiştir (Yelenosky, 1979)

Kebeish vd. (2015) tarafından, 10 ila 150 Gy arasında değişen gama ışınlarına maruz bırakılan sarımsak (*Allium sativum* L.), bitkisinin büyümesi, morfolojik, varyasyon, biyokimyasal ve moleküler özellikler üzerindeki etkilerini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada, prolin analizlerinin sonuçları γ -radyasyonun sarımsak bitkisindeki prolin biyosentetik oranlarını olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. γ -radyasyon, neredeyse tüm -radyasyon dozlarında *Allium sativum*'da prolin birikimini önemli ölçüde arttırdığı, düşük 20 Gy-radyasyon dozuna maruz kalan bitkilerde, toplam prolin içeriğinde indüksiyon göstermiş, daha yüksek gama radyasyonu dozu (yani, 70 Gy), kontrol bitkilerine kıyasla, toplam prolin içeriğinde önemli bir artışa neden olduğu bildirilmiştir. Maksimum prolin içeriği, toplam prolin içeriği azaldıktan sonra 70 Gy gama uygulamasında saptanmıştır. 120 Gy radyasyon dozu, toplam prolin içeriğinde bir artış göstermiş, ancak kontrol bitkilerinden daha yüksek olduğu ifade edilmiştir. Araştırmacılar sarımsak hücrelerinde prolin içeriğinin yükselmesinin gama radyasyonunun stresi indüklediğini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Wang vd. (2017) tarafından, arpa bitkisinde yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmasında gama ışını uygulamasının, hücre çoğalması, çimlenme, hücre büyümesi, enzim aktivitesi ve verim gibi olumlu etkileri saptanmıştır. Yüksek dozlarda gama ışını uygulaması radyasyon hormesis olarak adlandırılan engelleyici etkilere neden olmaktadır. Ayrıca yakın zaman da bazı araştırmacıların düşük doz gama ışını uygulamasının soğuk, kuraklık, su, ısı, ağır metal gibi abiotik stres koşullarına toleranslılığı arttırdığının belirlendiğini bildirmişlerdir.

Vieira vd. (2016)' e göre turunçgillerde kromozom katlanması doğal olarak oluşmakta ve somatik embriyolar ile tetraploit bitkilerin olumsuz çevre koşullarına daha iyi adapte olmaktadır. Moleküler düzeyde olumsuz stres koşullarına adaptasyonu belirlemek için diploit ve tetraploit Volkamer limonu (*Citrus limonia* Osb.) fidanlarına su stresi uygulandıktan 24 saat sonra fotosentez oranı, stoma iletkenliği, prolin konsantrasyonu, melondialdehit konsantrasyonu ve uçucu organik bileşiklerin incelendiğini ve stres koşullarında fotosentez ve stoma iletkenliği oranının düştüğü, bu düşüşün tetraploitlerde daha az olduğu, prolin konsantrasyonunun strese bağlı olarak yükseldiği fakat diploit ve tetraploit bitkilerde arasında farkın çok önemli olmadığı, melondialdehit konsantrasyonu diploitlerde daha yüksek seviyede olduğu, uçucu yağların kontrolden farklı olduğunu bildirilmişlerdir.

2.3. Düşük Sıcaklık ve Yapay Don Testleriyle İlgili Çalışmalar

Düşük sıcaklıklar genellikle bitkinin büyümesini ve ürün kayıplarına neden olarak verimini olumsuz etkilemektedir. Bitkiler, üşüme (0-15°C) ve donma (<0°C) sıcaklıklarına toleransları bakımından farklılık göstermektedirler. Tropikal bölgelerden

gelen bitkiler donma noktasının üzerindeki düşük sıcaklıklardan zarar görebilirken ılıman bölgelerden gelen birçok odunsu bitki -30°C 'de yaşayabilmektedir. Özellikle, bu bitkiler soğuk aklimasyon ile donma toleranslarını artırabilmektedir. Sonbaharda, bu bitkiler, gün uzunluğu ve sıcaklıkların azalmasıyla düşük sıcaklıklara maruz kalmalarıyla değişen çevre koşullarına cevap olarak soğuğa uyum sağlamaktadırlar (Gray vd. 1997; Yadav 2010).

Birçok bitki, soğuk aklimasyon olarak bilinen bir işlemle düşük sıcaklıklara toleranslarını arttırabilmektedir. Belirli çevresel uyarılarla indüklenen bu işlem, bir bitkinin önceden ölümcül olan sıcaklıklara dayanmasını sağlamaktadır. Soğuk aklimasyon süreci, birçok genin koordineli ifadesiyle kontrol edilmekte ve bitkide birçok biyokimyasal ve fizyolojik değişikliğe yol açmaktadır. Bitkilerde meydana gelen hücresel ve metabolik değişiklikler, lipid bileşimindeki değişiklikleri, şekerlerde ve çözünür proteinlerdeki artışları ve yeni protein izoformlarının görünümünü içermektedir (Gusta vd. 2003).

Bitki türleri doğal yapılarındaki farklılıktan dolayı dondurucu sıcaklıklara karşı çok farklı tepki göstermektedirler ve yıl boyunca gösterdikleri tepkide farklı olmaktadır. Bitkilerin soğuğa dayanım geliştirme yeteneği onların yıllık fizyolojik işlemlerinin ritmine, iklim ritmine ve toprak nem miktarına bağlıdır. Yıllık fizyolojik olaylar döngüsü gelişme dinlenme ve dormansiden oluşmaktadır. Bitkilerin dondurucu sıcaklıklara dayanma yeteneği dinlenme veya dormanside daha fazla olmaktadır. Bu özelliklerini ılık havalarda ve ilkbahardan sonra uzun fotoperiyodik dönemde hızlıca kaybetmektedirler. Dormansiden hemen sonra ilkbaharda ani dondurucu soğuklar önemli zararlara neden olmaktadır. Bunun sonucu olarak ağaçlar meyvesini dökmektedir. Mevcut bilgiler, hücrede üşüme zararının doğrudan düşük sıcaklıklarla ilişkili olduğunu donma zararının ise dehidrasyon ve buz oluşumu yoluyla hücrelere zarar vermesi nedeniyle dolaylı olarak etki ettiğini göstermektedir (Pearce 1999; Anonymous 3).

Düşük sıcaklıklarda bitkilerde hücre dışı buz kütlelerinin birikmesi, potansiyel olarak hücre katmanlarının ayrılması ve boşlukların oluşumu ile fiziksel hasara yol açabilmekte ve hatta hücreler arası buz oluşumu öldürücü bir olay olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, buz oluşumunun hücre dışı alanlara sınırlandırılması donma toleransı mekanizmalarından biridir. Buz kristalleri aynı sıcaklıktaki sıvı sudan daha düşük bir kimyasal potansiyele sahiptir. Sonuç olarak, buz kristallerinin büyümesi, hücrelerin suyunu çekerek hücresel dehidrasyona neden olmaktadır. Hücre içi sıvının çözünen konsantrasyonu ve donma sıcaklığı, dehidrasyon derecesini belirlemektedir. Sıcaklık düştükçe buzun su potansiyeli de düşmekte ve böylece, hücresel dehidrasyon sıcaklık azaldıkça giderek kötüleşmektedir (Gusso vd. 2008).

Turunçgiller tropik ve soğuk stresine hassas subtropik meyveler içerisinde yer almaktadır. Düşük sıcaklıklar bitkilerin büyüme, gelişimi ve dağılımını sınırlayan çevresel faktörlerden biridir. Turunçgiller don zararına hassastırlar. Düşük sıcaklık stresine tepki veren ilk yer hücre zarlarıdır. Genel olarak, üşüme, membran bütünlüğünde kayıpla sonuçlanmakta ve aktif oksijen radikal üretiminde artış ile yaprak hasarı ve iyon sızıntısına neden olmaktadır. Düşük sıcaklıklar hücre içi organellerin bütünlüğünün bozulmasına, fotosentezin, klorofil pigmentlerinin, protein düzenine azalmasına ve genel metabolik işlemlerin azalmasına neden olmaktadır. Düşük sıcaklık stresi süperoksit radikalleri, hidrojen peroksit, hidroksil ve tek oksijen gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS)

oluşumuna yol açabilmekte ve abiyotik stres durumunda ROS türlerinin üretiminin ve antioksidan enzim aktivitesini arttırmaktadır. Metabolik işlemler sırasında kloroplastta üretilen ROS, proteinler, pigmentler, membran, lipidler ve nükleik asitler gibi hücrel bileşenleri tahrip edebilmektedir. Düşük sıcaklıklarda turuncu meyvelerinin antioksidan kapasitelerini arttırdığı belirlenmiştir (Chen vd. 2006; Rafie Rad vd. 2017).

Bitkiler düşük sıcaklıklara maruz kaldıklarında protein ürünlerinde ve gen ekspresyonundaki değişiklikler ile cevap vermektedir. Bu bitkilerin adaptasyon yeteneğidir ve onun hayatta kalma ve yeryüzüne dağılımı üzerinde etkilidir. Tropik ve subtropik kökenli birçok tür dondurucu olmayan düşük sıcaklıklarda zarar görmekte veya ölmektedir. Düşük sıcaklıklarda bitkiler büyümede gerileme, nekroz, kloroz gibi çeşitli üşüme zararı belirtileri göstermekle beraber üşümeye toleranlı bitkiler düşük sıcaklıklarda yaşayabilmektedir. Donma kaynaklı hücrel dehidratasyonun neden olduğu yaralanma birçok “çözelti etkisi” içermesine rağmen, birincil yaralanma bölgesinin yaygın olarak plazma zarı olduğu düşünülmektedir. Membran destabilizasyonu, çözünen maddelerin membran ile doğrudan etkileşimi veya suyun plazma membran yüzeyinden uzaklaştırılmasıyla sonuçlanabilmektedir. Donma sıcaklığı ve hücrel dehidratasyonun ciddiyeti, özel membran hasarı tipini belirlemektedir. “Genleşme kaynaklı lizis”, ozmotik büzülme döngüsü ve donma ve çözülme ile oluşan genleşme döngüsünden dolayı nispeten yüksek donma sıcaklıklarında (-2°C ile -4°C) baskın yaralanmalar olmaktadır (Saamin ve Thompson 1978).

Meyve ağaçlarının organlarının düşük sıcaklıklara toleranslılık dereceleri de farklıdır. Tomurcuklar düşük sıcaklıklardan en fazla etkilenen organlardır. Tomurcukların çiçek açmaya başladıkları dönemler en hassas dönemleridir. Çiçek tomurcuklarının içinde bulunduğu dönem düşük sıcaklıklara toleransı etkilemektedir. Bu tamamen bitkinin içerisindeki metabolik olayların değişiminden kaynaklanmaktadır. Örneğin, dinlenme halindeki hücrelerde şeker oranının ve proteinlerin artışı hücre içindeki buz oluşumunu azaltarak dona dayanıklılığı arttırmaktadır (Küden vd. 1998).

Donma toleransı bitkilerin coğrafi dağılımında önemli bir faktördür ve bitkilerin veriminde çok güçlü bir etkiye sahiptir. Birçok bitki soğuk aklimasyonu olarak adlandırılan düşük sıcaklıklar döneminde, dona karşı toleranslılığını arttırmaktadırlar. Soğuk aklimasyonu doğal bir olaydır ve bunu anlamak için *Arabidopsis thaliana* bitkisinde moleküler olarak bu olayı araştırmışlardır. Fakat iyon sızıntı yöntemiyle yapılan don testleri gibi günümüzde kullanılan standart yöntemler çok zahmetlidir ve bu nedenle büyük ölçekli tarama amaçları için kolayca uygulanamayacağını bildirilmiştir (Ehlert vd. 2008).

Arabidopsis C24 ve Tenela bitkisinde, soğuğa toleranslılık belirlemek için yapılan çalışmada, bitkilerin % 50 zararlanmanın meydana geldiği (LT₅₀) değerini belirlemek için koparılmış yapraklarda iyon sızıntı ve klorofil floresans görüntüleme yöntemleri kullanılmıştır. Deneme düşük sıcaklıklara aklimize olmuş ve olmamış bitkilerde yapılmıştır. Her iki yöntemde de soğuğa alıştırmış ve alıştırmamış bitkilerin LT₅₀ değerleri arasında farklar belirlenmiştir. Bununla beraber iyon sızıntı yönteminde LT₅₀ değerleri klorofil floresansa göre daha yüksek seviyede belirlenmiştir. Fakat iyon sızıntı yöntemiyle yapılan düşük sıcaklık testlerinin büyük ve kitlesel denemeler için kullanımının zor olduğu ve klorofil floresansın ucuz ve uygulamasının kolay olduğu belirtilmiştir (Ehlert 2008).

Bu güne kadar turunçgil tür ve çeşitlerinde düşük sıcaklıklar çok önemli olduğundan soğuğa toleranslılık konusunda özellikle yetiştiricilik koşullarında hassasiyetlerinin belirlenmesinde birçok araştırma yapılmıştır. Soğuğa toleranslı anaçların ve çeşitlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar oldukça sınırlı düzeyde yapılmıştır. Bu çalışmalardan melezleme ıslahı ile ilgili çalışmalarda yeni anaçların geliştirilmesi ile ilgili başarılı sonuçlar alınmıştır.

1897 yılında Amerika'da soğuğa toleranslı portakallar geliştirmek amacıyla *Poncirus trifoliata* ana ebeveyn olarak kullanılarak portakallar ile melezlenmiştir. Melezleme sonunda birçok nüseller embriyoniden oluşan bitkiler olduğu görülmüştür. Melezleme çalışması sonucunda 1913 yılında elde edilen 11 hibrit bireylerin ise yapraklarının çarpıcı şekilde farklı olduğu, ebeveynlerine benzemediği görülmüştür. Bunlardan bazıları 'Morton' çok geniş, yuvarlak, yumuşak meyveler oluştururken 'Colman' hibriti eğri küremsi, sarı renkli, pürüzlü meyveler oluşturduğu, 'Willits' geniş parmaklı meyveler, 'Rustic' genellikle yapışık meyveler, 'Phelps' çok acı meyveler 'Saunders' küçük meyveler oluşturmuştur (Anonymous 3).

Limonlar ile soğuğa daha toleranslı Üç yapraklı portakal anacı arasında yapılan çalışmalarda ise ebeveynlerinden çok yapraklı hibritler oluşmuştur. Bunların % 20 daha çok yapraklı, hatta şekilsiz, sıra dışı, kısa sürede ölen yapraklar oluşturduğu görülmüştür (Anonymous 1948).

Genel olarak turunçgil türleri orta derecede soğuğa hassas olarak kabul edilmektedir. Hatta en çok ve en yaygın şekilde yetiştirilen turunçgil türü portakallar (*C. sinensis*), tam olarak aklimasyonu sağlandığında yapraklar -6.7°C'ye dayanabilirken yakın akrabası olan üç yapraklı portakal (*Poncirus trifoliata* (L). RUTACEA) -20°C'ye dayanabildiği saptanmıştır. Soğuk toleranstaki bu geniş değişime rağmen, altta yatan moleküler temel bilinmemektedir. Üç yapraklı portakal ve altıntopda soğuk aklimasyonu takiben RNA türlerinde değişiklikler olduğunu ve bu iki türün melezlenmesi sonucu soğuğa dayanımı artıran dizilimi temsil eden özel cDNA'ların, üç yapraklı portakal anacından klonlanmış olduğunu belirlenmiştir. Moleküler haritalar, turunçgillerdeki soğuk dayanımda farklılıklar olduğunu göstermektedir. *Citrus grandis* × *Poncirus trifoliata* F₁ popülasyonunun kantitatif özellik lokus (QTL) haritası, *Poncirus*'ta bulunan ve soğuk tolerans seviyesi üzerinde büyük etkisi olan bir ana QTL veya QTL grubunun bulunduğunu göstermiştir (Champ 2004).

Turunçgillerde büyüme, gelişme ve verim genetik yapı ve iklim faktörlerine bağlıdır. İklim faktörlerinden düşük sıcaklıklar büyüme ve gelişme ile verim ve kalitede büyük kayıplara neden olmaktadır. Turunçgillerde düşük sıcaklığın şiddetine göre; gövdede çatlamalara, yapraklarda kıvrılma ve koyulaşmaya bağlı olarak yağlı bir görünüm almalarına neden olmakta ve akabinde yapraklar dökülerek ileri aşamada ağaçların ölümüne neden olmaktadır. Meyvelerde ise kabukta beneklenme, dokularda parçalanma (limonlarda meyve içi boşalmakta ve bitki kaynar suya sokulmuş gibi görünüm alma), meyve suyunda çekilme, usare tulumcuklarında patlama ve şeker oranında düşme meydana gelmektedir. Bunlara ilave olarak ağaçlarda soğuk etkisiyle oluşan kabuk çatlamaları, yarık ve yaralar hastalık etmenleri için birer giriş kapısı oluşturmaktadır (Yelenosky 1975).

Turunçgillerin yeryüzüne dağılımını belirleyen en önemli faktör düşük sıcaklıklar olmuştur. Yüzden fazla ülkede ticari olarak üretilen turunçgiller, dünya genelinde multi-milyar dolarlık bir endüstriye sahiptir. Turunçgil yetiştiriciliği, öncelikle 40° kuzey ve 40° güney enlemleri arasındaki bölge ile sınırlı kalmaktadır. Dondurucu sıcaklıklar üretimi etkileyen ana faktör olmaya devam etmektedir. ABD'deki en büyük turunçgil üreticisi Florida'daki bir dizi şiddetli donma, sanayiye büyük ölçüde yeniden şekillendirdiği ve üretimi, esas olarak devletin güney kısımlarıyla sınırlandırdı. Ayrıca, periyodik donmalar, diğer ülkelerde Japonya ve İspanya'da ekonomik kayıplara ve turunçgil üretimini tehdit etmektedir (Champ 2004; Ebel vd. 2008).

Tarih boyunca turunçgil üretimini düşük sıcaklıklar etkilemiştir ve bu konuda çalışmalar yapılmıştır. Webber (1948) tarafından turunçgillerde ciddi don zararı olmadan sürdürülebilir minimum sıcaklıkların büyük ölçüde değiştiği ve ağaçların durumu, türü, çeşidi, soğuk dönem süresinin ve çeşitli iklim faktörleri, soğuk direnci etkilediği belirtilmiştir (Praloran 1964).

Genel olarak Robert (1947) tarafından soğuğa dayanıma ait limitler aşağıda bildirilmiştir (Praloran 1964).

- 11°C'de ağaç tamamen ölmekte
- 9°C'de ağaç tacı ölmekte
- 3°C'de yapraklar zarar görmekte
- 2°C'de sıcaklık tehlikeli olabilmekte

Turunçgil yetiştiriciliği yapılan ülkelerde zaman zaman don zararı meydana gelmiştir ve bu turunçgillerin doğal olarak soğuğa toleranslıklarının değerlendirilmesini sağlamıştır. Kaliforniya'da 3 Ocak 1924'te - 9°C dereceden düşük bir sıcaklık görüldüğünü, turunçgil yapraklarının % 10 dökülmesinden başka bir hasara neden olmadığı, Korsika'da -7°C turunçgillerin zarar görmediği, Cooper ve Peynaldo, (1959) tarafından Kaliforniya'da -6.6°C, 9°C'de, sadece yapraklarda ve meyvelerde zarar görüldüğü, Dean (1953) tarafından, Florida'da - 4.4°C sadece meyvelerin donduğu, yine Florida'da -6.6 ile -7.70°C'de meyvelerin donduğu, ciddi yaprak dökülmelerine ve genç dalların kurumasına neden olduğu, Samish ve. Cohen (1952), İsrail'de -6°C'ye ulaşan sıcaklıklarda yalnızca meyve zararı olduğunu ve Vassiliev (1954) tarafından, Sovyet Gürcistan'da turunçgillerin % 86.6'sının -9.5°C' ye adapte edildiğini bildirmiştir (Praloran 1964).

Düşük sıcaklıklara dayanım turunçgil türlerine göre değişmektedir. Webber (1948)'e göre türlerin soğuğa dayanımı hassastan dayanıklılığa doğru aşağıdaki şekilde sıralanmıştır (Praloran 1964).

- 1- *Citrus medica*
- 2- *Citrus aurantifolia*
- 3- *Citrus lemon*

- 4- *Citrus paradisi* ve *Citrus grandis*
- 5- *Citrus sinensis*
- 6- *Citrus aurantium*
- 7- *Citrus reticulata*
- 8- Kamkat (*Citrus margarita* ve *F. Japonica*)
- 9- *Poncirus trifoliata*

Tkatchenko (1954)'e göre turunçgil türlerinin azalan şekilde soğuğa dayanımı aşağıdaki şekilde yapılmıştır (Praloran 1964).

- | | |
|-------------------------------|--------------------------------|
| 1- <i>Poncirus trifoliata</i> | 8- <i>Citrus sinensis</i> l |
| 2- <i>Citrus ichangensis</i> | 9- <i>Citrus grandis</i> |
| 3- <i>Satsuma mandarina</i> | 10- <i>Pomelo</i> |
| 4- <i>Kleopatra Mandarin</i> | 11- <i>Citrus lemon</i> |
| 5- <i>Kamkat</i> | 12- <i>Citrus reticulata</i> |
| 6- <i>Citrus junos</i> | 13- <i>Citrus aurantifolia</i> |
| 7- <i>Citrus aurantium</i> | 14- <i>Citrus medica</i> |

Nesterenko (1955)'e göre ağaçlarının tamamen öldüğü sıcaklık dereceleri aşağıdaki gibi sıralanmıştır (Praloran 1964).

- 8°C'de limon ağacı
- 9°C'de portakal ağacı
- 12°C'de mandarin ağacı

Klimenko (1952) tarafından ise turunçgillerin soğuğa dayanımı azalan şekilde aşağıdaki şekilde yapıldığı bildirilmiştir (Praloran 1964).

- 1) Yuzu (*Citrus junos*)
- 2) *Satsuma mandarina*
- 3) Altıntop
- 4) Portakal
- 5) Limon

Horanic ve Gardner (1958)'e göre ise soğuğa karşı direnç derecesinin aşağıdaki gibi bildirilmiştir (Praloran 1964).

- 1) Üç yapraklı portakalı
- 2) Turunç
- 3) Kleopatra Mandarin
- 4) Portakal
- 5) Kaba limon

Turunçgil çeşitlerinde soğuğa dayanımının farklı olduğu belirlenmiştir ve McCown (1958) tarafında portakalların soğuğa dayanımı azalan şekilde aşağıdaki gibi sıralanmıştır (Praloran 1964).

- 1) Yafa
- 2) Florida Sweet Seedling
- 3) Valencia late
- 4) Parson Brown
- 5) Hamlin
- 6) Pineapple

Ruggieri (1959)'a göre Sicilya'da yaşanan soğuk zararından sonra 2 yaşında portakal ağaçlarında belirlenen ölüm oranları aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır (Praloran 1964).

Moro	% 64.5
Sanguinella M	% 55.5
Washington Navel	% 50.8
Sanguinella Moscato Cuscuna	% 27.5
Sanguinella Moscato SGG	% 21.5
Sanguinella Moscato M . R .	% 12.7
Sanguinella S. P .	% 7.2
Tarocco a Scossa	% 6.3
Sanguinella Moscato SGG	% 3.1

Sanguinella SP % 1.4

Horanic ve Gardner (1958)'e göre 41 adet anacın -4.4°C ile -6.6°C'de ağaçların ölüm oranları belirlenmiştir (1'den 8'e kadar ağaçların zararlanma dereceleri) (Praloran 1964).

Turunç	3.48
Sampson Tanjelo	3.75
Savage sitranjı	4.54
Hamlin portakalı	4.91
Kleopatra mandarini	5.08
Dancy mandarini	5.32
Rangpur laymı	6.03
Kaba limon	6.80

Turunçgil bitkisinin soğuktan etkilenen bir diğer organı yapraklardır. Turunçgil yaprakları meyvelere göre daha yüksek bir dirence sahiptir. Webber ve Peynaldo (1958) tarafından turunçgil ağaçları ile yapılan düşük sıcaklık denemesinde -5.5°C düşürülerek 3 saat tutulan bitkilerde yaprakların donma eşiğinin -3.9°C olduğu belirlenmiştir (Praloran 1964).

Hendershott (1962) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise yaprakların zarar gördüğü sıcaklıklar ve yüzde zararlanma oranları belirlenmiş ve aşağıdaki şekilde verilmiştir (Praloran 1964).

-4.4°C ile -5.0°C	% 1
-5.5°C	% 5
-6.1°C ile - 6.6°C	% 50-70
-6.6°C ve üzeri	% 100

Cooper (1952) tarafından, yapraklarda zararlanma oranını belirlemeye yönelik çalışmada -3.9°C'de % 5 zararlanma oranı belirlenirken, Dean (1953) tarafından yapılan çalışmada -6.1°C'lik sıcaklık derecesinde % 52 yaprakların zarar gördüğü, Nesterenko (1960) tarafından yapılan çalışmada ise

Limon ağaçları için -5°C ile -6°C,

Portakal ağaçları için -6°C ile -7°C,

Mandarinler için -7°C ile -8°C don zararının olduğu belirlenmiştir (Praloran 1964).

Turunçgil bitkisinin düşük sıcaklıklardan gövdesinin etkilenmesi gövdenin kalınlığına bağlıdır. Cooper ve A. Peynaldo 1959 yaptıkları çalışmada 3 saat boyunca -6.1 ° C tutulan bitkilerin 6 mm çapındaki gövdelerinin tamamen öldüğü, -7.2°C’de 5 cm çapında gövdenin çatlayarak zarar gördüğü saptanmıştır. Dean (1953) tarafından yaptığı çalışmalarda 7 saat 0°C’nin altında ve -4.4°C’de 1 saat tutulan bitkilerin gövdelerinin donduğu ve kabukların parçalandığı, dalların zarar gördüğü saptanmıştır. Korsika adasında 1962-1963 yıllarında 48 saat 0 ve -1°C’nin altında ve -6°C ‘de 5 saat düşük sıcaklıklar olması sonucu turunçgil bitkilerinin yaprakları %1-30 arasında yaprak dökümü ve sürgünlerde ölümler meydana gelmiştir (Praloran 1964).

Cown (1957) tarafından Valencia portakal çeşidinin turunç anacı üzerine aşıl原因an bitkilerin kaba limon üzerine aşıl原因an bitkilere göre soğuklara daha dirençli olduğunu saptamıştır. Pomelolarda soğuğa dayanımda kırmızı etli olanların beyaz etli olan çeşitlere göre daha hassas olduğu, en toleranlı 'Changsha mandarini ' ve 'Dancy mandarini ', limonlarda ise 'Meyer' ve 'Gül-Gül' çeşitleri, satsuma mandarini klonları arasında 'Unshiu Satsuma' çeşidi olduğu belirlenmiştir (Praloran 1964).

Fawcett (1929) tarafından bildirilen tohumların çimlenme oranı ve kök büyümesi 12.2°C'nin altındaki sıcaklıklarda, Cooper’a göre sürgün büyümesi 12.7°C’de ve kambiyum büyümesi sadece 7.2°C’de sıcaklıklarda durduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, dal büyümesinin oluşmadığı sıcaklık, tam dinlenmesin başladığı sıcaklık olmadığı, bu nedenle sadece bitkisel dinlenme eşiğinin 12.7°C olduğu saptanmıştır (Praloran 1964).

Florida’da görülen 1894-1895’teki şiddetli donlardan sonra üç yapraklı portakalı anacının dona dayanımını portakallara aktarmak amacıyla W.S. Swingle tarafından 1897’de melezleme çalışmaları başlatılmıştır. Bu melezleme ıslahı çalışmaları sonucu Rusk, Morton, Savage, Benton, C-35, Carrizo ve Troyer gibi pek çok sitranj anacı, portakal ile *Poncirus trifoliata* arasında yapılan melezlemeler sonucu elde edilmiştir (Davies ve Albrigo 2005).

Citrus macrophylla Wester (Alemov), *Citrus celebica* ve *Citrus grandis*’in melez bir türü olduğu düşünülmektedir. Morfolojik ve genetik olarak limon ve laymlara benzemektedir. Çoğu yetiştirme şartları altında, *Citrus macrophylla* üzerine aşıl原因an çeşitler diğer limon tipi anaçlar üzerine aşıl原因anlara benzer olarak büyük, kuvvetli ve yüksek verimli ağaçlar oluşturduğu görülmüştür (Davies ve Albrigo 2005).

Anaç ıslahı çalışmalarına karşılık yeni çeşitlerin geliştirilmesine yönelik melezleme ıslahı çalışmalarında F₁’de meydana gelen açılmalar, nuseller embriyonu ve kendileme depresyonundan dolayı elde edilen meyve özellikleri ticari nitelik taşımadığından dolayı üretime kazandırılamamıştır.

Turunçgillerde mutasyon ıslahı ile elde edilmiş tiplerde soğuklara dayanıklılığın tespiti ile ilgili çalışmalara rastlanmamakla birlikte, yetiştiricilikle ilgili farklı turunçgil türlerinde soğuklara dayanıklılık konusunda yapılan bazı çalışmalar aşağıda yer verilmiştir.

Young vd. (1960) tarafından yapılan 4 farklı turunçgil anacı üzerine aşılı Red Blush altıntopu, turunç, Troyer sitranj, *Citrus macrophylla* ve Rangpur laym çeşitleri aşılı

olan fidanlarda deneme yürüttüğünü bildirmişlerdir. 'Sunki' mandarin Columbian 'Sweet' Citrus', Citrus 'Ben' Citrange, 'Savage', *Poncirus trifoliata* ve Kleopatra mandarinini (*Citrus reshni* Tan. var "Kleopatra") üzerine aşılantmış; Valencia late portakalı ise Rangpur laymı ve Kleopatra mandarinini üzerine aşılantmıştır. Meksika laymı ve satsuma mandarinini Savage sitranjı, *Poncirus trifoliata*, turunç, Kleopatra mandarinini ve Meksika laymı üzerine aşılantmış fidanlar sıcaklık -5°C'ye düşürölerek fidanlar 4 saat bekletilmiştir. Satsuma mandarinini anaçları yapraklarında çok az zararlanma olurken Meksika laymı yapraklarında daha fazla zararlanma olduğu belirlenmiştir. Altıntoplar için soğuşa karşı en iyi anacın turunç en iyi direnci gösterirken onu Kleopatra mandarinini, Savage sitranjı ve *Poncirus trifoliata* izlediğini bildirmiştir. Valencia late portakalında en iyi soğuşa dirençli anaç Rangpur laymı olduğu saptanmıştır. Portakal ve pomelonun Kaba limon üzerine aşılantıldığında turunçlardan daha fazla soğuşa duyarlı olduğu gözlemlenmiştir. Kleopatra mandarinini üzerine aşılantanan portakal ağaçları, soğuk havaya daha dayanıklı olduğu ve özellikle *Poncirus trifoliata* ve portakal ağaçlarının soğuk direncini artıran birkaç sitranj olduğu belirlenmiştir. Red Blush altıntopunun Rangpur laymı üzerinde % 35 zarar gördüğü kaba limon üzerinde % 100 zarar gördüğü belirlenmiştir (Praloran 1964).

Young (1969) sera içerisinde ve açıkta yetiştirilen turunçgillere -3.9°C ve -6.1°C düşük sıcaklıklar uygulandığında, yalancı satsuma melezi (False Satsuma Hybrit) ile Nagami kamkatının bu sıcaklıklara en dayanıklı, Lizbon limonu, Meksika laymı, Kalamondin ve Rangpur laymının en duyarlı olarak bulunduğunu ve Duncan ile Red Blush altıntopları, Parson Brown, Pineapple ve Hamlin portakalları, Orlando tanjelosu ve Dancy mandarininin ara grubu oluşturduğu bildirmiştir.

Ketchie (1969) tarafından yapılan soğuşa tolerantlık çalışmasında 6 hafta süreyle gündüz 19°C, gece 2°C sıcaklıkta yetiştirilerek düşük sıcaklıklara aklimasyonu sağlanan değişik turunçgil bitkilerinin -9.5°C düşük sıcaklıkta 4 saat bırakıldıktan sonra yapılan değerlendirmeler sonucunda, Rubidoux üç yapraklısının en dayanıklı, Soh-Siem mandarininin en duyarlı, Taiwanica, Sauvage turuncu ve Carrizo sitranjının, Rubidoux üç yapraklısı ile Soh-Siem mandarinini arasında yer aldığı saptanmıştır.

Farklı turunçgil anaçları gündüz 15.6°C, gece 4.4°C sıcaklıkta ortalama 2 hafta süreyle yetiştirildikten sonra, bunlar -6.7°C sıcaklıkta 4 saat bırakılmıştır. Anaçlar arasında, üç yapraklı ve üç yapraklı Pineapple melezi hiçbir zararlanma göstermemiştir. Citradia % 1-2; Citrumelo, Rusk sitranjı, Pineapple % 6-12; Citremon ve turunç % 23-29; Pineapple portakalı ve Duncan altıntopu % 48-58; Kaba limon % 91 oranlarında zararlanmıştır. Bu zararlanmalar daha çok gövde ve dallarda olmuştur (Young 1969).

Yedi turunçgil anacı ile yapılan çalışmada, soğuklara dayanıklılık bakımından, duyarlıdan dayanıklılığa doğru, Kaba limon, Duncan altıntopu, Orlando tanjelosu, Valencia portakalı, Rusk ve Carrizo sitranjları ve üç yapraklı portakalı biçiminde sıralandığı görölmüştür (Yelenosky 1971).

ABD'de Georgia eyaletinde kış koşullarında arka arkaya 3 gece sırasıyla -8.9°C, -16.1°C ve -7.8°C düzeyinde oluşan düşük sıcaklıklardan sonra değişik anaçların etkileri incelenmiştir ve bu koşullarda Changsa, Shekwasha ve Kleopatra mandarinlerinin % 95

ve % 100 ölüm oranlarıyla en duyarlı; 37 değişik üç yapraklı portakal tipinin ise % 0 ölüm oranıyla dayanıklı oldukları saptanmıştır (Yelenosky 1975).

Yelenosky (1978) tarafından yapılan soğuğa toleranslılıkla ilgili bir başka çalışmada ise sera koşullarında saksıda yetiştirilen 18 aylık Valencia portakalı (*Citrus sinensis* (L.) Osb.) ve Star Ruby altıntop (*C. paradisi* Macf) fidanlarında yapraklı ve yapraksız şekilde kısıtlı su uygulamasının soğuğa toleranslılık üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda düşük sıcaklıkta (-6.1°C) 3 saat yapraksız bekletilen Valencia portakalı ve Star Ruby altıntop fidanlarının odunlarının ölmediği, buna karşın yaprağı koparılmamış kontrol ve su stresi uygulanan yapraklı Valencia portakalı fidanları ile Star Ruby altıntopu fidanlarının hepsinin öldüğünü bildirmiştir. Sonuç olarak su kısıtlamasının soğuğa toleransı arttırdığını bulmuştur.

Yelenosky (1978) ABD’de Florida’da 1977 yılında 3 gece arka arkaya meydana gelen -6.1°C, -4.4°C ve -6.7°C düzeyindeki düşük sıcaklıkların, değişik turuncgil anaçları üzerine aşılı 2,5 yaşındaki Pineapple portakallarında etkilerini belirlemişlerdir. CPS-61-182-6 melezi ve Rubidoux üç yapraklısında % 43-57; Carrizo (2N), Carizo (4N), Morton sitranjları ile Citrangor’da % 81-83, PeeWee melez sitranjında % 93, Valencia portakalında % 100 oranlarında bir zararlanma oluştuğunu saptamıştır.

Bitkilerin dona dayanımında genetik faktörlerin yanı sıra birçok içsel faktörlerde rol oynamaktadır. Düşük sıcaklık derecelerine dayanım kazanma sürecinde bitkilerde çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin olduğu uzun süreden beri bilinmektedir. Bu konu üzerinde yapılan çalışmaların önemli bir kısmı prolin analizi üzerinde yoğunlaşmış ve çalışmalarda prolin seviyesi ile soğuklara dayanıklılık arasında bir korelasyon saptanmıştır. Bu konuda yapılan çalışmaların bazılarını aşağıda yer verilmiştir.

Düşük sıcaklıklarda turuncgil yapraklarındaki prolin birikimi, farklı turuncgil anaçları üzerine aşılı olan Valencia portakalı, Star Ruby altıntopu fidanlarında -2.2°C belirlenmiştir. Denemede bütün çeşitlerin yapraklarında soğuk testlemesinden önce prolin seviyesi çeşide ve anaçlara göre farklılık gösterdiği en fazla prolin seviyesinin Valencia portakalında olduğu görülmüştür. Soğuk testlemesi aşamasında en fazla prolin birikiminin genç yapraklara göre daha çok yaşlı yapraklarda olduğu, üç yapraklı portakal anacı üzerine aşılı olan Valencia portakalı yapraklarında biriktiği belirlenmiştir (Yelenosky 1979).

Rouse vd. (1990) tarafından, 1989 yılında 24-25 Aralık ayında -4.4°C’ye düşen sıcaklıkta, araziye 6 ve 8 ay önce dikilen turuncgil fidanlarında farklı seviyede soğuk zararı oluştuğunu belirlemişlerdir. Star Ruby altıntopu, Falglo turuncgil hibridi en çok zarar gören turuncgil çeşitleri olduğunu, Rohde Red Valencia klonu olan 472-11-42 en az zarar gören çeşit olduğunu bildirmiştir. Turuncgil anaçlarından Kleopatra mandarini, F-80-18 sitromelo anaçları üzerine aşılanan diğer anaçlara göre daha çok zarar gördüğü ve Smoot Flat Seville, 1573-26 (*P.trifoliata* × *Pineapple orange*) turuncgil hibridi en az zarar gördüğü bildirilmiştir.

Portakal ve altıntop fidanlarında su stresinin düşük sıcaklıklara toleranslılığı artırdığı görülürken, doku analizlerinde yaprakların susuzluğa zorlandığında prolin miktarının arttığı belirlenmiştir (Yelenosky 1979).

Sera koşullarında soğuğa toleranslılık ile ilgili bir başka çalışmada, bir yaşında üç yapraklı portakalı ve soğuğa hassas ağaç kavunu üzerine aşılı Valencia portakal fidanları kontrollü şartlarda -6.7°C de 4 saat süresince soğuğa maruz bırakılmışlardır. Daha sonra bitkiler sera ortamına alınmış ve sera ortamında 5 hafta süresince gözleme tabi tutulmuştur. Beş haftanın sonunda, dayanıksız fidanların soğuk zararında hayatını devam ettiremediği, bitkilerin bazılarının ise yapraklarının döküldüğü gözlenmiştir. Araştırmada ayrıca bitkilerde karbonhidrat ve prolin seviyesi de kontrol edilmiştir. Karbonhidrat ve prolin seviyesi yüksek olan bitkilerde, su içeriğinin daha düşük olduğu belirlenmiştir (Yelenoskoy1992).

Turunçgil türleri çok yıllık herdem yeşil bitkiler olup 6-20 yıl gibi çok uzun gençlik kısırlığı vardır. Subtropik iklimlerde olgun ağaçların meyve verebilmesi için düşük sıcaklık, su stresi gibi dışarıdan uyarıcı etkilere ihtiyacı bulunmaktadır. Çiçek oluşumu için kışın kısa günler etkilidir. Satsuma mandarinin çiçeklenebilmesi için 15°C 1.5 ay veya 20°C 2 ay geçmesi çiçeklenme için yeterli olmaktadır. Yapılan fizyoloji çalışmalarında kontrollü şartlarda portakallarda (*Citrus sinensis* L. Osbeck), laymlarda (*Citrus aurantifolia* (Christm.) ve Satsuma mandarininde (*Citrus unshiu* Marc.) düşük sıcaklıkların çiçeklenmeyi teşvik ettiği belirlenmiştir. Düşük sıcaklık uygulamalarında satsuma mandarininde çiçeklenme döneminde gövde ve yapraklarda içsel absisik asitinin seviyesinin arttığı belirlenmiştir. Düşük sıcaklık derecelerinin yapraklarda ABA sentezini arttırdığı ve gövdede absisik asit seviyesi yapraklara göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Bunun da nedeninin, yapraklarda sentezlenen ABA hızlı bir şekilde iletim dokularına aktarılmasıdır. Birçok çalışmada ksilem ve floem yoluyla ABA taşındığı belirlenmiştir (Endo vd. 2017).

İyon sızıntısı yöntemiyle dünyada ve ülkemizde çeşitli bitki türlerinde düşük sıcaklıklara toleranslılık çalışmaları yürütülmektedir. Fakat bu yöntemin uygulamasının zorluğu ve maliyetli olması nedeniyle turunçgillerde çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır.

Türkiye’de turunçgillerde soğuğa toleranslılık konusunda, turunçgil anaçları ile Prof. Dr. Önder Tuzcu Hoca, Fransa Ulusal Tarım Araştırma Kurumunda (INRA)’da kontrollü iklim odalarında düşük sıcaklıklarda test etmiştir. Denemede -5°C ve -10°C düşük sıcaklıklarda 5 saat bitkileri beklettikten sonra iyon sızıntı yöntemiyle soğuğa toleranslılıklarını belirlemiştir (Tuzcu 1979).

Cansev (2008) tarafından ‘Gemlik’ zeytin çeşidinin düşük sıcaklıklara toleransı belirlemek için bir yıllık sürgünlerde ve yapraklarda iki yıl süresince aylık periyotlar halinde yapay düşük sıcaklık testleri (4°C , -5°C , -10°C ve -20°C) uygulanmıştır. Araştırma sonucunda Gemlik zeytin çeşidinin yaprak ve kabuk dokuları tüm aylar itibariyle 4°C ve -5°C uygulamalarında düşük oranda zararlanma gösterdiği, fakat mevsimlere bağlı olarak -10°C ’den itibaren % 50 zararlanma oranının üzerinde değerler tespit edildiği. aylar itibariyle, -10°C ve -20°C uygulamalarında yaprak ve kabuk dokularında en düşük zararlanma oranları kış aylarında; en yüksek zararlanma oranları ise, yaz aylarında belirlendiği, LT_{50} değerleri de benzer olarak, hava sıcaklıklarının düşmeye başladığı sonbaharda artış göstererek kış ortasında en yüksek noktaya ulaştığı, takiben hava sıcaklıklarının tekrar yükselmeye başladığı bahar aylarından itibaren dereceli olarak azalarak yaz ortasında en düşük seviyeye ulaştığı, zeytin bitkisinin düşük sıcaklıklara aklimasyon yeteneği ile karbonhidrat, protein ve antioksidan enzim

metabolizmalarını içeren kompleks mekanizmalar sayesinde hücre membran dayanıklılığını arttırarak düşük sıcaklıklara önemli derecede dayanım kazandığını bildirmiştir.

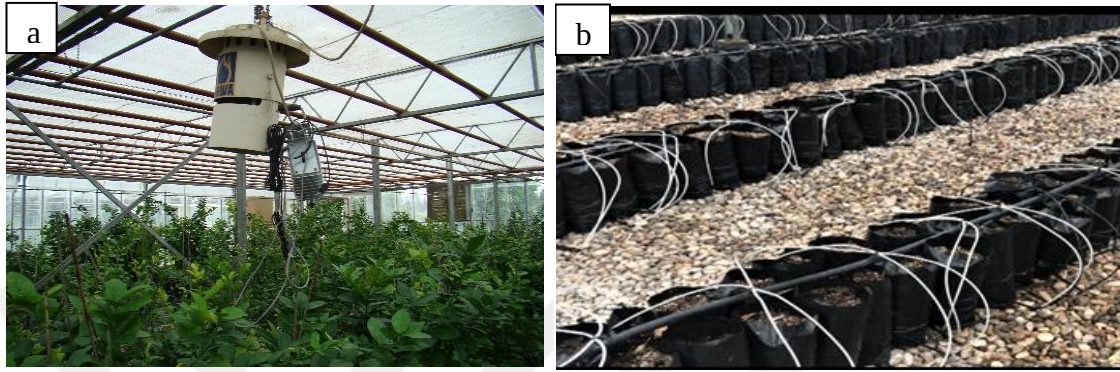
Mete vd. (2016) tarafından iyon sızıntısı yöntemiyle kasım, ocak ve mart aylarında Türkiye Zeytin Arazi Gen Bankası'nda bulunan Ayvalık, Domat, Çilli, Erkence, Gemlik, Memeli, Memecik, Otur, Eşek zeytini (Ödemiş) ve Uslu zeytin çeşitlerinin don toleransları belirlenmiştir. Araştırmada çeşitlere ait yaprak örneklerinde -2, -5, -8, -11, -14, -17 ve -20 °C'de yapay don testleri yapılmıştır. Araştırma bulgularına göre, kontrol grubuna göre tüm dönemler için -2 °C ve -5 °C arasında bir farklılık görülmemiştir. Genellikle düşük sıcaklık derecelerine ilk tepkiyi tüm dönemlerde Uslu çeşidinin ve her üç dönemde de Uslu çeşidi don toleransı en az olan çeşit olarak saptandığı. Memeli ve Otur çeşitleri ise don mukavemeti en yüksek çeşitler olarak belirlendiği, çeşitlerin don toleransının ocak ayında önemli bir artış gösterdiği ancak bu durumun tüm çeşitlerde aynı oranda belirlenmediği bildirilmiştir.

Gusta vd. (2003)'ne göre 1932 yılında Dexter vd. tarafından geliştirilen iyon sızıntı yöntemiyle yapılan don testleri ile canlılık ve büyüme arasında ilişkilendirme konusunda çok az çalışma yapıldığını bildirmişlerdir. Son yıllarda bu yöntemin tekrar ön plana çıktığını, kontrol bitkileri ile transgenik bitkiler arasında % 10 gibi bir farklılığın belirlenmesinin çok önemli olduğunu, dokularda daha önce termometre veya ısı ölçer bir aletle bu kadar ayrıntılı bir ölçüm yapılamadığını ve gelecekte hücresel düzeyde donmayı görselleştirebilmeyi ümit ettiklerini bildirmişlerdir.

Bitkilerin soğuğa dayanıklılığı ve soğuk stresi ile ilgili çok fazla araştırma olmasına rağmen dayanıklılık mekanizması henüz tam olarak açıklanamamaktadır. Turunçgillerde soğuğa toleranslılık konusunda bugüne kadar yapılan araziyeleki araştırmaların çok fazla işçilik ve masraf gerektirdiği, ayrıca iklim ve hava koşullarının ayarlanamadığı görülmüştür. Laboratuvarı kontrolü koşullarda yapılan düşük sıcaklığa toleranslılık araştırmalarında, düşük sıcaklıklarda bitkilerin yapraklarını dökmesi ya da gövde oluşan çatlamalar ile soğuğa toleranslılıkları belirlenebilmiştir. Fakat bu yöntemin dezavantajı turunçgillerde üç yapraklı portakalı ve melezlerinin kışın yapraklarını dökmesinden dolayı yaprağın dökülmesi soğuğa toleranslılığın belirlenmesinde geçerli uygun bir ölçüm olmadığı görülmüştür (Albrigo 2012). Bu nedenle soğuğa toleranslılığın belirlenmesinde özellikle ıslah çalışmalarına büyük hız ve kolaylık sağlayabileceği düşünülen fiziko-kimyasal bir yöntem olan iyon sızıntısı yönteminin mutant bireylerin belirlenmesinde ve soğuğa dayanıklılık çalışmalarında daha güvenilir bir yöntem olduğu bildirilmiştir. Ayrıca soğuğa toleranslılığın belirlenmesine yönelik yapılan laboratuvar ve sera çalışmaları yanında turunçgillerde prolin miktarı ile soğuğa toleranslılık arasında pozitif bir ilişki olduğu saptanmıştır (Kushad ve Yelenosky 1987).

3. MATERYAL VE METOT

Bu araştırma 2014-2018 yılları arasında, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM) Meyvecilik Bölümü'nde bulunan cam seralarda yürütülmüştür. Bu seralar beşik çatılı, 4.5 m yüksekliğinde, 300 m² büyüklüğünde, çift havalandırmalı, soğutma fan pedli, alüminyum ısı perdeli (% 55'lik alüminyum), gübreleme ünitesi ve damlama sulama sistemine (ahtapot kollu ok damlatıcılı) sahiptir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kullanılan cam seraya ait görünüm; **a)** sera; **b)** turunçgil fidanlarının sulandığı damlatıcı başlıklar

3.1. Materyal

Bu çalışmanın bitkisel materyalini, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü 'Türkiye Turunçgil Genetik Kaynakları' koleksiyonundan temin edilen ve Çizelge 3.1'de adları belirtilen 4 turunçgil tür ve çeşidi oluşturmuştur.

Çizelge 3.1. Mutasyon ıslahı çalışmasında kullanılan genotipler

Tür ve Çeşit Adları	Ulusal Gen Kaynakları Kodu	Latince Adları
Yerli Turunç	TUR0200114	<i>Citrus aurantium</i> (L.)Yerli
Moro Portakalı	TUR0201330	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck
Interdonato Limonu	TUR0200521	<i>Citrus limon</i> (L)
Meksika Laymı	TUR0200102	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swing

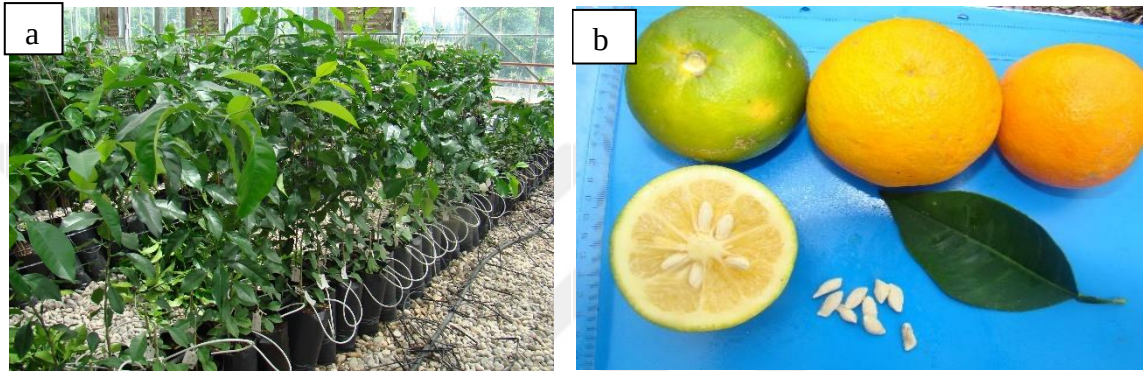
3.1.1. Deneme de kullanılan turunçgil türleri

Yerli Turunç (*Citrus aurantium* (L.) Yerli)

Yerli turunç anacı TKG 0114 (BATEM 360) kod ile Türkiye Turunçgil Genetik Kaynaklarında kayıtlıdır. Bu anacın Kaliforniya ve Akdeniz ülkelerinde anac olarak kullanımı yaygındır. Ağaçları herdem yeşil, oval, yayvan büyüme eğiliminde, ortalama 4 m yüksekliğinde, taç yapısı orta sıklıkta, az dikenli, yaprakları uzun oval, iki parçalı ve

kanatçıklıdır. Nisan ayında çiçeklenen Yerli turuncun meyveleri, kasım ayında olgunlaşmaktadır. Meyveleri basık küremsi şeklinde, ortalama 190 g olan, kabuğu pürüzlü, meyve eti sarı, ortalama 29 çekirdekli ve poliembryonik özelliktedir. Yaklaşık % 85 nüseller embriyo meydana getirmesi nedeniyle, homojen fidan oluşturmaktadır (Şekil 3.2). Bu anaç üzerine aşılı çeşitler, orta kuvvet gelişme göstermektedir. Yüksek toprak pH'sına orta derecede dayanım gösterdiği için ağır, drenajı zayıf topraklarda yaygın olarak kullanılmaktadır.

Cüceleşme, gözenek virüs hastalığı ve kök boğazı çürüklüğüne toleranttır. Buna karşı tristeza (göçüren) ve uçkurutan hastalıklarına duyarlıdır (Özcan ve Ulubelde 1984; Tuzcu vd. 2013).



Şekil 3.2. Yerli turunç fidanlarına ait görünüm; **a)** Yerli turunç fidanları; **b)** meyve

Moro Kan portakalı (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck)

Kan portakalları grubunda yer alan Moro portakalı, 1962 yılında ülkemize İtalya'dan getirilmiştir ve Türkiye Turunçgil Genetik Kaynaklarında TGK1330 (BATEM 30) kodu ile kayıtlıdır. Kan portakalları arasında, dünyada en fazla yetiştirilen, en erkenci, değişik ekolojik koşullara en iyi uyum gösteren bir çeşittir.

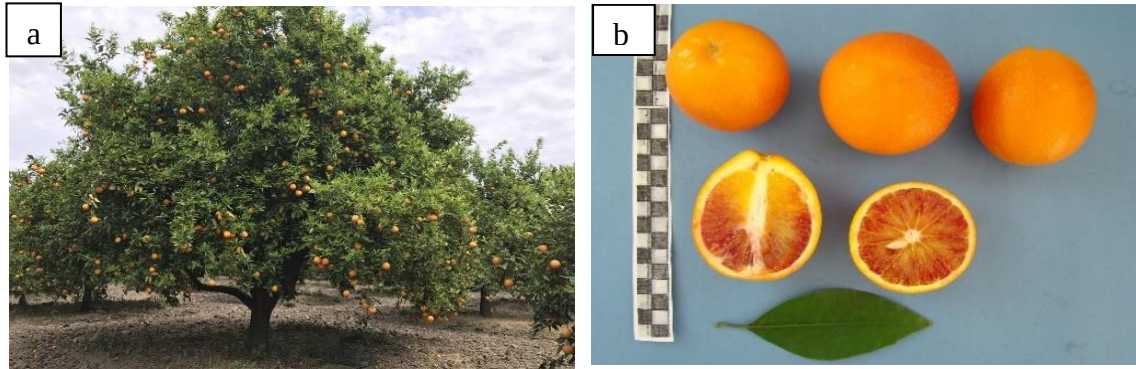
Kan portakalları içerisinde, meyve eti, mor üzümlere renk veren antosiyan pigmenti ile aynı pigmente sahip ve en fazla antosiyanın içeren bir çeşittir (Şekil 3.3). Ağaç tacı, yuvarlak, orta büyüklükte ve yayvan büyüme eğilimindedir. Herdem yeşil, uzun oval şeklinde yaprakları kalp şeklinde kanatçıklara sahiptir.

Nisan ayında çiçek açar ve meyveleri ocak ayında olgunlaşmaktadır. Moro portakalı, salkım şeklinde meyveler oluşturan çok verimli, çekirdeksiz bir çeşit olup taşımaya uygundur. Meyveler olgunlaştıktan sonra ağaç üzerinde kalabilir. Ancak bu sürenin uzaması meyvenin lezzetini kaybetmesine neden olmaktadır.

Meyve şekli genelde yuvarlak hafif oval, orta büyüklüktedir. Meyve kabuğu orta kalınlıkta, hafif pürüzlü, orta derecede ete bağlıdır.

Meyve kalitesi çok yüksek olan bu çeşidin meyve şekli ve büyüklüğü, kabuk rengi ve meyve eti rengi yetiştirildiği ortama göre değişiklik gösterebilmektedir. Gece ile gündüz arasındaki sıcaklık farkının fazla olduğu bölgelerde en iyi şekilde

renklenmektedir. Uygun olmayan yetiştirme ortamlarında ise hiç renklenme olmamaktadır (Saunt 1990; Tuzcu vd. 2013).

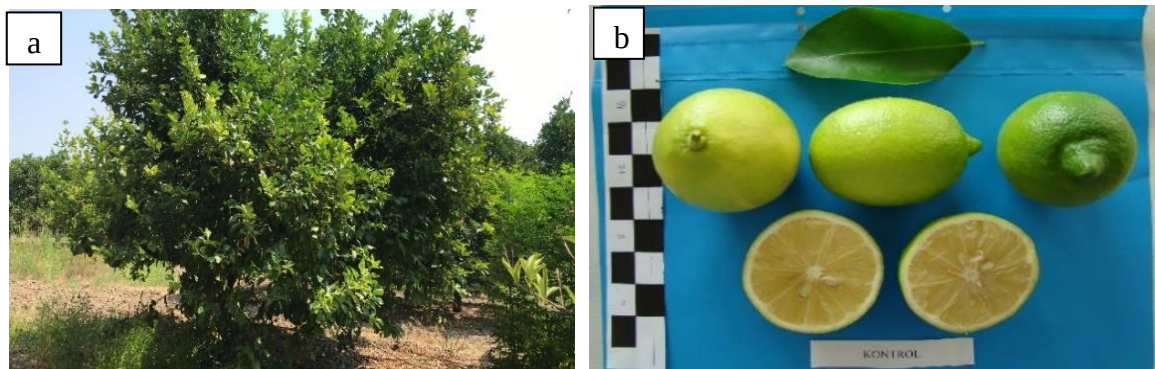


Şekil 3.3. Moro Kan portakalı çeşidine ait görünüm; **a)** ağaç; **b)** meyve

Interdonato limonu (*Citrus limon* L.)

Denemede kullanılan Interdonato limonu, Türkiye Turunçgil Genetik Kaynaklarında Interdonato-9 TKG 0521 (BATEM 273) kodu ile kayıtlıdır. Lisbon grubunda yer alan bu çeşidin orijini Sicilya'dır. Saf bir limondan çok limon x ağaç kavunu melezi olduğu kabul edilmektedir. Ağacı dik büyüme eğiliminde olup, tacı oval ve orta, yaprakları uzun oval şekilde ve kanatçıkları iz halindedir. Çevre koşullarına karşı çok duyarlıdır, hemen yapraklarını dökmektedir. Nisan ayında çiçek açmakta ve meyve olgunlaşması eylül ayı sonudur. Orta verimli, meyveleri ovalimsi, uç kısmı meme çıkıntılı, meyve kabuğu, yeşil sarı renkli, pürüzlü ve orta kalınlıktadır. Meyve eti sarı renkli, kaba teksürlü, 8-9 dilimli, ortalama 7 çekirdekli, ortalama asitliği % 5.97 ve usare miktarı ise % 41.78 olan bir çeşittir.

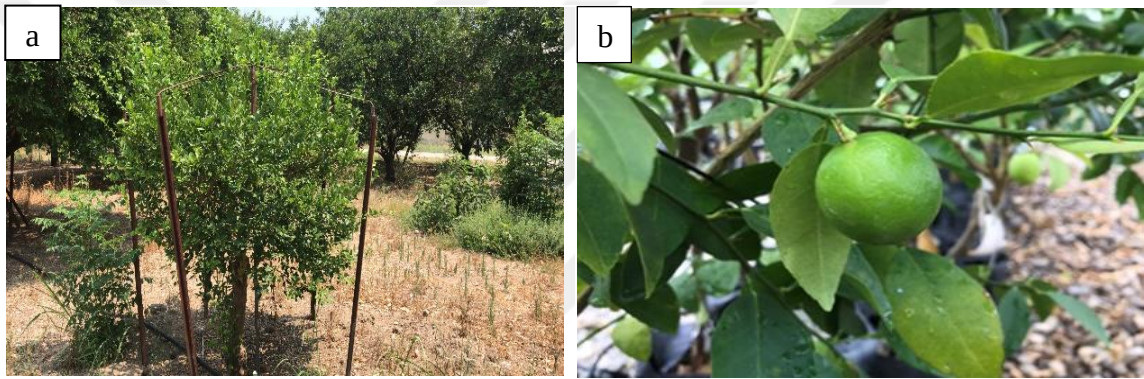
Ülkemizdeki limon çeşitlerinin en erkenci olanıdır (Şekil 3.4). Dünyada en çok yetiştiriciliği ve ihracatı yapılan ülke Türkiye'dir. Ülkemizin limon ihracatının yaklaşık olarak 2/3'ünü Interdonato çeşidi oluşturmaktadır (Kafa 2012; Saunt 1990; Tuzcu vd. 2013).



Şekil 3.4. Interdonato limonuna ait görünüm; **a)** ağaç; **b)** meyve

Meksika laymı (*Citrus aurantifolia* Christm. Swing)

Denemede kullanılan Meksika laymı Türkiye Turunçgil Genetik Kaynaklarında TGK 0102 (BATEM 358) kodu ile kayıtlıdır. Ülkemize 1970 yılında Kaliforniya'dan getirilmiştir. Ağaç tacı orta büyüklükte (2-4 m), çok sayıda ince dikenli sürgünlerden oluşan çalimsı güçlü bir yapıya sahiptir. Yeşil aksamı yoğundur, soluk yeşil renkli, uç kısmı sivri mızrak şeklinde ve sap kısmında küçük kanatçıkları olan yaprakları vardır. Küçük, beyaz ve kokulu çiçekleri ilkbahar ve yaz sonunda açmaktadır. Meyveleri ekim ayında olgunlaşmaya başlar, olgunluk zamanında meyveler yeşilimsi sarı renktedir ve ağaçtan dökülmektedir. Meyveleri 2.5-5.0 cm çapında, yuvarlak, sap kısmında hafif basık ve meyve uç kısmı belirgin, 6-12 dilimli, meyve kabuğu çok ince, pürüzsüz, meyve etine sıkı bağlıdır (Şekil 3.5). Meyve eti, yeşilimsi sarı renkte, ince teksürlü, sulu, oldukça asitlidir. Meyveleri az veya çok sayıda çekirdekli ve poliembryoni göstermektedir. Meyvelerinin kendine özgü bir aroması olup, soğuklara çok hassas bir çeşittir (Saunt 1990; Tuzcu vd. 2013).



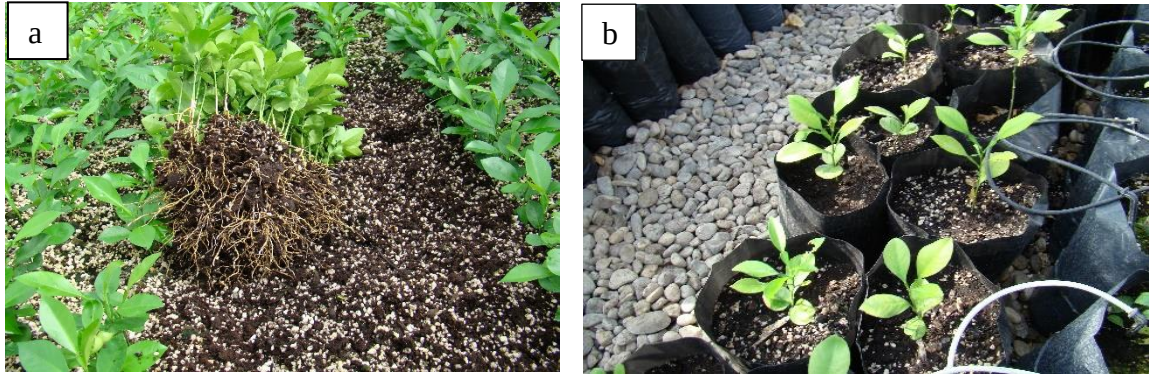
Şekil 3.5. Meksika laymına ait görünüm; **a)** ağaç; **b)** dalda meyve

3.1.2. Fidanların yetiştirildiği ortamın özellikleri

Denemede kullanılan Yerli turunç anaçlarının tohumları her yıl aralık ayında meyvelerden çıkartılarak tohum tavalara ekimleri gerçekleştirilmiştir. Tohum ekiminden 6 ay sonra bitkiler torf:pomza karışımı (2:1 oranında) karışımı (Çizelge 3.2) ile doldurulan 5 litrelik siyah torbalara şaşırtılmıştır (Şekil 3.6). Denemede kullanılan anaçlar kalem kalınlığına gelince aşlamalar yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan torfun fiziksel ve kimyasal özellikleri

Ph(1:5)	7.3
Ec Mikromhos/Cm(1:5)	739
105 0c % Nem	74.4
105 0c % Kuru Madde	25.6
550 0c Organik Madde	66.5
550 0c Kül	33.5
Toplam N %	1.68
C %	36.6
C/N	22.9



Şekil 3.6. Yerli turunc anaçlarına ait görünüm; **a)** tohum tavaında çöğürler; **b)** siyah plastik torbalara şaşırtılmış çöğürler

3.1.3. Deneme alanı iklim özellikleri

Deneme yapılan seraya HOBOWare marka hobo yerleştirilmiş ve 2016, 2017 ve 2018 yıllarına ait iklim verileri alınmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Deneme serasının 2016, 2017 ve 2018 yıllarına ait iklim verileri

Yıllar	Aylar	Ort. Hava Sıcaklığı (°C)	Ort. Hava Nemi %	Ort. Toprak Sıcaklığı (°C)	Ort. Toprak Nemi (%)
2016	Şubat	19.15	65.51	18.94	74.09
	Mart	17.81	63.75	17.23	73.84
	Nisan	21.00	64.26	20.18	67.86
	Mayıs-	21.74	67.49	20.78	68.49
	Haziran	25.72	66.84	23.78	88.31
	Temmuz	28.99	66.76	26.99	74.86
	Ağustos	28.33	75.03	26.98	75.54
	Eylül	25.10	67.03	22.90	77.39
	Ekim	21.87	70.62	20.29	81.51
	Kasım	17.34	68.82	16.13	97.62
2017	Aralık	12.42	69.21	11.18	98.43
	Ocak	12.48	77.03	10.98	98.31
	Şubat	14.85	69.02	13.17	97.63
	Mart	16.11	65.71	15.05	97.03
	Nisan	19.32	62.87	18.31	97.23
	Mayıs	25.29	61.28	23.81	85.31
	Haziran	27.92	63.31	26.32	97.34
	Temmuz	28.97	57.65	28.44	99.34
	Ağustos	27,38	67,46	25.98	98.75
	Eylül	24,61	66,07	22.61	98.12
	Ekim	19.67	74.47	19.11	97.89

Çizelge 3.3' ün devamı

2018	Kasım	17.56	71.15	16.82	97.64
	Aralık	15.35	76.94	14.70	89.66
	Ocak	14.49	71.28	13.66	71.71
	Şubat	17.14	74.03	16.12	69.44
	Mart	19.39	69.75	20.17	64.48
	Nisan	21.37	62.90	20.15	67.16

3.2. Metot

Gama radyasyonu uygulaması Akdeniz Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü'nde bulunan Kobalt-60 (^{60}Co) kaynağında, fiziksel ve kimyasal analizler Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün Toprak ve Su Kaynakları laboratuvarı ile Tıbbi Aromatik Bitkiler Merkez laboratuvarlarında, soğuğa toleranslılık testleri ise Akdeniz Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yapılmıştır.

3.2.1. Etkili mutagen dozunun belirlenmesi

Çalışmada kullanılan çeşitlere ait, etkili mutagen dozunu (EMD) belirlemek amacıyla eylül ayında, üzerinde birden fazla aşı gözü bulunan ortalama 20 cm uzunluğunda, 1 cm çapında aşı kalemleri alınmıştır (Şekil 3.7) (Gogoi ve Basumatary 2018). Alınan aşı kalemlerine 100 cm örnek mesafesi ve 40×40 cm alanda 35.3 Gy/saat gücünde Kobalt-60 kaynağından (Lestari 2012) gama radyasyonun 30, 40, 50, 60, 70 ve 80 Gy dozları uygulanmıştır (Çizelge 3.4).

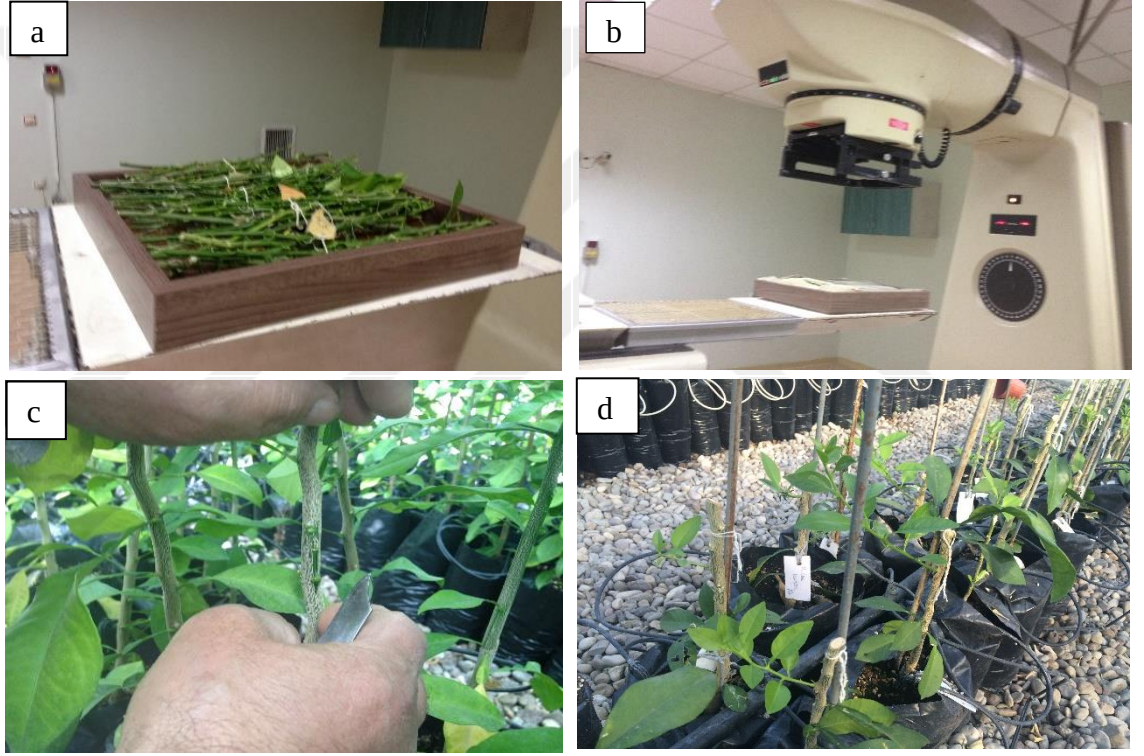
Kontrol bireylerine hiçbir uygulama yapılmamıştır. Uygulamadan sonra kontrol bireyleri ile her doz için 20 adet olmak üzere üç çeşitte toplam 420 adet aşı gözü, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün Meyvecilik Bölümü'nde bulunan cam serada, Yerli turunc anacı üzerine T göz aşısı yöntemi ile aşılanmıştır (Şekil 3.8).

Çizelge 3.4. EMD belirlenmesinde uygulanan dozlar, uygulama süresi ve saati

Uygulanan Doz	Uygulama Süresi (Dakika)	Uygulama Saati
30 Gy	20+20+11	15 ⁴⁵ -16 ³⁶
40 Gy	17	16 ⁴⁰ -16 ⁵⁷
50 Gy	17	17 ⁰⁰ -17 ¹⁷
60 Gy	17	17 ²⁰ -17 ³⁷
70 Gy	17	17 ⁴⁰ -17 ⁵⁷
80 Gy	17	18 ⁰⁰ -18 ²⁰



Şekil 3.7. Aşı gözlerinin üzerinde bulunduğu sürgünlere ait görünüm



Şekil 3.8. Etkili mutagen dozunun belirlenmesine ait görüntüler; **a)** aşı kalemleri; **b)** aşı kalemlerinin ışınlanması; **c)** T göz aşısı; **d)** Yerli turunç anaçları üzerine aşılanmış aşı gözler

Etkili mutagen dozunu belirlemek amacıyla, ışınlamadan 2 ay sonra sürgün boyu (aşı yerinden sürgünün en üst yaprağına kadar olan kısım) ölçülmüş ve lineer regresyon kullanılarak aşağıda verilen formül (3.1)'e göre EMD hesaplanmıştır.

Bitki populasyonlarının oluşturulmasında ışınlamada kontrol grubuna göre % 50 sürgün büyümesinin gerilediği (BG_{50}) [Grow Reduction (GR_{50})] etki eden BG_{50} dozun $\pm \%10$ aralığı kullanılmıştır (Donini 1988; Latado vd. 2012).

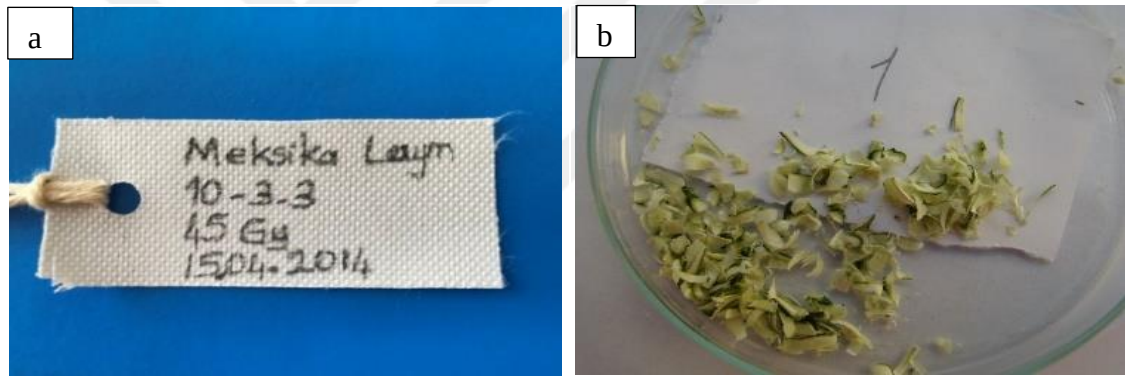
A ve B: Regresyon katsayıları
X: doz

$$\text{Sürgün uzunluğu} = A + B.X \quad (3.1)$$

Denemede kullanılan her bir çeşidin aşı kalemlerinin nem oranlarını (%) belirlemek için aşı kalemlerinden bir parça kesilmiştir. Kesilen bu parça tartılarak yaş ağırlığı (YA) belirlenmiş ve küçük parçalara bölünerek petri kabının içinde etüvde 65 °C’de kurutulmuştur (Şekil 3.8). Daha sonra tartılarak kuru ağırlığı (KA) belirlenmiş ve aşağıda verilen formüle (3.2) göre yüzde nem oranları hesaplanmıştır (Buchner ve Neuner 2011).

$$\text{Nem oranı (\%)} = \frac{YA-KA}{YA} \times 100 \quad (3.2)$$

Kontrol ve mutant adayı bireylerinin özelliklerinin takip edilebilmesi ve kaydedilebilmesi için etiket bilgisi oluşturulmuştur (Şekil 3.9). Etiket üzerine çeşit, bireyin numarası, ışın dozu ve aşılama tarihi yazılmıştır.



Şekil 3.9. Bitki etiket örneği, aşı kalemleri ve nem oranı belirlenen aşı kalemleri parçalarına ait görüntüler; **a)** etiket; **b)** aşı kalemi parçaları

3.2.2. Populasyonların oluşturulması

3.2.2.1. M₁V₁ populasyonunun oluşturulması

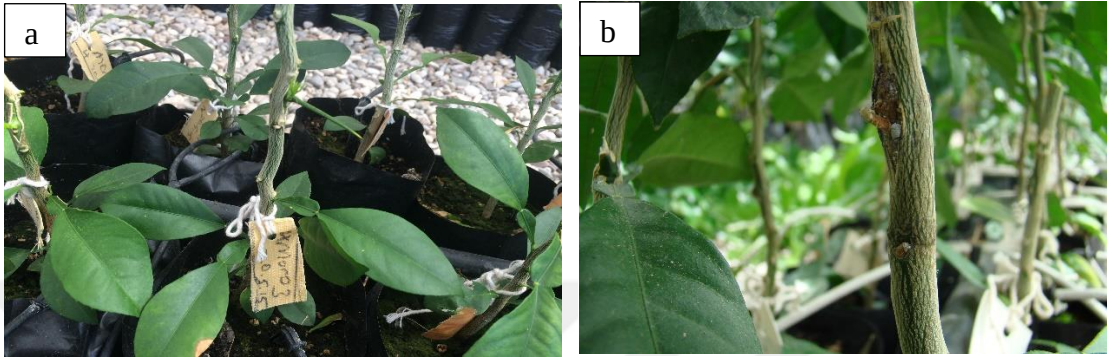
M₁V₁ populasyonunu oluşturmak için Mayıs ayında üzerinde aşı gözleri bulunan ortalama 20 cm uzunluğunda, 1 cm çapında, aşı kalemleri alınmıştır. Her bir çeşit için belirlenen etkili mutagen dozuna göre 100 cm örnek mesafesinde, 40x40 cm alanda 32.34 Gy/saat gücünde kobalt-60 kaynağından gama ışını (Jain vd. 2000) uygulanmıştır.

Işınlamadan sonra her çeşit için 100 adet olmak üzere üç çeşitte 300 adet aşı gözü ve kontrol bireyleri için 10 adet aşı gözü Yerli turuncu (*Citrus aurantium* L.) anacına T göz aşısıyla aşılanmış ve aşı gözlerinin nem oranları belirlenmiştir.

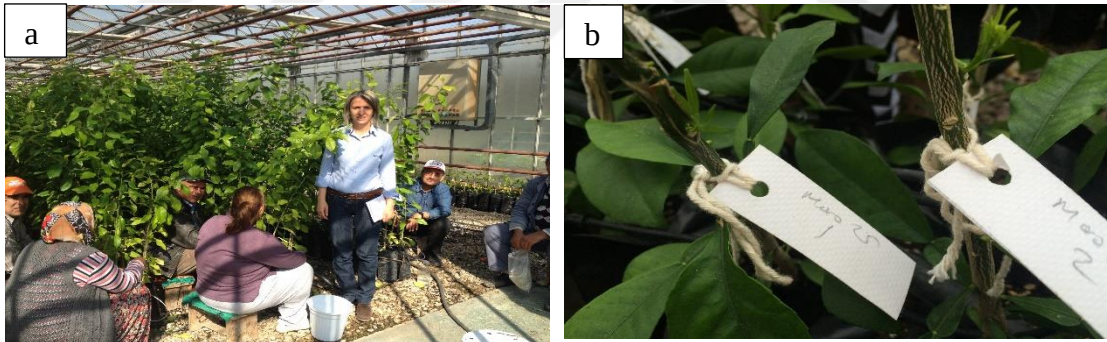
Kontrol ve mutant adayı bireylerde aşılamadan 2 ay sonra süren gözler sayılarak aşağıdaki formüle (3.3) göre hesaplanmıştır. Bu generasyonda optimum kültürel bakım

şartları sağlanarak, olabildiğince çok sayıda bitkinin hayatta kalması sağlanmış ve etiketlenmiştir (Şekil 3.10, 3.11).

$$\text{Sürme oranı (\%)} = \frac{\text{Süren aşı gözleri}}{\text{Aşılana aşı gözleri}} \times 100 \quad (3.3)$$



Şekil 3.10. M₁V₁ popülasyonuna ait görünüm; **a)** aşı tutmuş sürmüş fidan; **b)** aşı tutmamış fidan

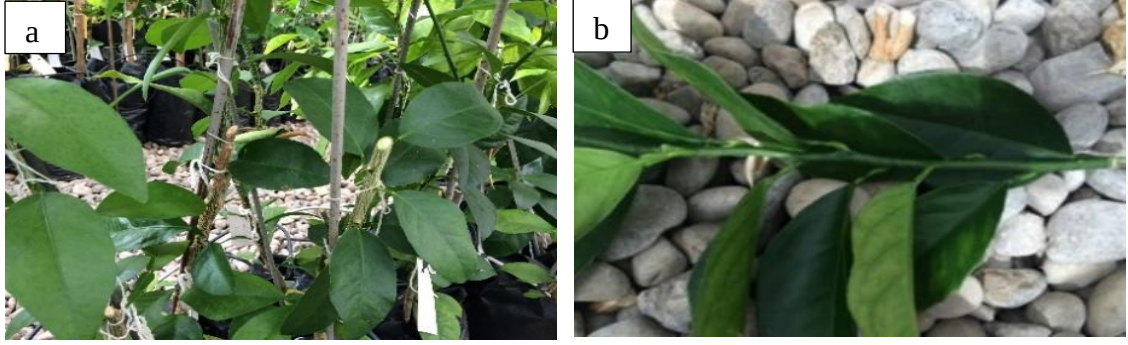


Şekil 3.11. M₁V₁ popülasyonuna ait görünüm; **a)** aşılama çalışması; **b)** sürmüş fidanlar

3.2.2.2. M₁V₂ popülasyonunun oluşturulması

M₁V₂ popülasyonunu oluşturmak için, aşı gözü alınabilecek kalınlığa gelen M₁V₁ popülasyonu bireylerinden Mayıs ve Ekim aylarında, sürgünlerde 2 adet aşı gözü bırakılarak aşı kalemleri kesilmiştir. Bu kesilen aşı kalemlerinden en az 3-5 adet aşı gözü alınmış ve Yerli turuncu anacı üzerine T göz aşısıyla aşılanmıştır (Şekil 3.12, 3.13).

Turuncgil türlerine ait popülasyonlarda sürme oranı kontrol ve mutant adayı bireylerde aşılamadan sonra süren gözler sayılarak formüle (3.3)'e göre hesaplanmıştır.



Şekil 3.12. M_1V_1 populasyonu bireylerinden aşı gözü eldesi; **a)** iki göz üzerinden kesilen M_1V_1 bireyleri; **b)** aşı gözü alınan sürgün

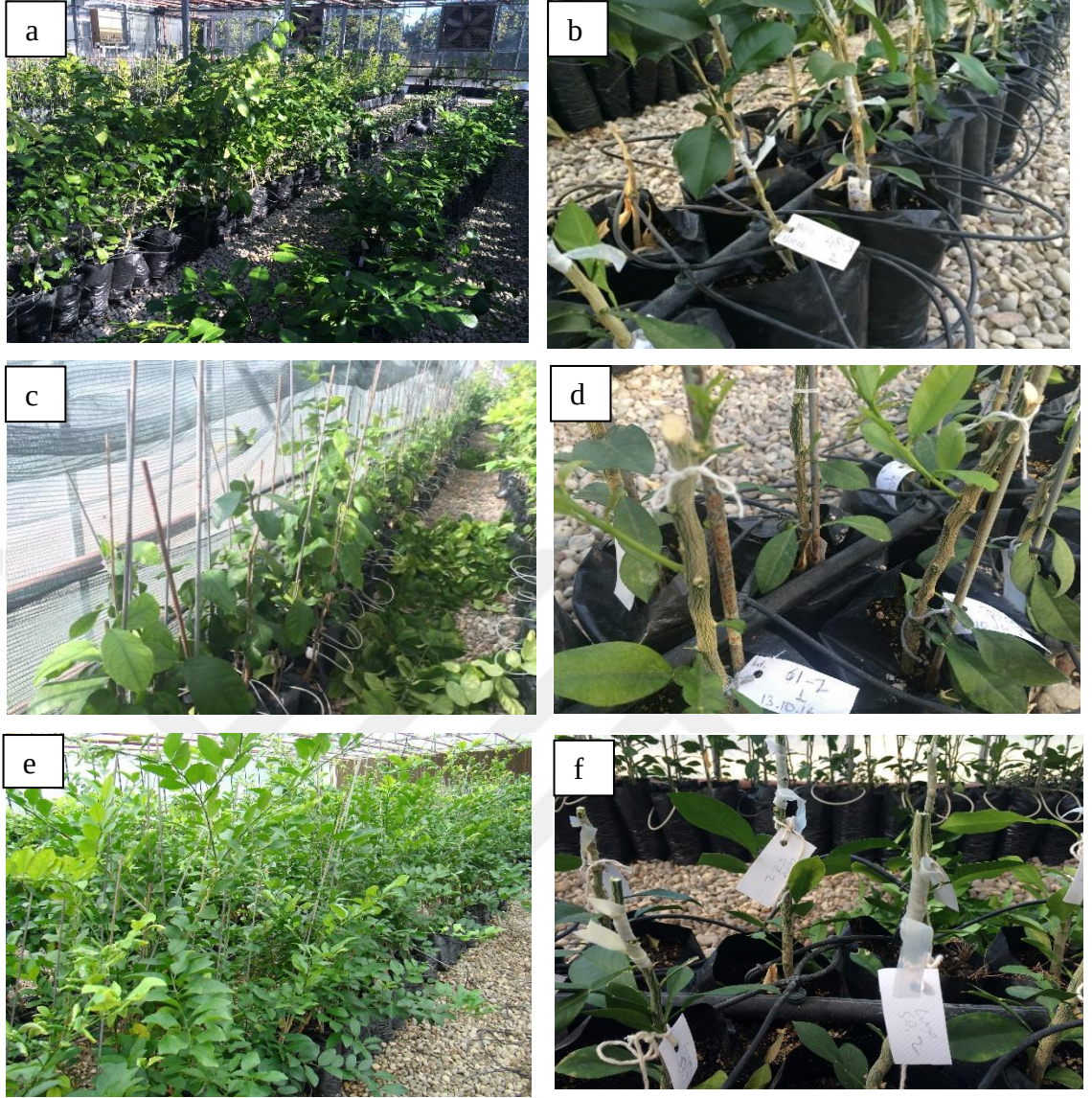


Şekil 3.13. M_1V_2 populasyonun oluşturulması; **a)** aşılanan M_1V_2 bireyleri; **b)** tutan aşı gözlerinin tepesinin kesilmesi

3.2.2.3. M_1V_3 populasyonunun oluşturulması

M_1V_3 populasyonu oluşturmak için, aşı gözü alınabilecek kalınlığa gelen M_1V_2 populasyonu bireylerinden Mayıs ve Ekim aylarında, her birinden en az 3-5 adet aşı gözü alınmıştır. Bu kesilen aşı gözleri T göz aşısıyla Yerli turunç anacı üzerine aşılanarak M_1V_3 populasyonu oluşturulmuş ve formül (3.3)'e göre sürme oranları belirlenmiştir (Şekil 3.14).

Daha önce yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmalarında meydana gelen kalıtsal değişiklerin M_1V_3 populasyonunda stabil hale geldiği saptanmış ve meydana gelen fizyolojik zararların M_1V_3 populasyonunda azaldığı belirlenmiştir (Doini 1988; Kunter vd. 2012; Sarsu vd. 2018).



Şekil 3.14. M_1V_3 populasyonunun ait görünüşleri; **a)** M_1V_2 Moro portakalı genotipleri; **b)** Moro portakalı yeni aşılanmış fidanlar; **c)** M_1V_2 Interdonato limonu genotipleri; **d)** Interdonato limonu yeni aşılanmış fidanlar; **e)** M_1V_2 Meksika laymı genotipleri; **f)** Meksika laymı yeni aşılanmış fidanlar

3.2.3. M_1V_2 ve M_1V_3 populasyonlarında incelenen ön seleksiyon kriterleri

Vejetatif üretilen bitkilerde yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmalarında M_1V_2 populasyonunda kimerik yapıların devam etmesi söz konusu olabilmektedir. Bu nedenle M_1V_2 ve populasyonda olağan dışı özellikleri belirlemek için çok iyi gözlem ve

ölçümlerin (sürgün boyu, boğum aralığı, dallanma tipi vb.) yapılması gerekmektedir (Prina vd. 2012; Sarsu vd. 2018). Çünkü bu popülasyonda birey sayısı M_1V_3 popülasyonuna göre daha az olduğu için mutant adayı bireyleri belirleme şansı daha yüksek olmaktadır.

3.2.3.1. Sürgün boyu (cm)

Çeşitlere ait süren tüm bitkilerde, aşılamadan iki ay sonra aşı yerinden tepe noktasına kadar olan mesafe bir cetvel yardımıyla ölçülerek cm cinsinden belirlenmiştir (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. Sürgün boyu ölçümüne ait görünüm

3.2.3.2. Boğum aralığı (mm)

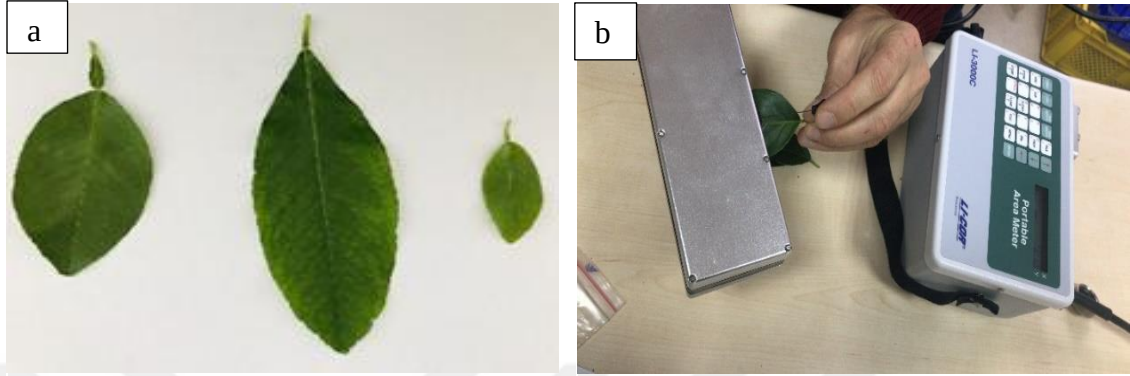
Çeşitlere ait süren tüm bitkilerde, aşılamadan iki ay sonra, aşı noktasından sürgünün üst kısmına doğru ikinci ve üçüncü yaprak arasındaki mesafe dijital kumpas ile ölçülerek cm cinsinden belirlenmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.16. Boğum aralığı ölçümüne ait görünüm

3.2.3.3. Yaprak alanı (cm²)

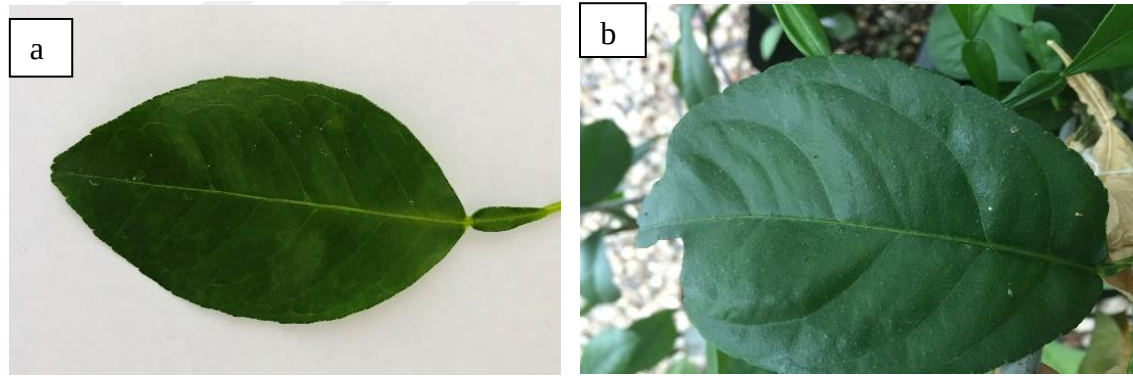
Yaprak alanı ölçümü, aşılamadan sonra aşı yerinden itibaren sürgünün orta kısmına doğru 6-9 yapraklardan 0, alınmış ve yaprak alanı LI-COR marka LI-3000C taşınabilir yaprak alanı ölçer aleti ile ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 3.17).



Şekil 3.17. Yaprak alanı ölçümüne ait görünüm; **a)** üç çeşidin yaprağı (soldan sağa portakal, limon ve laym yaprağı); **b)** yaprak alanı ölçümünden görünüm

3.2.3.4. Normal ve anormal yaprak sayısı (adet)

Çeşitlere ait süren tüm bitkilerde aşılamadan iki ay sonra, aşı yerinden itibaren oluşan normal ve anormal gelişim gösteren yaprakların tamamı sayılarak belirlenmiştir (Şekil 3.18).



Şekil 3.18. Normal ve anormal yapraklara ait görünüm; **a)** Moro portakalı normal yaprak; **b)** Moro portakalı anormal yaprak

3.2.4.5. Mutasyon frekansı (%)

M₁V₂ ve M₁V₃ populasyonlarının mutasyon frekansı (MF)'nin ve seçilen mutant aday bireylerin mutant frekansının hesaplanmasında kriterler olarak, ebeveynine göre yaprak sayısı (adet), anormal yaprak sayısı (adet), bakımından farklılıklar dikkate alınmıştır.

Çeşitlere ait süren tüm bitkilerde, aşılamadan iki ay sonra, anormal yaprak (ANYS) ve toplam yaprak sayısı (TYS) belirlenmiştir (Donini 1988; Kunter 2012).

Bu generasyonda örnekleme yoluyla anormallik gösteren yaprak sayısı değerlendirilerek popülasyonların mutasyon frekansı (MF) ve seçilen bireylerin mutant frekansı aşağıdaki formüle (3.4) göre hesaplanmıştır.

$$MF (\%) = \frac{ANYS}{TYS} \times 100 \quad (3.4)$$

3.2.4. Mutant adayı bireylerin seçimi

M₁V₂ popülasyonunda Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymı genotiplerinde, ön seleksiyon kriterlerine göre kontrol bireylerinden farklılık gösteren mutant adayı bireyler seçilmiştir.

3.2.5. Fizyolojik ve biyokimyasal analizler

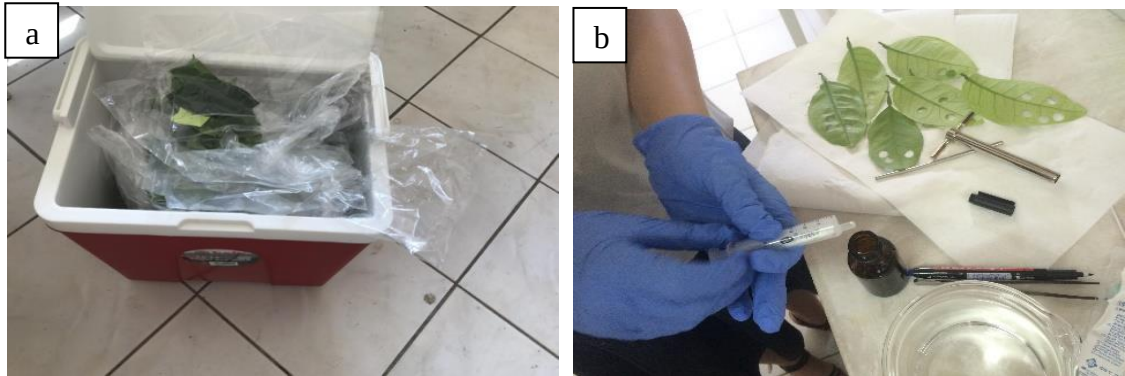
3.2.5.1. Yaprak oransal su içeriği (%)

Yaprak oransal su içeriğini belirlemek amacıyla, her türe ait M₁V₃ popülasyonundan kontrol ve seçilen mutant adayı bireylerin her birinden gelişimini tamamlamış yaprak örnekleri alınarak buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir.

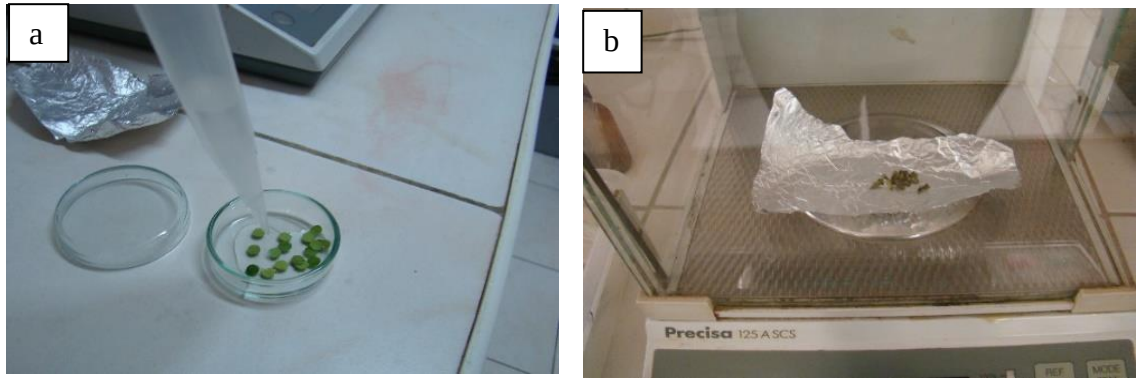
Yaprak örnekleri 3 defa saf su ile yıkanmış ve kurutma kâğıdı ile kurutulmuştur. Bu yapraklardan, her tekerrür için 20 adet yaprak diski kesilmiştir. Kesilen bu diskler, yaş ağırlıkları (YA) alındıktan sonra kapaklı petri kaplarına yerleştirilmiştir. Örneklerin üzerine turgor hale gelmeleri için 10 ml saf su eklenmiş ve örnekler 4 saat süreyle petri kaplarında bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda turgorlu ağırlıklar tartılarak turgorlu ağırlığı (TUA) belirlenmiştir (Şekil 3.19, 3.20). Daha sonra örnekler 65°C’de, 24 saat etüvde kurutulmuş ve tartılarak kuru ağırlık (KA) belirlenmiştir.

Aşağıdaki formül (3.5) yardımıyla % yaprak oransal su içeriği (YOSİ) değeri hesaplanmıştır (Barr ve Weatherley 1962).

$$YOSİ (\%) = \frac{(YA - KA)}{(TUA - KA)} \times 100 \quad (3.5)$$



Şekil 3.19. Yaprak oransal su içeriği belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; **a)** yaprak örneklerinin buz kutusu içerisinde getirilmesi; **b)** yaprak örneklerinin hazırlanması



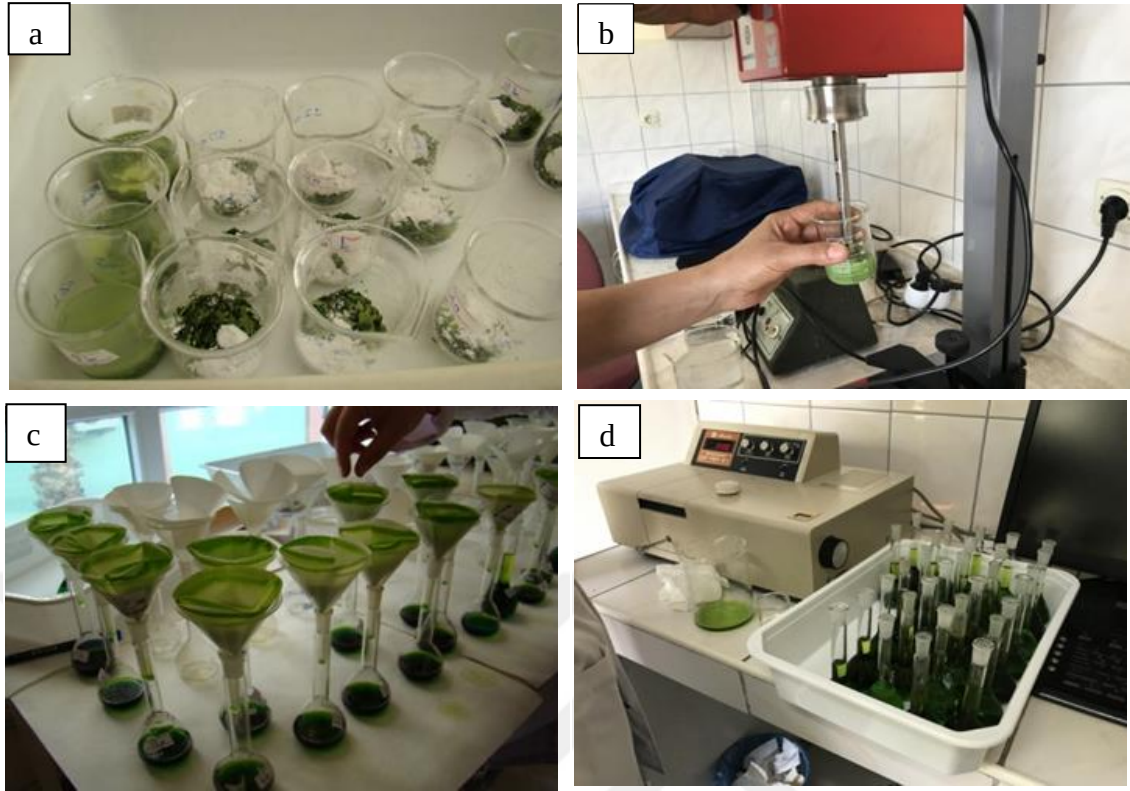
Şekil 3.20. Yaprak oransal su içeriği belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; **a)** örnekler saf su eklenmesi; **b)** yaprak örneklerinin tartılması

3.2.5.2. Yaprak klorofil içeriği (mg/g)

M_1V_3 populasyonunda kontrol ve seçilen mutant aday bireylerinin her birinden taze yaprak örnekleri alınarak buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Bu yapraklar 3 defa saf su ile yıkanılarak, kurutma kâğıdı ile kurutulmuştur. Daha sonra yaprakların orta kısımlarından, toplam 0.25 g örnek alınmış ve bunun üzerine yarım çay kaşığı $CaCO_3$ ve 25 ml aseton ilave edilerek 3-4 dakika homogenizatörde parçalanmıştır. Elde edilen çözelti 50 ml'lik balon jojeye filtre kâğıdından süzülerek aktarılmış ve asetonla 50 ml'ye tamamlanıp elle iyice çalkalanmıştır. Bu örneğin 15 ml'si spektroküvetine alınıp klorofil a için spektrofotometrede 663 nm dalga boyunda, klorofil b için 645 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır (Şekil 3.21, 3.22). Daha sonra ölçülen değerler 20.2 sabiti ile çarpılarak klorofil a ve klorofil b değerleri mg/g YA olarak hesaplanmıştır. Toplam klorofil değeri ise klorofil a ve b değerleri toplanarak elde edilmiştir. Analizlerin tümü yarı gölgede yapılmıştır (Williams 1984).



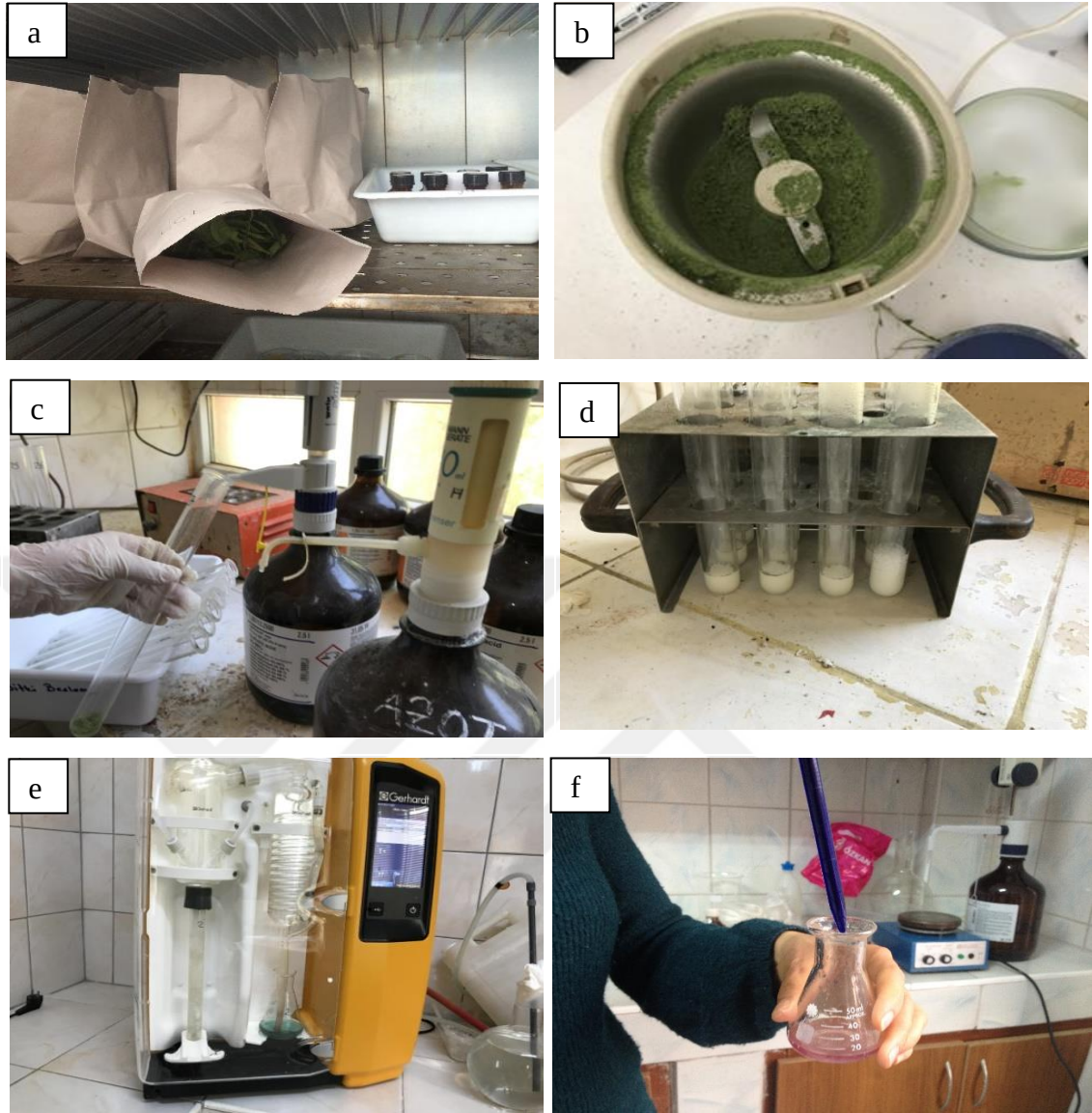
Şekil 3.21. Klorofil içeriğinin belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; **a)** yaprak örneklerinin kesilmesi; **b)** yaprak örneklerinin tartılması



Şekil 3.22. Klorofil içeriğinin belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; **a)** yaprak örneklerine kalsiyum bikarbonat eklenmesi; **b)** yaprak örneklerinin parçalanması; **c)** homojenize edilen örneklerin süzülmesi; **d)** spektrometrede örneklerin klorofil miktarının okunması

3.2.5.3. Yapraklarda toplam çözünebilir protein konsantrasyonu (%)

Her bitkiden gelişimini tamamlamış taze yaprak örnekleri alınarak buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Yapraklar 3 defa saf su ile yıkanılarak etüvde 65°C’de kurutulmuş ve ardından öğütülmüştür. Öğütülen örneklerde azot tayini modifiye Kjeldahl metoduna göre yapılmıştır (Kacar ve İnal 2008). Bu analizde cam tüplere 0.25 g öğütülmüş yaprak örnekleri koyulmuş ve üzerine 2 ml hidrojen peroksit ile 3 ml sülfürik asit eklenmiş ve 2.5 saat yakma ünitesinde yakılmıştır. Örnekler soğuduktan sonra 25 ml borik asit erlenmayere koyularak destilasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra 0.1 N HCl ile titrasyon yapılmıştır (Şekil 3.23). Elde edilen sonuçların 6.25 katsayısı ile çarpılmasıyla örneklerin toplam protein içerikleri saptanmıştır.



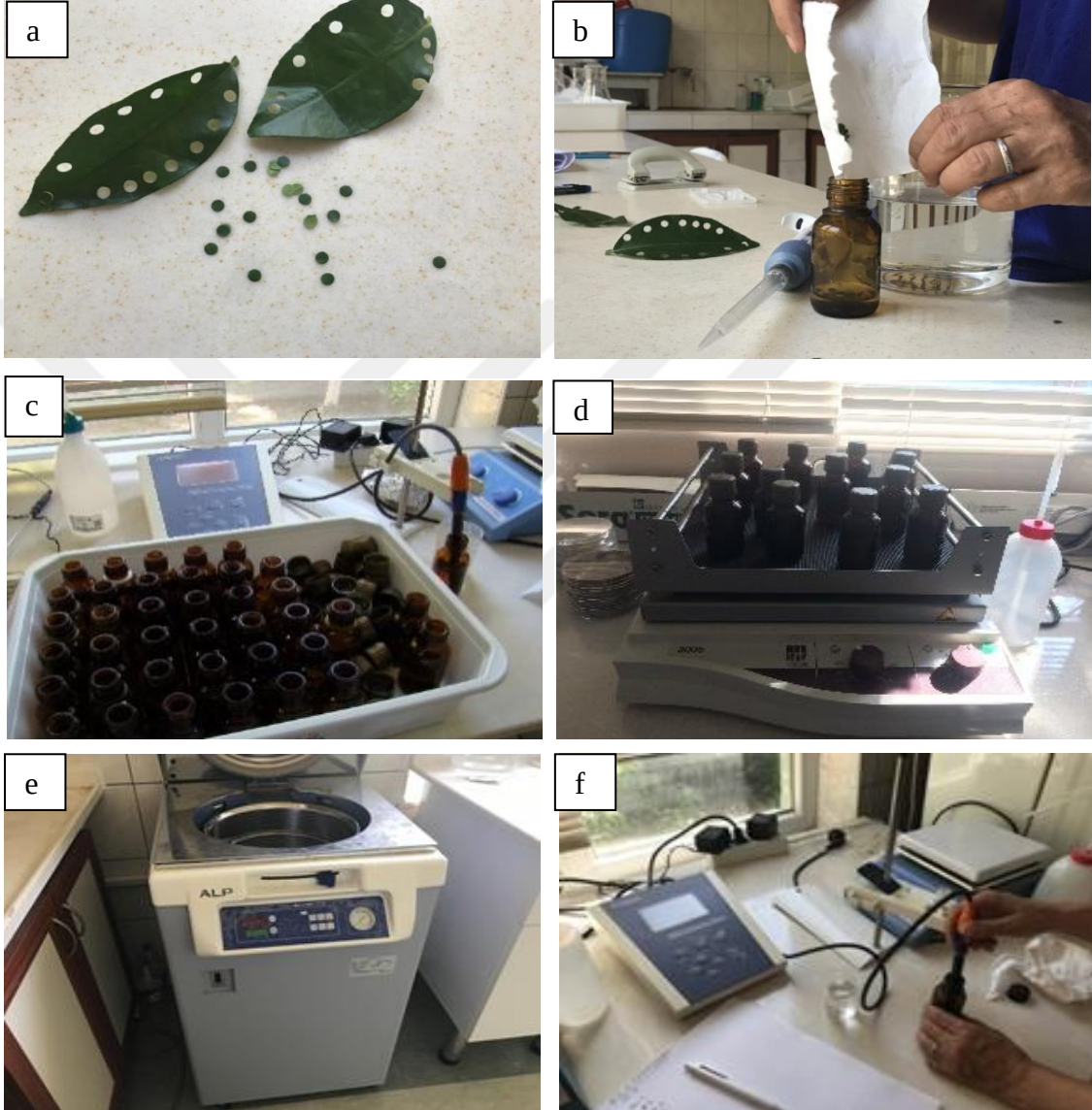
Şekil 3.23. Toplam çözünebilir protein miktarının belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; **a)** yaprakların kurutulması; **b)** yaprak örneklerinin öğütülmesi; **c)** yakma işlemi için asidin eklenmesi; **d)** örneklerin yakılması; **e)** örneklerin destilasyonu; **f)** örneklerin titrasyon yapılması

3.2.5.4. Membran geçirgenliği (%)

Her bir bitkiden gelişimini tamamlamış yapraklardan örnek alınarak buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Bu yapraklar 3 defa saf su ile yıkandıktan sonra, kurutma kâğıdı ile kurutulmuştur. Daha sonra, yapraklardan alınan 20 adet disk, kahverengi cam şişelere konmuş ve üzerlerine 10 ml saf su ilave edilerek örnekler 24 saat süreyle çalkalayıcıda bırakılmıştır. Daha sonraki aşamada, EC metre ile iki farklı ölçüm yapılmıştır. Birinci ölçüm, şişelerdeki çözeltiler tüplere boşaltılarak (EC1) ve ikinci ölçüm ise (EC2) çözeltiler 120°C’de 20 dakika otoklavlandıktan ve çözeltilerin sıcaklığı

25°C oda sıcaklığına geldiğinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.24). Elde edilen iki değer ile membran geçirgenliği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Lutts vd. 1996).

$$EC (\%) = \frac{EC1}{EC2} \times 100 \quad (3.6)$$



Şekil 3.24. Membran geçirgenliğinin belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; **a)** yaprak disklerinin alınması; **b)** yaprak disklerinin cam şişelere koyulması; **c)** örneklerin çalkalayıcıda tutulması; **d)** örneklerin EC1 ve EC 2 değerinin okunması; **e)** otoklavdan bir görünüm

3.2.5.5. Prolin konsantrasyonunun belirlenmesi ($\mu\text{mol/g YA}$)

Prolin analizleri için yaprak örnekleri soğukların başladığı kasım ayı ile yılın en soğuk aylarından olan ocak ve vejetasyonun başladığı mart aylarının 2. haftalarında alınmıştır. Prolin analizi Bates vd. (1973)' ne göre yapılmıştır.

Bu metoda göre gelişimini tamamlamış yaprak örnekleri alınarak buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Yaprak örnekleri 3 defa saf su ile yıkandıktan ve kurutma kâğıdı ile kurulanmıştır. Daha sonra her birinden 0.5 g yaprak örneği alınarak ve üzerlerine 10 ml % 3'lük sülfosalisik asit ilave edilerek homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler mavi bant filtre kağıdından (391.80 g/m^2) filtre edilmiştir.

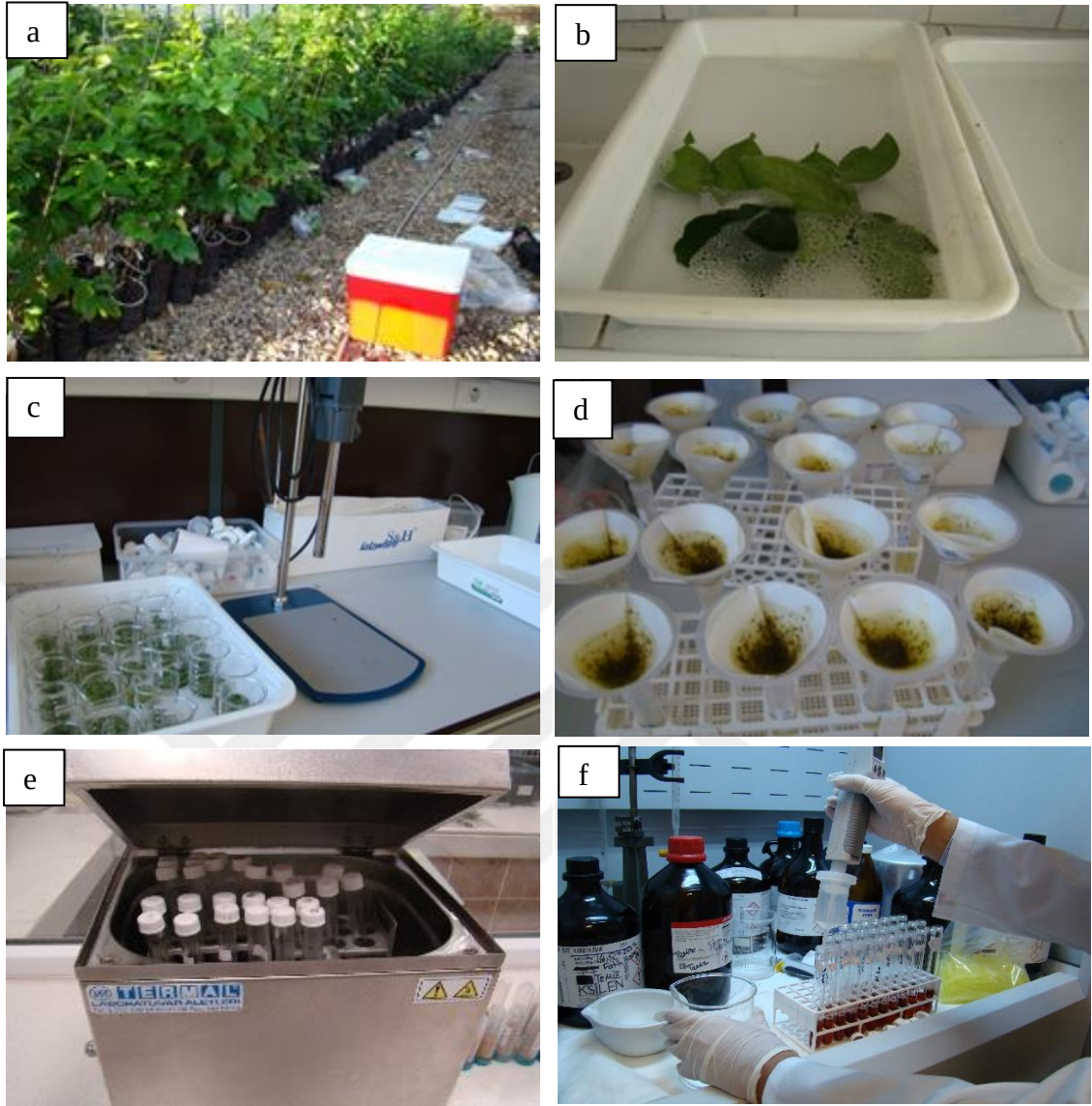
Elde edilen süzüntüden 2 ml filtrat alınarak cam tüplere konulmuş ve üzerine 2 ml ninhidrin* ve bununda üzerine 2 ml glasiyal asetik asit eklenerek 100°C 'de 1 saat reaksiyona sokulmuştur. Daha sonra örnekler buz banyosunda soğuyuncaya kadar bekletilmiştir. Bunu takiben reaksiyon karışımına 4 ml tolüen ilave edilmiştir. Tolüen, sulu fazdan aspire edilmiş ve oda sıcaklığında soğutularak absorbens değerleri UV spektrofotometresinde (CE 5502 UV spectrophotometer) 520 nm dalga boyunda okunmuştur (Şekil 3.25, 3.26). Elde edilen veriler aşağıdaki formüle göre yaş ağırlık üzerinden hesaplanmıştır.

*Asit ninhidrin çözeltisinin hazırlanışı: 1.25 g lık ninhidrinle 30 ml glasiyal asetik asit 20 ml 6 M fosforik asidin çözülene kadar çalkalanması ile hazırlanmıştır ve buzdolabında 24 saat bekletildikten sonra kullanılmıştır.

$$\text{Prolin } (\mu\text{mol prolin /g}) = \frac{\mu\text{g prolin ml} \times \text{ml tolüen} \times \text{tolüen} \times 115.5 \text{ mg}/\mu\text{mol}}{\frac{\text{g örnek}}{5}} \quad (3.9)$$



Şekil 3.25. Prolin analizi için örnek alınan Meksika laymı genotiplerinin bulunduğu seradan bir görünüm



Şekil 3.26. Prolin miktarının belirlenmesine ait aşamalardan görünüm; **a)** yaprak örneklerinin alınması; **b)** yaprakların saf su ile yıkanması; **c)** örneklerin parçalanması; **d)** örneklerin mavi bant filtre kâğıdında süzülmesi; **e)** örneklerin sıcak su banyosunda inkübe edilmesi; **f)** karışımın 4 ml tolüenle ekstrakte edilmesi

3.2.6. Düşük sıcaklık (don) testleri

M_1V_3 popülasyonuna getirilmiş, seçilen bireylerin her birinde düşük sıcaklık (don) testleri prolin analizlerinde olduğu gibi soğukların başladığı kasım ayı ile yılın en soğuk aylarından olan ocak ve vejetasyonun başladığı mart aylarının 2. haftalarında yapılmıştır. Analizler için gelişimini tamamlamış yaprak örnekleri alınarak buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Burada yapraklar 3 defa saf su ile yıkanarak kurutma kâğıdı ile kurutulmuştur.

3.2.7.1. Hücresel membran zararının belirlenmesi (%)

Düşük sıcaklık uygulamaları sonucu oluşan hücre membran zararını tespit edebilmek amacıyla “iyon sızıntısı” (electrolyte leakage) testleri yapılmıştır. Bu amaçla her dönemde yaprak diski kesme aparatıyla her bir genotip için 72 adet olmak üzere üç çeşit ve kontrol bireylerinde toplam 2376 adet disk alınmıştır. Bu diskler ısıya dayanıklı tüplere 3 tekerrürlü ve her çeşidin 3 tekerrürlü kontrolü olacak şekilde konulmuştur. Denemede bütün genotiplerin 3 tekerrürlü kontrol tüpleri buzdolabında (+4°C) 2 saat bekletildikten sonra çıkarılarak tüplerin üzerlerine 10 ml saf su konulmuştur. Daha sonra bu tüpler çalkalayıcıya (250 Rp/d) yerleştirilerek 4 saat çalkatılmış ve 25°C oda sıcaklığında EC1 değeri okunmuştur. Bu örnekler daha sonra 120°C’de 20 dakika otoklav yapılmış ve soğuduktan sonra 25°C oda sıcaklığında EC2 değeri okunmuştur.

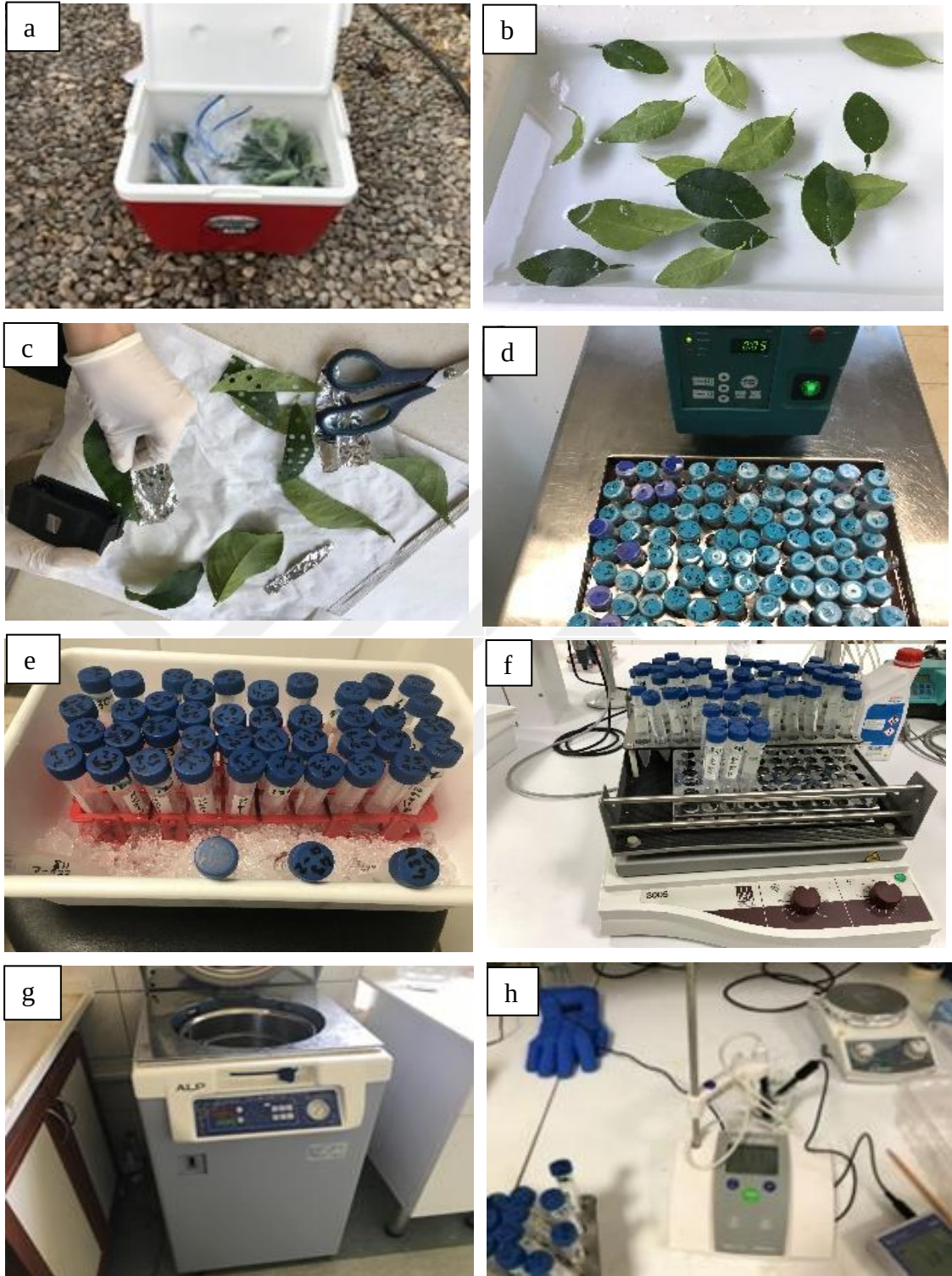
Düşük sıcaklık (don) testleri, haznesinde antifrizli su bulunan Rw 3025G marka soğutmalı su banyosu kullanılmıştır. Bu cihazla; sıcaklıklar +4 °C’den itibaren düşürülmeye başlanmış ve sıcaklık saatte 2°C düşürülerek -2, -5, -8, -11,-14,-17 ve -20°C’de 2’şer saat bekletilerek düşük sıcaklık testleri gerçekleştirilmiştir (Gusto vd. 2003). Soğutmalı su banyosundan çıkarılan örnekler, tüpler içerisine konularak buz içerisine yerleştirilerek bekletilmiştir. Örnekler üzerine 10 ml saf su eklenerek 250Rp/dk çalışan çalkalayıcıya yerleştirilmiş ve 4 saat çalkalandıktan sonra EC1 değeri okunmuştur. Daha sonra bu örnekler 120°C’de 20 dakika otoklavlanmış ve soğuduktan sonra EC2 değeri okunmuştur (Şekil 3.26). Hücresel zararın belirlenmesi amacıyla hesaplamalar Arora vd. (1992)’nin belirlediği aşağıdaki formüllere göre yapılmıştır. Denemede kontrol grubunun iyon sızıntısı (KİS) ve uygulama gruplarının iyon sızıntısı (UİS) ayrı ayrı hesaplanmış formül (3.8)’e göre ve daha sonra yüzde zararlanma oranları formül (3.9)’a göre belirlenmiştir.

$$\text{İyon sızıntısı (\%)} = \frac{EC1}{EC2} \times 100 \quad (3.8)$$

$$\text{Zararlanma (\%)} = \frac{\% \text{ UİS} - \% \text{ KİS}}{100 - \text{KİS}} \times 100 \quad (3.9)$$

3.2.7.2. Düşük sıcaklık toleransı (LT₅₀)

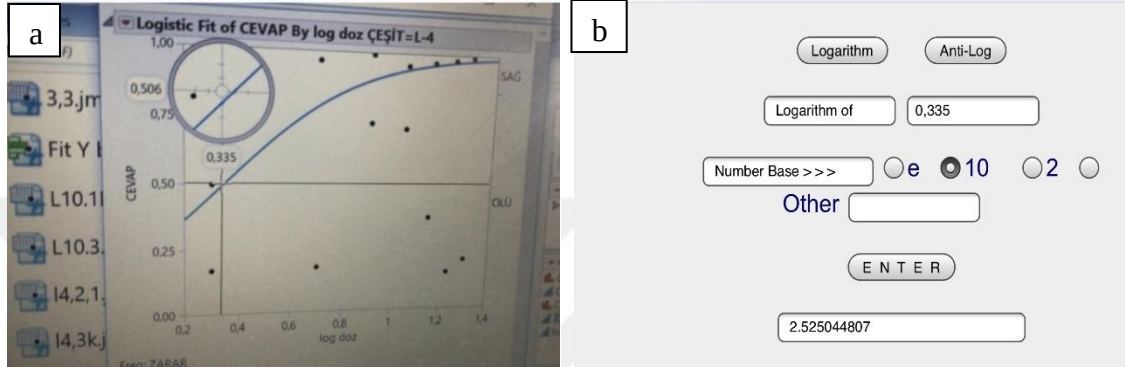
Düşük sıcaklık toleransı (LT₅₀), % 50 ölüm oranının gerçekleştiği sıcaklık değerini (°C) ifade etmektedir. Bütün çeşitlerin düşük sıcaklık toleransı (LT₅₀) kasım, ocak ve mart aylarında hücresel membran zararı değerleri kullanılarak hesaplanmıştır (Weisberg 1985) (Şekil 3.25, 3.27).



Şekil 3.27. Düşük sıcaklık (don) testlerine ait aşamalardan görünüm; **a)** yaprak örneklerinin buz kutusunda taşınması; **b)** örneklerin saf su ile yıkanması; **c)** örneklerden yaprak disklerinin alınması; **d)** örneklerin -20° C don testi; **e)** örneklerin buz içerisinde bekletilmesi; **f)** örneklerin çalkalanması; **g)** örneklerin otoklavlanması; **h)** örneklerin EC değerlerinin okunması

3.2.7. İstatistiksel değerlendirme

Etkili mutagen dozunun hesaplanması Doğrusal Regresyon (DR)'na göre hesaplanmıştır. M_1V_3 generasyonunda bildirilen tüm analizler tesadüf bloklarına göre 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 3 bitki olacak şekilde planlanmıştır. Sonuçlar LSD testine göre değerlendirilip harflendirilmiştir. Ayrıca don testlerinde elde edilen veriler uygun istatistik programında Lojistik regresyon analizi yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Membran zararlanma oranları kullanılarak log değeri hesaplanmış ve bu log değerinin (Şekil 3.28) anti log değerleri bulunarak LT_{50} değerleri saptanmıştır.



Şekil 3.28. Düşük sıcaklık (LT_{50}) değerinin hesaplanmasına ait görünüm; **a)** log değerinin bulunması; **b)** anti log değerinin bulunması

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

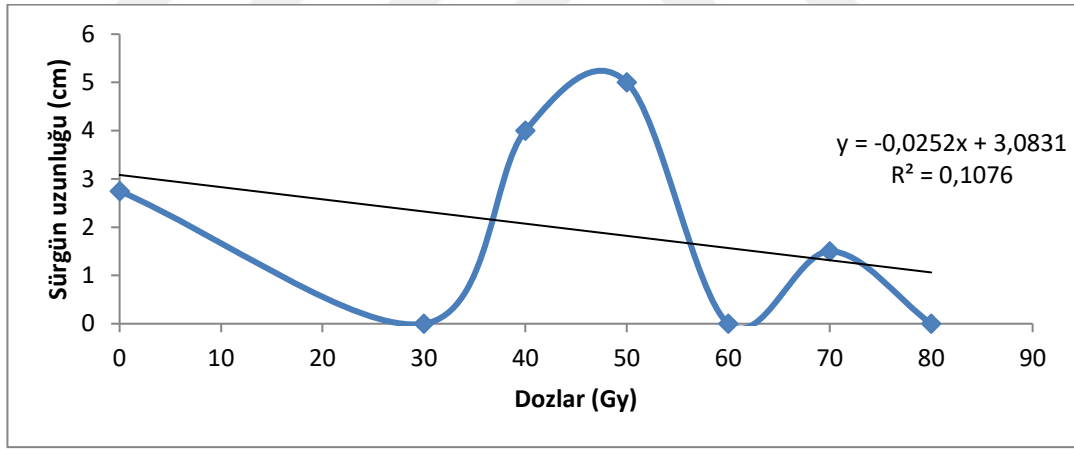
4.1. Etkili Mutagen Dozunun Belirlenmesi

4.1.1. Moro portakalı

Moro portakal çeşidinde, aşılama işleminden iki ay sonra EMD'ni belirlenmek için saptanan aşı tutma oranları, sürme yüzdeleri, ortalama sürgün boyları, etkili mutagen dozu ve aşı gözlerinin nem oranı (%) Çizelge 4.1'de ve Şekil 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Moro portakal çeşidine uygulanan farklı gama ışını dozlarının, aşı tutma ve sürme oranları ile ortalama sürgün boyu üzerine etkileri, EMD ve nem oranı

Uygulanan Doz (Gy)	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürme Oranı (%)	Ortalama Sürgün Boyu (cm)	EMD (Gy)	Nem Oranı (%)
Kontrol	53.33	10	2.75	67.78	45.45
30	20.00	0	0		
40	33.33	0.25	4		
50	20.00	5	5		
60	20.00	0	0		
70	26.00	5	1.5		
80	13.33	0	0		



Şekil 4.1. Moro portakal çeşidine ait EMD

Daha önce portakallarda aşı gözü kullanılarak yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmalarında EMD'nun çeşitlere göre 40-100 Gy arasında olduğu görülmüştür. Moro portakalında saptanan EMD diğer renkli portakallarda doku kültüründe saptanan EMD dozuna göre değeri daha yüksektir.

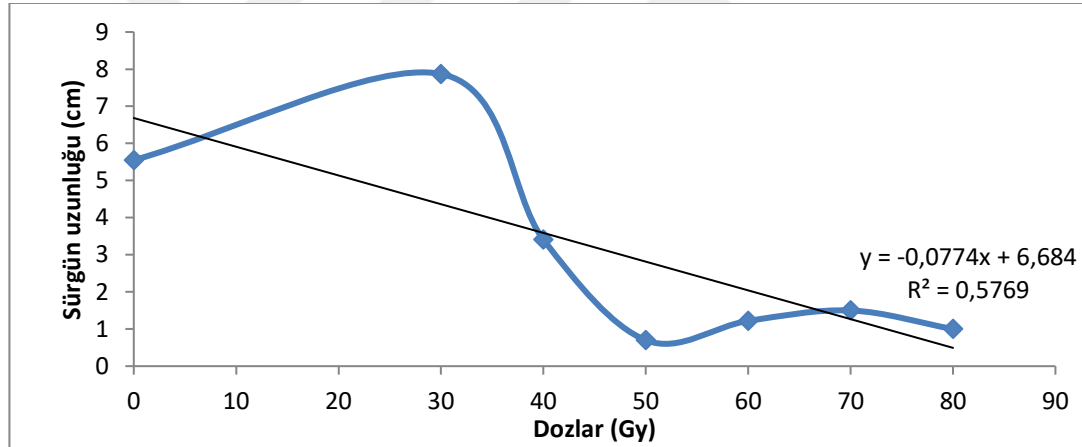
Elde edilen bulgular Spiegel-Roy ve Padova (1973), Tang vd. (1993), Tang vd. (2008), Tang vd. (2012), Rattanpal vd. (2019) ve Caruso vd. (2016)'nın çalışma sonuçlarıyla uyumludur.

4.1.2. Interdonato limonu

Interdonato limon çeşidinde etkili mutagen dozunun belirlenmek için aşlamadan 2 ay sonra saptanan aşı tutma oranları, sürme yüzdeleri, ortalama sürgün boyları, etkili mutagen dozu ve aşı gözlerinin nem oranı (%) Çizelge 4.2’de ve Şekil 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Interdonato limon çeşidine uygulanan farklı gama ışını dozlarının, aşı tutma ve sürme oranları ile ortalama sürgün boyu üzerine etkileri, EMD ve nem oranı

Uygulanan Doz (Gy)	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürme Oranı (%)	Ortalama Sürgün Boyu (cm)	EMD (Gy)	Nem Oranı (%)
Kontrol	60.00	45	5.55	50.50	58.06
30	65.00	20	7.87		
40	60.00	55	3.41		
50	45.00	25	0.7		
60	45.00	40	1.22		
70	40.00	15	1.5		
80	35.00	5	1		



Şekil 4.2. Interdonato limon çeşidine ait EMD

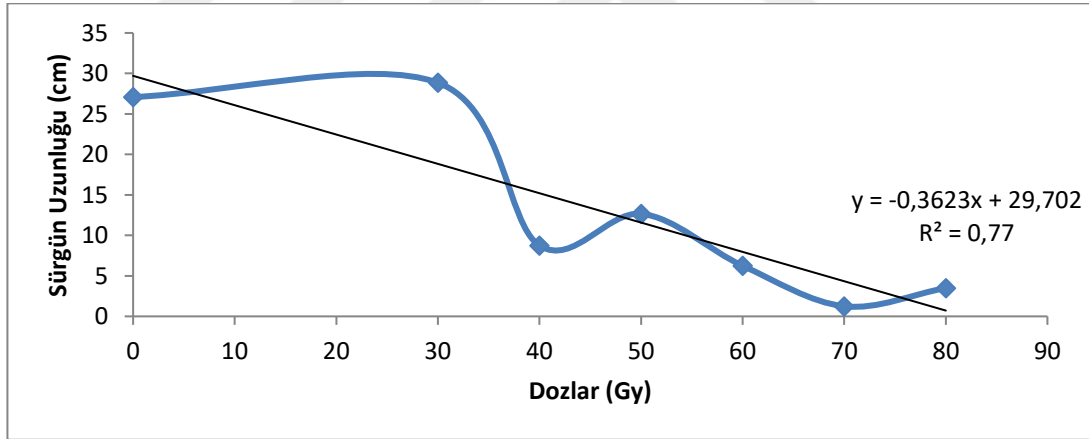
Daha önce limonlarda aşı gözü kullanılarak yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmalarında EMD’nun çeşitlere göre 20-78 Gy arasında olduğu görülmüştür (Latado vd. 2012). Çalışmada Interdonato limon çeşidine ait çeliklerin nem oranları % 58.06 ve EMD 50.50 Gy olarak bulunmuştur. Elde edilen bulgular Spiegel-Roy vd (1985)’nin Villafranca limon çeşidinde ve Gülsen vd. (2007)’nin Kütdiken limon çeşidinde EMD 50 Gy olarak saptandığını bildiren çalışmalarıyla uyumludur. Starrantino vd (1988) tarafından çiçeklenmeden 120 gün sonra ışınlatılan küçük meyvelerin tohumlarında EMD 20-40 Gy arasında olduğu, Tuzcu vd. (1995) tarafından Kütdiken limonu çeşidinin aşı gözlerinde EMD 78 Gy ve Kaur vd. (2015) tarafından Kaba limon çeşidi epikotil segmentlerinde EMD 35 Gy olarak bildirilen çalışmalardan farklıdır.

4.1.3. Meksika laymı

Meksika laymı çeşidine ait etkili mutagen dozunun belirlenmesinde Kobalt-60 kaynağından gama ışını uygulamasından 2 ay sonra saptanan aşı tutma oranları, sürme yüzdeleri, ortalama sürgün boyları, etkili mutagen dozu ve aşı gözlerinin nem oranı (%) Çizelge 4.3’ de ve Şekil 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Meksika Laymı çeşidine uygulanan farklı gama ışını dozlarının, aşı tutma ve sürme oranları ile ortalama sürgün boyu üzerine etkileri, EMD ve nem oranı

Uygulanan Doz (Gy)	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürme Oranı (%)	Ortalama Sürgün Boyu (cm)	EMD (Gy)	Nem Oranı (%)
Kontrol	35.00	30	27.08	44.61	51.43
30	60.00	50	28.85		
40	30.00	10	8.75		
50	20.00	10	12.66		
60	20.00	10	6.25		
70	15.00	10	1.25		
80	15.00	20	3.5		



Şekil 4.3. Meksika laym çeşidine ait EMD

Meksika laymı çeşidinde EMD değeri portakal ve limon çeşitlerine göre daha düşük saptanmıştır. Bu durum soğuğa dayanım ile izah edilebilir. Çünkü soğuğa en hassas Meksika laymı iken bunu sırasıyla limon ve portakal takip etmektedir. EMD değerinin en yüksek portakalda olurken bunu sırasıyla limon ve Meksika laymının takip etmesi bu fikri desteklemektedir.

Tang (2012) tarafından sonbaharda portakal aşı gözleri ile yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmasında gama dozu artıkça hayatta kalma oranının azaldığını bildiren çalışma ile bulgularımız desteklenmektedir.

Turunçgil türlerinde gama ışını uygulaması, türlere göre sürgün uzunluğunu farklı şekilde etkilenmiştir. Toker vd. (2005) tarafından nohut türlerinde gama ışının sürgün uzunluğunu farklı şekilde etkilediğini bildiren çalışma ile uyumludur.

Agisimanto vd. (2016)'ne göre mandarinlerde yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmasında, gama ışının düşük dozlarının kontrol ve diğer doz uygulamalarına göre daha hızlı kalyus oluşumunu ve gelişimini sağladığını bildiren çalışma ile elde edilen bulgular uyumludur. Gama ışını uygulanan turunçgil türlerine ait çeşitlerde saptanan EMD farklılık göstermiştir.

4.2. Populasyonların Oluşturulması

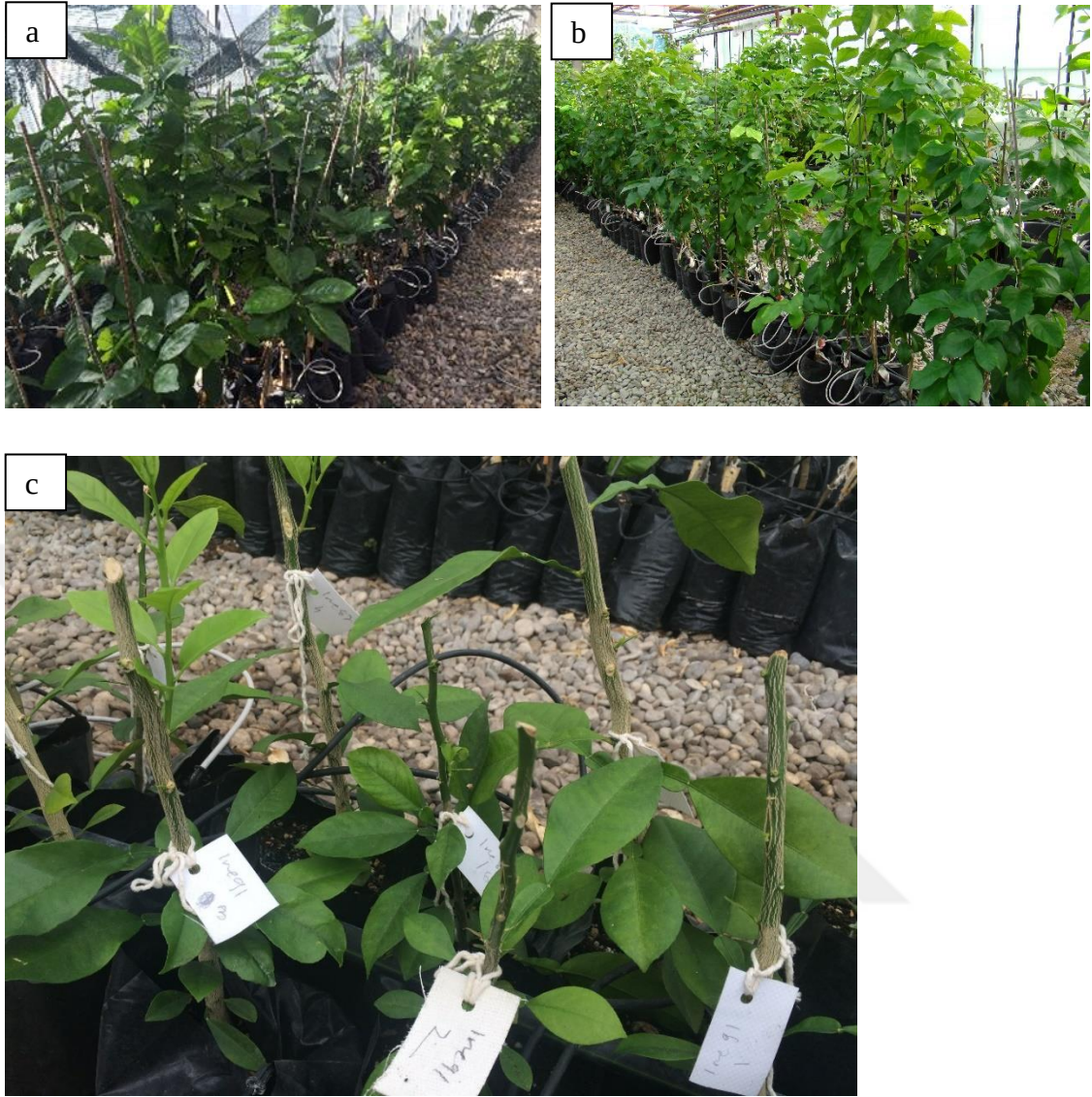
4.2.1. M₁V₁ populasyonu

Gama ışını uygulamasının turunçgil türlerinin aşı tutma ve sürme oranları üzerine etkisinin farklı olduğu belirlenmiştir. Moro portakalı ve Meksika laymı aşı gözlerinin nem oranları ve aşı tutma oranı Interdonato limon çeşidine göre daha düşük saptanmıştır. Nem oranı % 63.33 ile en fazla Interdonato limonunda olurken bunu sırasıyla % 53.57 ile Moro portakalı ve % 52 ile Meksika laymı takip etmiştir. Interdonato limon çeşidinde gama ışını uygulaması aşı tutma ve sürme oranını etkilememiştir (Çizelge 4.4)'de verilmiştir

Çizelge 4.4. M₁V₁ populasyonunda genotiplere göre kontrol ve ışın uygulanmış bireylerin nem, aşı tutma ve sürme oranları

Genotipler	Nem Oranı (%)	Kontrol Bireyleri		Işın Uygulanmış Bireyler		
		Aşı Tutma Oranı (%)	Sürme Oranı (%)	Dozlar	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürme Oranı (%)
Moro portakalı	53.57	98	100	68	90	90
Interdonato imonu	63.33	100	100	50	100	100
Meksika Laymı	52.00	50	50	45	40	38

Gama ışını uygulanmış genotiplerde aşı tutma oranı Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymında sırasıyla % 90, % 100 ve % 40 olarak saptanırken kontrol bireylerinde % 98, % 100 ve % 50 olarak bulunmuştur Şekil 4.4'de portakal, limon ve Meksika laymında M₁V₁ populasyonuna ait görünüm verilmektedir. Araştırma bulgularımızın sonuçları Tang (2008), Tang (2012) tarafından portakallarda yapılan mutasyon ıslahı çalışması ile desteklenmektedir.



Şekil 4.4. M_1V_1 popülasyona ait görünümeler; **a)** Moro portakalı fidanları; **b)** Interdonato limonu fidanları; **c)** Meksika laymı fidanları

4.2.2. M_1V_2 popülasyonu

Mayıs ayı içerisinde yapılan aşılamalarda (Şekil 4.5) bazı bireylerin aşılarının tutmadığı görülmüş ve ekim ayında tekrar aşılamlar yapılmış ve M_1V_2 popülasyonu oluşturulmuştur (Çizelge 4.5) (Şekil 4.6).

Moro portakalı ve Interdonato limonunda Mayıs ve ekim aylarındaki aşı sürme oranları Meksika laymına göre daha yüksek saptanmıştır. Ekim ayında yapılan aşılama havaların soğuması ile beraber büyüme çok yavaşlamış ve Moro portakalında % 59, Interdonato limonunda % 78 ve Meksika laymında aşılarda % 30'u sürmüştür (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Farklı turuncgil türlerine ait çeşitlerde M_1V_2 aşamasındaki aşılarda sürme oranları

Genotipler	Mayıs Ayı		Ekim Ayı	
	Sürme Oranı (%)		Sürme Oranı (%)	
	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler
Moro portakalı	90	86	60	59
Interdonato limonu	100	88	80	78
Meksika laymı	50	47	30	30



Şekil 4.5. Meksika laymı fidanlarına ait görünüm; a) aşı tutmayan birey; b) aşı tutmuş birey; c) aşı tutmuş sürmüş bireyler



Şekil 4.6. M_1V_2 popülasyona ait görünüm; **a)** Moro portakal fidanları; **b)** Interdonato limon fidanları; **c)** Meksika laymı fidanları

Elde edilen bulgular Broertjes ve Van Harten (1988) tarafından yapılan çalışmalar ile desteklenmektedir.

4.2.3. M_1V_3 popülasyonu

M_1V_3 popülasyonlarında en yüksek sürme oranı M_1V_2 'de olduğu gibi Mayıs ayında yapılan aşılardan elde edilmiştir. Ekim ayında havaların soğumasıyla beraber sürme oranı Mayıs ayına göre düşmüştür. Ekim ayında en düşük sürme % 36 Meksika

laymında ve en yüksek ise % 63.89 ile Interdonato limonunda saptanmıştır (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.7).

Çizelge 4.6. Farklı turunçgil türlerine ait genotiplerde M_1V_3 aşamasındaki aşılarda sürme oranları

Genotipler	Sürme Oranı (%)			
	Mayıs Ayı		Ekim Ayı	
	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler
Moro Portakalı	93	83	60.00	54.00
Interdonato Limonu	94	96	86.66	63.89
Meksika Laymı	30	28	36.66	30.50



Şekil 4.7. M_1V_3 popülasyonuna ait bireyler; **a)** Interdonato limonu genotipleri; **b)** Meksika laymı genotipleri; **c)** sera içerisinde görünüm

4.3. M₁V₂ ve M₁V₃ Populasyonlarında İncelenen Ön Seleksiyon Kriterleri

4.3.1. Sürgün boyu (cm)

M₁V₂ aşamasında mayıs ve ekim aylarında yapılan aşılama sonuçlarına göre Moro portakalı genotiplerinde ortalama sürgün boyu, kontrol bireylerinde sırasıyla 11.5 ± 5.18 cm ve 10.30 ± 3.80 cm olarak belirlenirken, gama ışını uygulanan bireylerde sırasıyla 9.97 ± 4.72 cm ve 7.50 ± 2.87 cm olarak belirlenmiştir. Interdonato limonu genotiplerinde ise kontrol bireylerinin ortalama sürgün boyu 12.07 ± 3.70 cm ve 10.10 ± 4.79 cm olarak saptanırken, gama ışını uygulanan M₁V₂ bireylerinde bu oran sırasıyla 9.91 ± 5.37 cm ve 8.16 ± 5.38 cm olarak kaydedilmiştir. Meksika laymı çeşidinde ise kontrol bireylerinin ortalama sürgün boyu sırasıyla 18.25 ± 5.68 cm ve 15.30 ± 5.60 cm, gama ışını uygulanan bireylerde ise 14.24 ± 9.49 cm ve 7.50 ± 2.88 cm olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.7, 4.8).

Çizelge 4.7. M₁V₂ aşamasında süren aşılarla saptanan ortalama sürgün boyları

Genotipler	Ortalama Sürgün Boyu (cm)			
	Ekim Ayı		Mayıs Ayı	
	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler
Moro Portakalı	11.50 ± 5.18	9.97 ± 4.72	10.30 ± 3.80	7.50 ± 2.87
Interdonato Limonu	12.07 ± 3.70	9.91 ± 5.37	10.10 ± 4.79	8.16 ± 5.38
Meksika Laymı	18.25 ± 5.68	14.24 ± 9.49	15.30 ± 5.60	7.50 ± 2.88

Çizelge 4.8. M₁V₃ aşamasında süren aşılarla saptanan ortalama sürgün boyları

Genotipler	Ortalama Sürgün Boyu (cm)			
	Ekim Ayı		Mayıs Ayı	
	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler
Moro Portakalı	7.36 ± 1.59	5.21 ± 4.25	4.86 ± 0.81	5.21 ± 0.46
Interdonato Limonu	7.57 ± 4.08	6.12 ± 5.88	5.68 ± 0.83	6.12 ± 0.43
Meksika Laymı	7.18 ± 3.80	4.52 ± 4.17	7.18 ± 1.02	4.52 ± 0.74

M₁V₃ aşamasında ekim ve mayıs aylarında Moro portakal çeşidine ait genotiplerde kontrol bireylerinde sürgün boyu aylara göre sırasıyla 7.36 ± 1.59 cm ve 4.86 ± 0.81 cm olarak kaydedilmiştir. Buna karşın gama ışını uygulanmış bireylerde sırasıyla 5.21 ± 4.25 cm ve 5.21 ± 0.46 cm olarak belirlenmiştir.

Interdonato limon genotiplerinde kontrol bireylerinde sürgün boyu ekim ve mayıs aylarına göre sırasıyla 7.57 ± 4.08 cm ve 5.68 ± 0.83 cm olarak kaydedilmiştir. Buna karşın gama ışını uygulanmış bireylerde sırasıyla 6.12 ± 5.88 cm ve 6.12 ± 0.43 cm olarak belirlenmiştir.

Meksika laymı çeşidine ait genotiplerin M₁V₃ populasyonu bireylerinde sürgün boyu, kontrol bireylerinde ekim ve mayıs aylarında sırasıyla 7.18 ± 3.80 cm ve $7.18 \pm$

1.02 cm olarak kaydedilmiştir. Gama ışını uygulanan bireylerde ise 4.52 ± 4.17 cm ve 4.52 ± 0.74 cm olarak saptanmıştır (Çizelge 4.6).

Gonzaga vd. (2011) tarafından turuncgil türlerine ait aşı gözlerinde yapılan yapay mutasyon ıslahı çalışmasında gama ışını dozlarının artıkça sürgün boyunun kısaldığını bildiren çalışma bulgularımız uyumludur.

Mutasyon uygulaması sürgün boyunu kontrole göre kısaltmıştır. Benzer şekilde Marasalı vd. (2003) kirazlarda, Kim vd. (1998) Çin lahanasında, Al Salhi vd. (2004) mısırdaki, mutasyon uygulamalarının sürgün boyunu kısalttığını belirtmişlerdir.

4.3.2. Boğum aralığı (mm)

M_1V_2 populasyonu oluşturmak için mayıs ve ekim aylarında yapılan aşılama sonucunda elde edilen bireylerde boğum aralığı Moro portakalı çeşidinde kontrol bireylerinde aylara göre sırasıyla 6.80 ± 3.05 mm ve 7.06 ± 2.22 mm arasında değişim göstermiştir. Buna karşın gama ışını uygulanan bireylerde aylara göre sırasıyla 7.50 ± 3.89 mm ve 8.60 ± 3.45 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.9).

Interdonato limonunda M_1V_2 populasyonu bireylerinde boğum aralığı kontrol bireylerinde aylara göre mayıs ve ekim aylarında sırasıyla 12.47 ± 5.52 mm ve 12.74 ± 9.06 mm olarak saptanmıştır. Gama ışını uygulanan bireylerde ise 9.72 ± 4.11 mm ve 8.87 ± 4.54 mm olarak bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Meksika laymı çeşidinde M_1V_2 populasyonu bireylerinde boğum aralığı mayıs ve ekim aylarına göre sırasıyla kontrol bireylerinde 14.96 ± 4.38 mm ve 7.18 ± 3.80 mm olarak belirlenmiştir. Işın uygulanmış bireylerde ise sırasıyla 11.90 ± 6.86 mm ve 9.13 ± 4.40 mm olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4. 9. M_1V_2 populasyonundaki aşılarda ortalama boğum aralıkları (mm)

Genotipler	Boğum Aralığı (mm)			
	Ekim Ayı		Mayıs Ayı	
	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler
Moro portakalı	6.80 ± 3.05	7.50 ± 3.89	7.06 ± 2.22	8.60 ± 3.45
Interdonato limonu	12.47 ± 5.52	9.72 ± 4.11	12.74 ± 9.06	8.87 ± 4.54
Meksika laymı	14.96 ± 4.38	11.90 ± 6.86	7.18 ± 1.02	4.51 ± 4.17

Çizelge 4.10. M_1V_3 populasyonundaki aşılarda ortalama boğum aralıkları

Genotipler	Boğum Aralığı (mm)			
	Ekim Ayı		Mayıs Ayı	
	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler
Moro portakalı	7.36 ± 1.59	5.21 ± 4.25	5.86 ± 0.81	5.21 ± 0.46
Interdonato limonu	7.57 ± 4.08	6.12 ± 5.88	7.68 ± 0.83	6.12 ± 0.43
Meksika laymı	7.18 ± 3.80	4.52 ± 4.17	7.18 ± 1.02	4.52 ± 0.74



Şekil 4.8. Moro portakalı genotiplerinde boğum aralığı kısalmış bireylere ait görünüm; **a)** Moro portakalı kontrol bireyi; **b)** Moro portakalı genotipi; **c)** Moro portakalı genotipi

M_1V_3 aşamasında saptanan boğum aralığı Moro portakal çeşidine ait genotiplerde kontrol bireylerinde boğum aralığı ekim ve mayıs aylarına göre sırasıyla 7.36 ± 1.59 mm ve 4.86 ± 0.81 mm olarak kaydedilmiştir. Buna karşın gama ışını uygulanmış bireylerde sırasıyla 5.21 ± 4.25 mm ve 5.21 ± 0.46 mm olarak bulunmuştur (Çizelge 4.10) (Şekil 4.8).

Interdonato limon genotiplerinde kontrol bireylerinde boğum aralığı ekim ve mayıs aylarına göre sırasıyla 7.57 ± 4.08 mm ve 7.68 ± 0.83 mm olarak kaydedilmiştir. Buna karşın gama ışını uygulanmış bireylerde sırasıyla 6.12 ± 5.88 mm ve 6.12 ± 0.43 mm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Meksika laymı çeşidine ait genotiplerin M_1V_3 popülasyonu bireylerinde boğum aralığı kontrol bireylerinde ekim ve mayıs aylarına göre sırasıyla 7.18 ± 3.80 mm ve 7.18 ± 1.02 mm olarak kaydedilmiştir. Gama ışını uygulanan bireylerde ise 4.52 ± 4.17 mm ve 4.52 ± 0.74 mm olarak saptanmıştır (Çizelge 4.10).

Araştırma bulgularımızın sonuçlarına göre turuncgil türlerinde gama ışını uygulaması M_1V_2 ve M_1V_3 aşamasındaki mutant adaylarında boğum aralığını etkilemiştir (Şekil 4.8). Kunter vd. (2012), mutasyon ıslahı ile yapılan çalışmalarda, ışın uygulanmış ve radyasyondan etkilenmiş bireyleri, boğum aralığının kontrol bireylerine göre değiştiğini bildirmişlerdir.

4.3.3. Yaprak alanı (cm²)

Turuncgil türlerine ait çeşitlerde M_1V_2 populasyonunda saptanan yaprak alanları değerlendirildiğinde, Interdonato limonunda 57.86 ± 11.08 cm² ile en yüksek yaprak alanına sahip olduğu belirlenmiş ve bunu 26.28 ± 3.32 cm² ile Moro portakalı alanı izlemiştir. En düşük yaprak alanı ise Meksika laymında belirlenmiştir.

Her üç türe ait çeşitlerin M_1V_3 populasyonunda, gama ışını uygulanmış bireylerin ortalama yaprak alanları kontrol bireylerine göre daha düşük değere sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11). M_1V_3 populasyonunda da yaprak alanı bakımından en yüksek değer Interdonato limonu genotiplerinde, en düşük ise Meksika laymında saptanırken Moro portakalı değerleri bu iki tür arasında olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. M_1V_2 aşamasında aşıllarda ölçülen yaprak alanı (cm²)

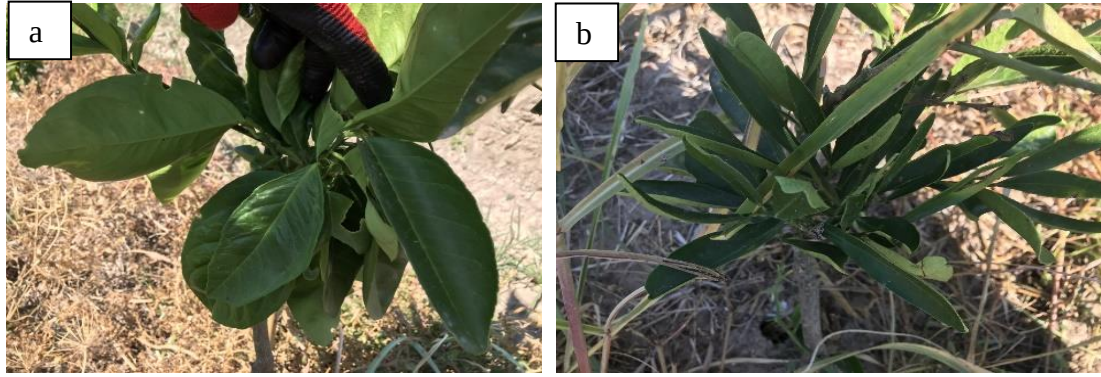
Genotipler	Yaprak Alanı (cm ²)	
	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler
Moro Portakalı	26.28 ± 3.32	15.70 ± 5.25
Interdonato Limonu	57.86 ± 11.08	32.53 ± 11.98
Meksika Laymı	11.63 ± 1.45	9.72 ± 3.97

Tüm turuncgil türlerinde M_1V_2 aşamasında belirlendiği şekilde gama ışını uygulaması genotiplerin yaprak alanlarının kontrol bireylerine göre daha düşük değere sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.12). Moro portakalı genotiplerinde bazı bireylerin yaprak alanının farklı olduğu saptanmıştır (Şekil 4.9).

Çizelge 4.12. M_1V_3 aşamasında aşıllarda ölçülen yaprak alanı (cm²)

Genotipler	Yaprak Alanı (cm ²)	
	Kontrol	Işın Uygulanmış Bireyler
Moro Portakalı	22.21 ± 2.08	17.22 ± 7.0
Interdonato Limonu	64.49 ± 4.2	37.48 ± 15.41
Meksika Laymı	12.77 ± 3.08	11.26 ± 4.13

Benzer şekilde Jain vd. (2000), mutasyon ıslahı çalışmalarında doğal ve yapay mutasyonlar sonucu elde edilmiş yeni çeşitlerin yapraklarında kalınlaşma, küçülme ve şekil değişiklikleri olduğunu bildirmiştir. Buna karşın, Kim vd. (1998) tarafından kırmızıbiberde yapılan mutasyon ıslahı çalışmasında, 16 Gy gama ışını uygulamasının yaprak alanını kontrol bireylerine göre % 44 genişlettiği bildirilmiştir. Bunun nedeni uygulanan gama radyasyonu hücre büyümesini ve gelişimini teşvik etmesinden dolayı kaynaklanabilmektedir (Wang vd. 2017).



Şekil 4.9. Yaprak alanı farklı Moro portakalı genotiplerine ait görünüm; **a)** geniş yapraklı; **b)** dar yapraklı

4.3.4. Normal ve anormal yaprak sayısı (adet)

M_1V_2 aşamasında Moro portakalı genotiplerinde anormal yaprak sayısı 254 adet, Interdonato limonunda 279 adet, Meksika laymında ise 73 adet olarak saptanmıştır. M_1V_3 popülasyonunda ise anormal yaprak sayısı 254 adet, Interdonato limonunda 279 adet. Meksika laymında ise 73 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.13 ve Şekil 4.11).

Çizelge 4.13. M_1V_2 aşamasında aşılarda saptanan normal ve anormal yaprak sayısı

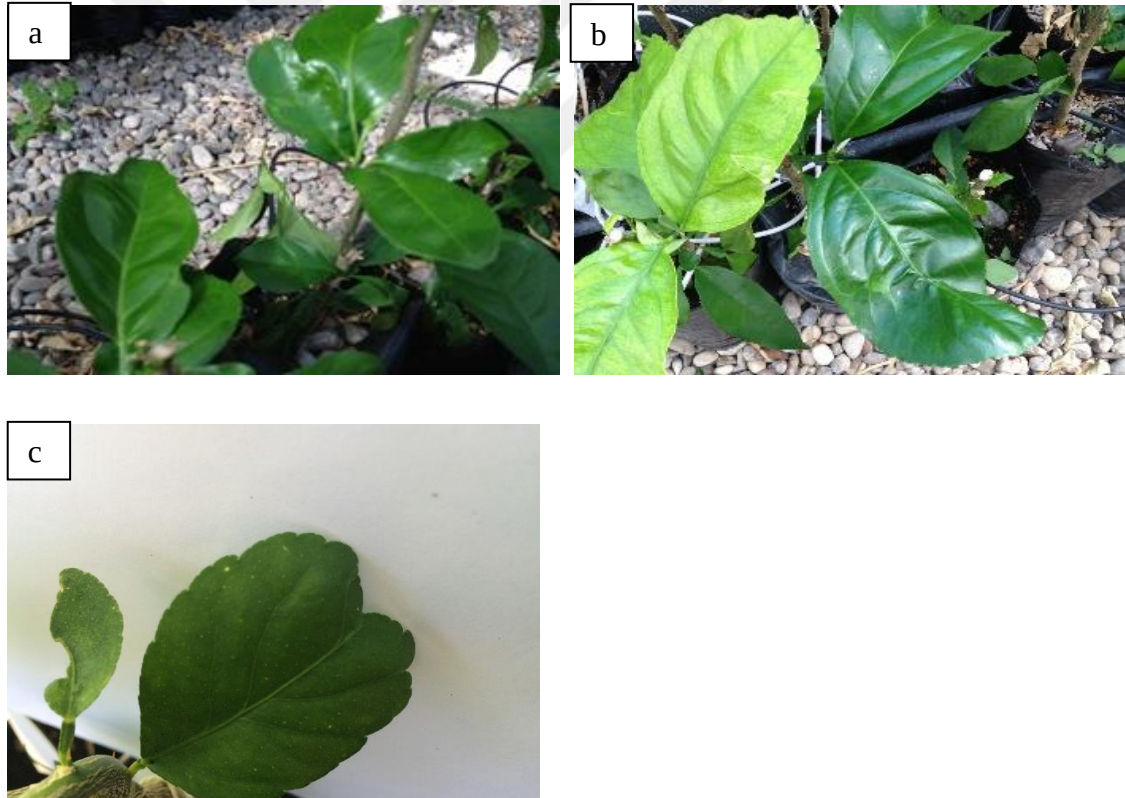
Genotipler	Mayıs Ayı		Ekim Ayı		Toplam Yaprak (adet)
	Normal Yaprak (adet)	Anormal Yaprak (adet)	Normal Yaprak (adet)	Anormal Yaprak (adet)	
Moro Portakalı	2130	160	386	94	2.770
Interdonato Limon	1291	132	962	147	2.532
Meksika Laymı	903	63	48	10	1.024

M_1V_3 aşamasında Moro portakalında anormal yaprak sayısı mayıs ayında yapılan aşılama sonucunda 98 adet, ekim ayında yapılan aşılama sonucunda 79 adet ve bu aşamada toplanan anormal yaprak sayısı 177 adet olarak saptanmıştır. Interdonato limonunda mayıs ayında yapılan aşılama sonucunda 36 adet, ekim ayı aşılama sonucunda 52 adet olmak üzere toplam 88 adet anormal yaprak belirlenmiştir. Meksika laymında ise mayıs ayında yapılan aşılama sonucunda 16 adet, ekim ayında 12 adet anormal yaprak ve toplamda 28 adet olarak bulunmuştur (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.10).

Çizelge 4.14. M_1V_3 aşamasında aşılarda saptanan normal ve anormal yaprak sayısı (adet)

Genotipler	Mayıs Ayı		Ekim Ayı		Toplam Yaprak (adet)
	Normal Yaprak (adet)	Anormal Yaprak (adet)	Normal Yaprak (adet)	Anormal Yaprak (adet)	
Moro Portakalı	822	98	872	79	1.871
Interdonato Limon	862	36	1044	52	1.994
Meksika Laymı	744	16	674	12	1.438

Mutasyon ıslahı çalışmalarında, M_1V_2 ve M_1V_3 populasyonunda normal ve anormal yapraklar oldukça önemlidir. Anormal yaprak, kontrol bireylerinin yapraklarına göre daha küçük, büyük, kalın, farklı renkte ve şekilde olabilmektedir (Şekil 4.10). M_1V_2 populasyonunda anormal yaprakların oluşması bize o bireyin M_1V_1 aşamasında radyasyondan etkilendiği ve etkisinin M_1V_2 ve M_1V_3 aşamasında da devam ettiği konusunda bilgi verebilmektedir. Populasyonlarda farklı renkli genotipler çok kolay ayırt edilebilmektedir. Mutasyon ıslahı ile yapılan bitki ıslahı çalışmalarında düşük fizyolojik zarar ve yüksek mutasyon frekansının oluşması istenmektedir (Çiftci ve Şenay 2005).

**Şekil 4.10.** M_1V_2 populasyonu bireylerine ait anormal yapraklar; **a)** Moro portakalı; **b)** Interdonato limonu; **c)** Meksika laymı

Sonuçlar Hanafy Ahmed vd. (2011) tarafından *Ambrosia maritima* L. bitkisinde yapılan mutasyon ıslahı çalışma sonuçlarıyla uyumludur.

4.3.5. Mutasyon frekansı (%)

M_1V_2 ve M_1V_3 populasyonlarında turunçgil türlerinde saptanan mutasyon frekansları, M_1V_2 populasyonunda M_1V_3 populasyonuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Genelde Meksika laymı genotiplerinde mutasyon frekansı düşük olurken Moro portakalında daha yüksek bulunmuştur. Interdonato limonunda düşük mutasyon frekansı sadece M_1V_2 populasyonlarında saptanmıştır (Çizelge 4.15). Interdonato limonu ve Meksika laymında M_1V_2 populasyonundan M_1V_3 populasyonuna geçildiğinde mutasyon frekansı daha düşük olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.15. M_1V_2 ve M_1V_3 populasyonlarında mutasyon frekansı

Genotipler	Mutasyon Frekansı (%)					
	M_1V_2			M_1V_3		
	Mayıs Ayı	Ekim Ayı	Toplam	Mayıs Ayı	Ekim Ayı	Toplam
Moro portakalı	7.51	22.65	30.16	11.92	9.05	20.95
Interdonato limonu	10.22	9.62	19.84	4.17	4.98	9.15
Meksika laymı	6.97	13.69	20.66	2.15	1.78	3.93

4.4. Mutant Adayı Bireylerin Seçilmesi

Denemenin üçüncü aşamasında, fizyolojik ve biyokimyasal analizleri yapmak için seçilen mutant adayı bireylerin M_1V_2 ve M_1V_3 populasyonundaki fenotopik özellikleri ve mutant frekansları Çizelge 4.16, Çizelge 4.17 ve Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Moro portakalında belirlenen bireyler M-1’den M-10’a, Interdonato limonunda I-1’den I-10’a ve Meksika laymında L-1’den L-10’a kadar numaralandırılmıştır. Şekil 4.11, Şekil 4.14 ve Şekil 4.17’de sırasıyla Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymında kontrol ve mutant bireylerden görünüm vermiştir.

Moro portakalı genotiplerinde M_1V_2 aşamasında ön seleksiyon kriterlerine göre seçilen mutant adayı bireylerin M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında kontrol bireylerine göre farklılıkları Çizelge 4.16 ve Şekil 4.11, 4.12, 4.13’de verilmiştir. Sürgün boyu M_1V_2 aşamasında seçilen genotiplerde kontrolden küçük olarak belirlenmiştir. M_1V_3 aşamasında ise M-3, M-4, M-9 genotipleri kontrole yakın değerlerde olduğu, diğer genotiplerin ise kontrole göre daha düşük değere sahip olduğu saptanmıştır.

Boğum aralığı sürgün boyunda olduğu gibi bazı genotiplerde kontrolden düşük bazılarında daha yüksek olduğu ve M-1, M-3 ve M-4 genotiplerinde ise M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında kontrol bireylerinden daha düşük olarak belirlenmiştir.

Anormal yaprak sayısı bakımından M_1V_2 aşamasında bütün genotiplerin kontrole göre yüksek olduğu, bu anormalliklerin M_1V_3 aşamalarında M-3, M-4 ve M-9 genotiplerinde devam ettiği saptanmıştır.

Yaprak alanı, M_1V_2 aşamasında bütün genotiplerde kontrole göre düşük olduğu, M_1V_3 aşamalarında M-1 ve M-6 genotiplerinde yüksek olarak kaydedilmiştir.

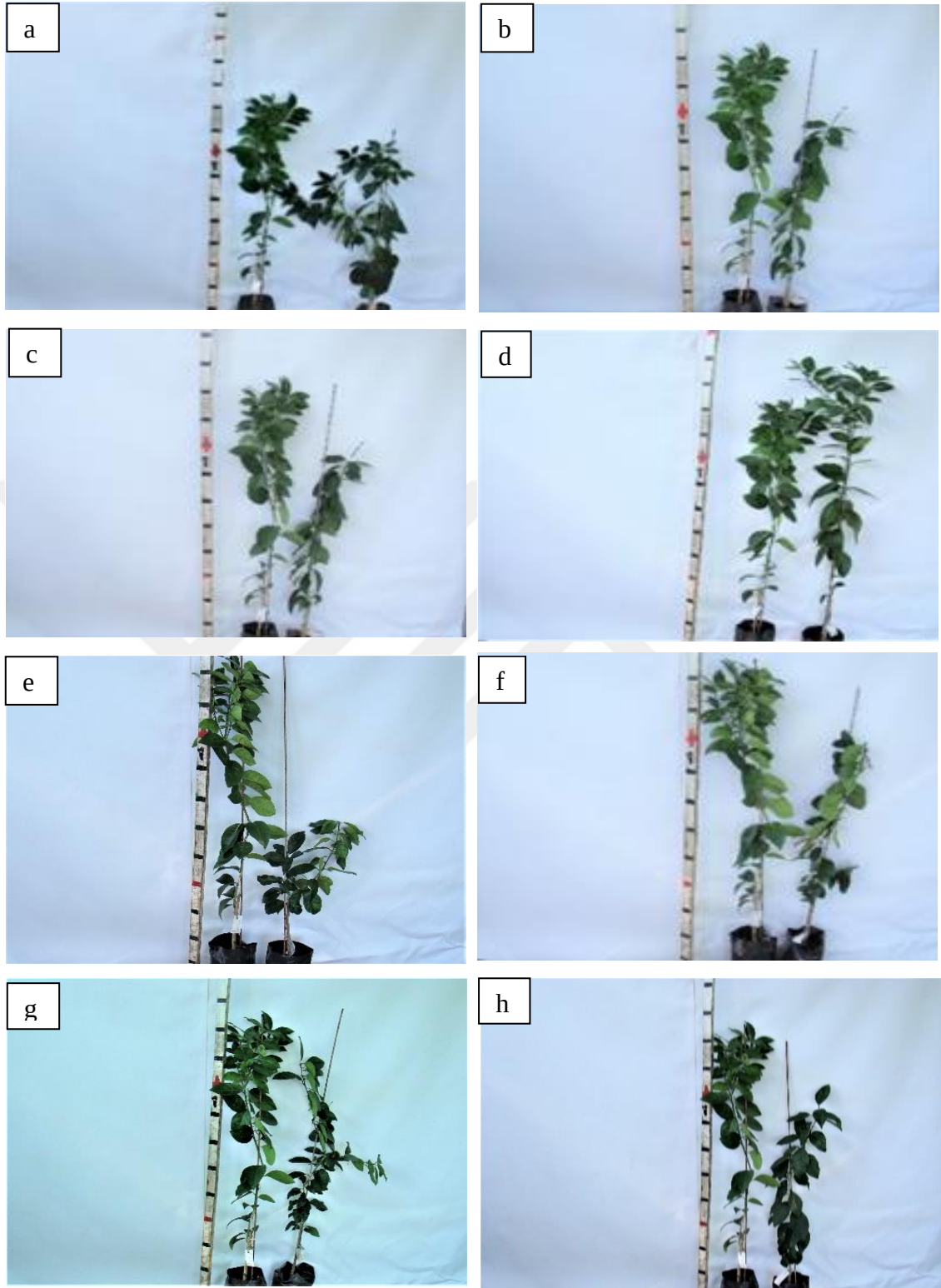
Mutant adayı bireylerin mutant frekansı kontrole göre birçok genotipte yüksek olarak saptanmıştır. Fakat M_1V_3 aşamasında M-2, M-3, M-4 ve M-9 genotiplerinde anormalliklerin devam ettiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.16. Moro portakalı genotiplerinde M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında saptanan fenotopik özellikler ve mutant frekansı

Genotipler	Sürgün Boyu (cm)		Boğum Aralığı (mm)		Anormal Yaprak Sayısı (adet/bitki)		Yaprak Alanı (cm ²)		Mutant Frekansı (%)	
	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3
M-K	17.90	11.86	7.20	5.86	1	-	26.28	21.22	0.00	0.00
M-1	1.00	4.67	2.40	2.33	1	-	18.42	24.22	16.66	0.00
M-2	15.00	4.33	24.30	5.65	1	-	16.22	20.49	10.00	37.5
M-3	5.00	11.00	3.20	6.54	1	3	15.68	21.39	14.28	44.44
M-4	3.00	11.00	4.29	6.68	1	4	18.68	18.03	20.00	7.69
M-5	7.00	4.00	5.50	6.29	2	-	9.10	9.24	8.33	0.00
M-6	13.00	7.33	8.50	6.47	2	-	23.06	23.18	16.66	0.00
M-7	10.00	5.00	9.36	11.40	1	-	13.55	9.24	18.18	0.00
M-8	7.00	2.64	7.95	10.35	2	-	16.57	16.98	11.11	0.00
M-9	8.00	10.00	5.53	7.90	2	2	18.32	16.46	20.00	16.67
M-10	15.00	5.66	8.02	7.84	1	-	7.44	12.98	16.66	0.00



Şekil 4.11. Moro portakalı genotiplerine ait görünüm (soldan sağa kontrol ve mutant adayı bireyler)



şekil 4.12. Moro portakalı genotiplerine ait görünümeler (kontrol ve seçilen mutant adayı bireyler) **a)** M-K ve M-1; **b)** M-K ve M-2; **c)** M-K ve M-3; **d)** M-K ve M-4; **e)** M-K ve M-5; **f)** M-K ve M-6; **g)** M-K ve M-7; **h)** M-K ve M-8



Şekil 4.13. Moro portakalı genotiplerine ait görünüm (kontrol ve seçilen mutant aday bireyler); **a)** M-K ve M-9; **b)** M-K ve M-10

Interdonato limonu genotiplerinde M_1V_2 aşamasında ön seleksiyon kriterlerine göre seçilen mutant aday bireylerin M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında kontrol bireylerine göre farklılıkları Çizelge 4.17 ve (Şekil 4.14, 4.15, 4.16)'de verilmiştir. Sürgün boyu, seçilen genotiplerde kontrolden küçük ve iki genotipte kontrolden büyük (I-5 ve I-5) ya da yakın (I-2) olarak belirlenmiştir. Boğum aralığı sürgün boyunda olduğu gibi bazı genotiplerde kontrolden düşük bazılarında daha yüksek olarak belirlenmiştir. Anormal yaprak sayısı bazı bireylerde kontrol bireylere göre farklı şekillerde olduğu saptanmıştır. Bu anormal yaprakların I-2 ve I-7 genotiplerinde M_1V_3 aşamasında da olduğu belirlenmiştir. Yaprak alanı, sürgün boyu ve boğum aralığında olduğu gibi bazı genotiplerde kontrol bireylerine yakın düşük ya da yüksek olarak kaydedilmiştir. Mutasyon frekansı kontrolde olduğu gibi her iki populasyonda birçok genotipte sıfır olarak saptanmıştır. Buna karşın M_1V_2 aşamasında 4 ve M_1V_3 te ise iki genotipte sıfırın üzerinde kaydedilmiştir. Ayrıca mutasyon frekansı yüksek olan I-2 ve I-7 genotiplerinde M_1V_3 aşamasında mutasyon frekanslarının düştüğü saptanmıştır.

Çizelge 4.17. Interdonato limonu genotiplerinde M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında saptanan fenotopik özellikler ve mutant frekansı

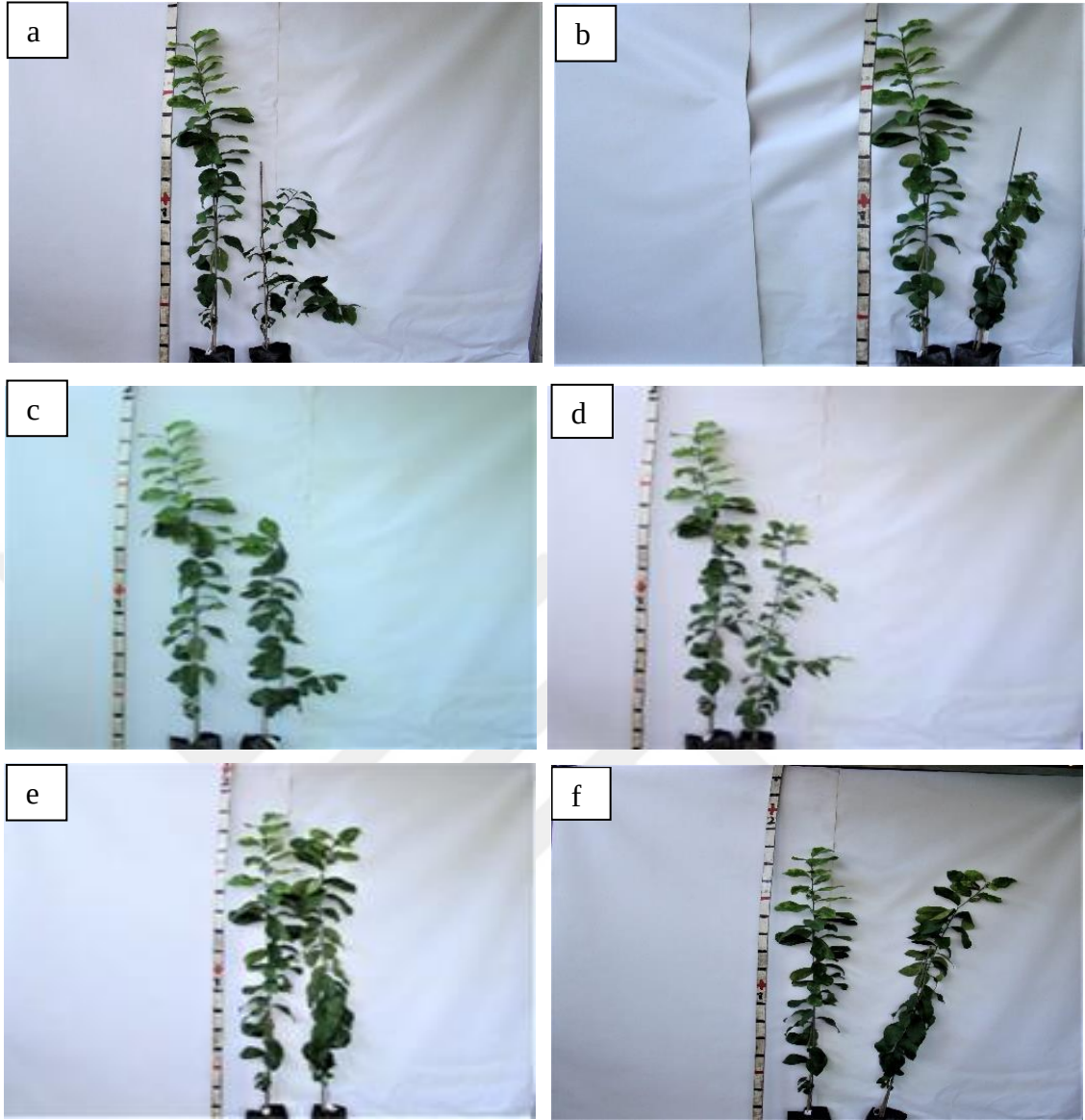
Genotipler	Sürgün Boyu (cm)		Boğum Aralığı (mm)		Anormal Yaprak Sayısı (adet)		Yaprak Alanı (cm ²)		Mutant Frekansı (%)	
	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3
I-K	12.60	12.10	12.60	7.62	-	-	21.22	57.86	0.00	0.00
I-1	3.16	11.50	6.86	15.94	1	-	24.22	22.28	16.66	0.00
I-2	10.00	2.95	10.91	8.04	2	1	20.49	24.02	20.00	11.11
I-3	5.00	1.5	16.50	1.5	-	-	21.39	30.85	0.00	0.00
I-4	4.00	7.66	11.70	9.75	-	-	18.03	34.036	0.00	0.00
I-5	20.00	13.33	10.44	13.98	-	-	9.24	36.82	0.00	0.00
I-6	8.00	6.17	21.16	6.85	2	-	23.18	25.95	20.00	0.00
I-7	1.00	5.18	4.60	5.16	3	1	9.24	39.72	37.50	12.50
I-8	15.00	13.5	4.36	11.05	-	-	16.98	38.63	0.00	0.00
I-9	3.00	7.67	9.73	12.27	-	-	16.46	50.29	0.00	0.00
I-10	3.18	5.66	6.10	6.59	-	-	12.98	22.73	0.00	0.00



Şekil 4.14. Interdonato limonu genotiplerine ait görünüm (soldan sağa kontrol ve mutant adayı bireyler)



Şekil 4.15. Interdonato limonu genotiplerine ait görünüm (kontrol ve seçilen mutant adayı bireyler); **a)** I-K ve I-1; **b)** I-K ve I-2; **c)** I-K ve I-3; **d)** I-K ve I-4;



Şekil 4.16. Interdonato limonu genotiplerine ait görünüm(kontrol ve seçilen mutant adayı bireyler); **a)** I-K ve I-5; **b)** I-K ve I-6; **c)** I-K ve I-7; **d)** I-K ve I-8; **e)** I-K ve I-9; **f)** I-K ve I-10

Meksika laymı genotiplerinde M_1V_2 aşamasında ön seleksiyon kriterlerine göre seçilen mutant adayı bireylerin M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında kontrol bireylerine göre farklılıkları Çizelge 4.18 ve (Şekil 4.17, 4.18, 4.19)'de verilmiştir.

Sürgün boyu, birçok genotipte de kontrolden küçük ve bir genotipte kontrolden büyük (L-10) ya da yakın (L-7) olarak belirlenmiştir.

Boğum aralığı sürgün boyunda olduğu gibi bazı genotiplerde kontrolden düşük bazılarında daha yüksek olarak belirlenmiştir.

Anormal yaprak sayısı bazı bireylerde kontrol bireylere göre farklı şekillerde olduğu saptanmıştır. Yaprak alanı, sürgün boyu ve boğum aralığında olduğu gibi bazı genotiplerde kontrol bireylerine yakın düşük ya da yüksek olarak kaydedilmiştir.

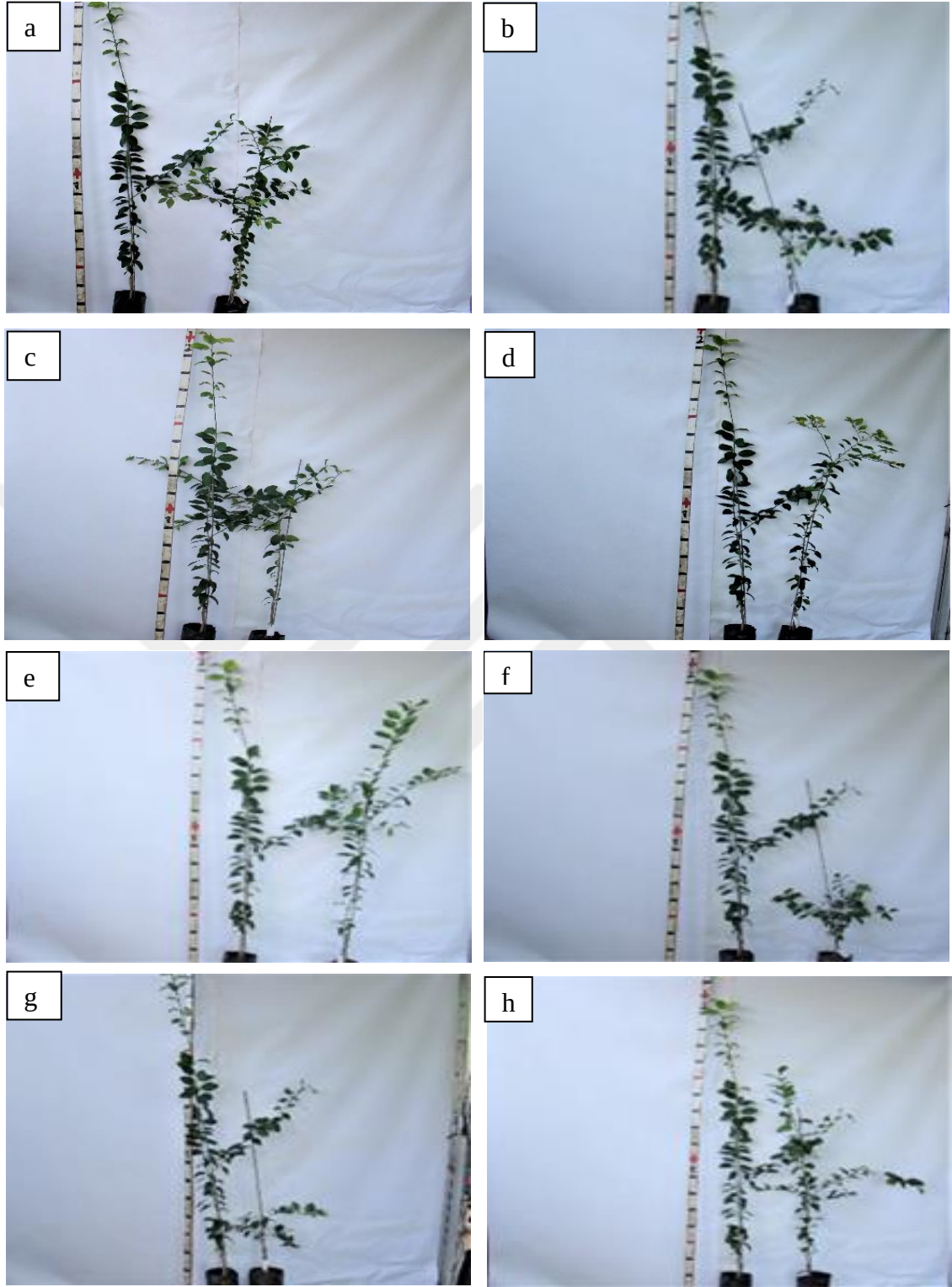
Mutant frekansı kontrolde olduğu gibi her iki populasyonda birçok genotipte sıfır olarak saptanmıştır. Buna karşın M_1V_2 'de 3 ve M_1V_3 'te ise iki genotipte sıfırın üzerinde kaydedilmiştir. Mutant frekansı L-4 ve L-8 genotiplerinde M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında devam ettiği L-3 genotipinde ise M_1V_3 ise fizyolojik zararlanma olmadığı saptanmıştır.

Çizelge 4.18. Meksika laymı genotiplerinde M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında saptanan fenotopik özellikler ve mutant frekansı

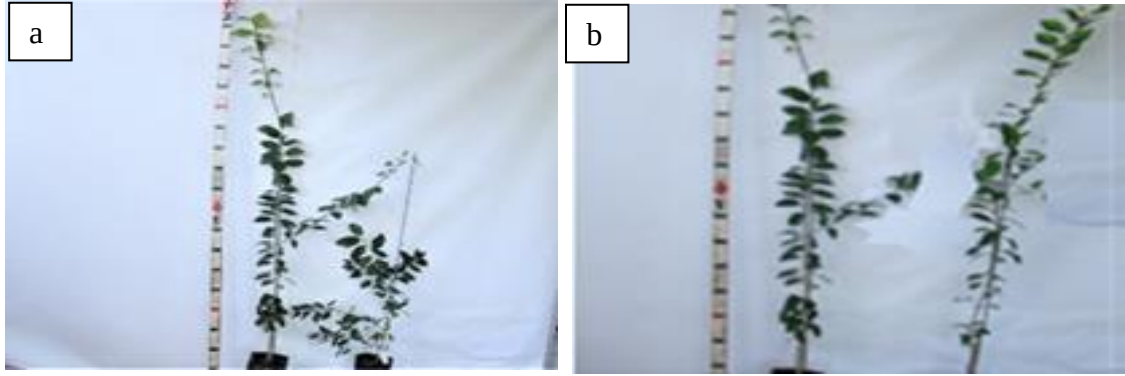
Genotipler	Sürgün Boyu (cm)		Boğum Aralığı (mm)		Anormal Yaprak Sayısı (adet)		Yaprak Alanı (cm ²)		Mutant Frekansı (%)	
	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3
L-K	20.36	7.18	17.32	7.18	-	-	11.63	12.77	0.00	0.00
L-1	16.00	4.66	8.90	5.24	-	-	8.06	8.21	0.00	0.00
L-2	12.00	12.25	8.45	7.49	-	-	7.79	10.16	0.00	0.00
L-3	10.00	12.66	15.82	8.99	2	-	7.59	16.29	28.57	0.00
L-4	12.00	6.50	9.79	4.19	1	1	11.97	9.54	12.50	11.11
L-5	7.00	3.00	13.07	6.37	-	-	8.66	11.65	0.00	0.00
L-6	4.00	2.67	5.92	6.91	-	-	13.91	14.54	0.00	0.00
L-7	20.00	3.67	16.77	5.70	-	-	11.31	15.05	0.00	0.00
L-8	10.00	7.00	10.46	7.02	3	1	7.38	8.43	23.07	12.50
L-9	15.00	4.66	17.36	5.33	-	-	13.30	12.70	0.00	0.00
L-10	21.50	5.00	17.31	5.58	-	-	7.81	10.4	0.00	0.00



Şekil 4.17. Meksika laymı genotiplerine ait görünüm (soldan sağa kontrol ve mutant aday bireyler)



şekil 4.18. Meksika laymı genotiplerine ait görünümler (kontrol ve seçilen mutant adayı bireyler); **a)** L-K ve L-1; **b)** L-K ve L-2; **c)** L-K ve L-3; **d)** L-K ve L-4; **e)** L-K ve L-5; **f)** L-K ve L-6; **g)** L-K ve L-7; **h)** L-K ve L-8



Şekil 4.19. Meksika laymı genotiplerine ait görünüm (kontrol ve seçilen mutant aday bireyler); **a)** L-K ve L-9; **b)** L-K ve L-10

Farklı turunçgil türlerinde EMD göre oluşturulan M_1V_3 populasyonlarında mutant aday bireylerin belirlenmesi çok önemlidir ve çok zor olmaktadır. Bu nedenle M_1V_2 populasyonunda mutant adaylarının belirlenmesi çok önemlidir (Prina vd. 2012; Sarsu vd. 2018). Çünkü bu polulasyonda birey sayısı az olmasından dolayı daha iyi olmaktadır.

4.5. Fizyolojik ve Biyokimyasal Analizler

4.5.1. Yaprak oransal su içeriği (%)

Yaprak oransal su içeriği bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark belirlenmiştir ($P \leq 0.05$).

Gama ışını uygulanmış Moro portakalı genotiplerinin yapraklarında oransal su içeriği % 64.84 ile % 81.13 arasında değişim göstermiştir. En düşük yaprak oransal su içeriği M-9 ve en yüksek M-5 mutant aday bireyde saptanmıştır. M-2, M-4 ve M-7 mutant aday bireyler ise kontrol uygulaması ile aynı istatistiksel grup içerisinde yer almışlardır (Çizelge 4.19).

Interdonato limon çeşidine ait genotiplerde saptanan yaprak oransal su içeriği % 47.43 ile % 72.75 arasında değişim göstermiştir. En düşük oransal su içeriği % 47.43 ile I-10 mutant adayında bulunurken, en yüksek ise % 72.75 ile kontrol bireylerinde bulunmuştur (Çizelge 4.19).

Meksika laymı çeşidine ait kontrol ve mutant aday bireylerin yapraklarında saptanan yaprak oransal su içerikleri istatistiksel olarak farklılık göstermiştir ($P \leq 0.05$).

Genotiplere bağlı olarak değişen yaprak oransal su içeriği % 63.44 (L-5 mutant aday) ile % 76.29 (L-9 mutant aday) arasında değişmiştir (Çizelge 4.19). En yüksek yaprak oransal su içeriği %76.29 ile L-9 mutant adayında, en düşük ise % 63.44 ile L-5 mutant adayında saptanmıştır.

Farklı turunçgil türlerine ait genotiplerin yapraklarında saptanan oransal su içeriklerinin, turunçgil türlerine ve çeşitlerin genotiplerine göre farklılık göstermiştir.

Çizelge 4.19. Farklı turunçgil tür ve çeşitlerine ait genotiplerde yaprak oransal su içeriği

Moro Portakalı Genotipleri	Yaprak Oransal Su İçeriği (%)	Interdonato Limonu Genotipleri	Yaprak Oransal Su İçeriği (%)	Meksika Laymı Genotipleri	Yaprak Oransal Su İçeriği (%)
M-K	74.74 abcd ⁽¹⁾	I-K	72.75 a	L-K	65.88 ab
M-1	67.29 cd	I-1	66.57 ab	L-1	70.61 ab
M-2	72.54 abcd	I-2	66.15 ab	L-2	72.57 ab
M-3	77.74 ab	I-3	58.54 ab	L-3	69.15 ab
M-4	74.32 abcd	I-4	70.97 a	L-4	69.53 ab
M-5	81.13 a	I-5	66.79 ab	L-5	63.44 b
M-6	67.20 cd	I-6	71.74 a	L-6	73.77 ab
M-7	71.07 abcd	I-7	59.71 ab	L-7	68.60 ab
M-8	70.76 bcd	I-8	72.32 a	L-8	64.54 b
M-9	64.84 d	I-9	68.95 ab	L-9	76.29 a
M-10	75.07 abc	I-10	47.43 b	L-10	68.31 ab
LSD (0.05): 10.083		LSD (0.05): 23.516		LSD (0.05): 11.501	

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

Türler arasında en yüksek yaprak oransal su içeriği Moro portakalı genotiplerinde ve en düşük ise Meksika laymı genotiplerinde kaydedilmiştir. Interdonato limon çeşidi ise yaprak oransal su içeriği bakımından Moro portakalı ve Meksika laymı arasında yer almıştır. Araştırma sonuçlarına uygun olarak Yelenosky (1978) turunçgil türlerinin yaprak oransal su içeriğinin türlere göre değiştiğini bildiren çalışmasıyla uyumludur.

Öte yandan türlerde gama ışını uygulaması genotiplerde düzensiz bir yaprak oransal su içeriği dağılımına neden olmuştur. Işın uygulanmış Moro portakalı genotipleri arasındaki yaprak oransal su içeriğinin değişim oranı % 20.08 olarak tespit edilmiştir. Kontrol bireylerine göre M-9 mutant adayında % 13.25 oranında düşüş meydana gelirken, M-5 mutant adayında ise % 8.55 oranında bir artış kaydedilmiştir.

Interdonato limonu ve Meksika laymında kontrol ve genotipler arasında yaprak oransal su içeriği bakımından Moro portakalı genotiplerinde olduğu gibi düzensiz bir dağılım saptanmıştır. Bununla birlikte yaprak oransal su içeriği bakımından kontrole göre % 15.40 oranı ile en düşük değişim Meksika laymında ve % 34.42 ile en yüksek değişim ise Interdonato limonunda saptanmıştır. Cairn vd. (2009) çeltik mutantlarının yaprak oransal su içeriklerini araştırma sonuçlarında olduğu gibi düzensiz bir dağılım gösterdiğini bildirmiştir.

Bitkilerde yaprak oransal su içeriğinin azalması turgor kaybını göstermektedir ve buda büyümenin durmasına neden olmaktadır.

Araştırma sonuçlarına göre gama radyasyonu stresi turunçgil türlerinde hücrelerde yaprak oransal su içeriğinin azalmasına veya artmasına neden olabilecek yapısal değişikliklere neden olmuş olabilir.

4.5.2. Yaprak klorofil içeriği (mg/g)

4.5.2.1 Moro portakalı

Moro portakalı çeşidine ait kontrol ve ışın uygulanmış mutant adayı bireylerden alınan yaprak örneklerinde klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarı belirlenmiş ve Çizelge 4.18’de verilmiştir. Çizelge 4.18’de Moro portakal çeşidine ait kontrol ve gama ışını uygulanmış mutant adayı bireylerde belirlenen klorofil miktarları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Moro portakalı çeşidine ait kontrol genotiplerinde klorofil a miktarı 42.85 mg/g, klorofil b 25.11 mg/g, toplam klorofil miktarı ise 67.46 mg/g olarak saptanmıştır (Çizelge 4.20).

Gama ışını uygulanmış Moro portakalı genotiplerinde klorofil a miktarı 32.58 ile 41.67 mg/g arasında değişim göstermiş ve en düşük klorofil a miktarı ise M-4 ve en yüksek M-7 genotipinde saptanmıştır. Klorofil b miktarının 15.15 ile 25.18 mg/g değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük klorofil b miktarı ise M-4 ve en yüksek M-7 genotipinde belirlenmiştir. Toplam klorofil miktarları ise 47.73 ile 66.86 mg/g değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük toplam klorofil miktarı M-4 ve en yüksek M-7 genotipinde saptanmıştır.

Çizelge 4.20. Moro Portakalı genotiplerinde saptanan yaprak klorofil içeriği

Genotipler	Klorofil a mg/g	Klorofil b mg/g	Toplam Klorofil mg/g	Klorofil a/b
M-K	42.85 a ⁽¹⁾	25.11 a	67.46 a	1.71
M-1	39.86 a	22.62 a	62.48 a	1.76
M-2	39.12 ab	21.47 ab	60.60 ab	1.82
M-3	39.99 a	19.99 ab	59.99 ab	2.00
M-4	32.58 b	15.15 b	47.73 b	2.15
M-5	40.06 a	21.41 ab	61.47 ab	1.87
M-6	38.85 ab	19.66 ab	58.51 ab	1.98
M-7	41.67 a	25.18 a	66.86 a	1.65
M-8	41.34 a	23.90 a	65.24 a	1.73
M-9	38.24 ab	18.58 ab	56.82 ab	2.03
M-10	41.34 a	22.35 ab	63.69 a	1.85
LSD (0.05)	7.032	7.293	13.848	

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

4.5.2.2. Interdonato limonu

Interdonato limon çeşidine ait kontrol ve mutant adayı bireylerden alınan yaprak örneklerinde klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içeriği saptanmış ve Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.21’de Interdonato limon çeşidine ait kontrol ve gama ışını uygulanmış mutant adayı bireylerde belirlenen klorofil miktarları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Interdonato çeşidine ait kontrol genotiplerinin yapraklarında klorofil a

miktarı 36.90 mg/g, klorofil b 17.50 mg/g, toplam klorofil miktarı ise 54.40 mg/g olarak saptanmıştır.

Gama ışını uygulanmış Interdonato limon çeşidine ait mutant adayları bireylerde ise klorofil a miktarı 34.00 mg/g ile 41.20 mg/g değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük klorofil a miktarı I-9 ve en yüksek I-3 mutant adayları bireylerde belirlenmiştir. Klorofil b miktarları 17.30 ile 29.16 mg/g değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük klorofil b miktarı I-10 ve en yüksek I-3 mutant adayları bireyde bulunmuştur. Toplam klorofil miktarı 52.92 mg/g ile 70.36 mg/g değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük toplam klorofil miktarı I-10 mutant adayında ve en yüksek toplam klorofil miktarı ise I-3 mutant adayında saptanmıştır (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Interdonato limon çeşidine ait genotiplerin yaprak klorofil içeriği

Genotipler	Klorofil a (mg/g)	Klorofil b (mg/g)	Toplam Klorofil (mg/g)	Klorofil a/b
I-K	36.90 bdc ⁽¹⁾	17.50 d	54.40 cde	2.11
I-1	39.99 ab	24.24 abc	64.24 ab	1.65
I-2	39.79 abc	23.63 bdc	63.42 abc	1.68
I-3	41.20 a	29.16 a	70.36 a	1.41
I-4	36.02 cd	17.70 d	53.73 de	2.04
I-5	40.40 ab	24.17 abc	64.57 ab	1.67
I-6	38.65 abcd	24.78 ab	63.43 abc	1.56
I-7	39.12 abcd	21.41 bdc	60.53 bcde	1.83
I-8	39.92 ab	22.62 bdc	62.56 abcd	1.76
I-9	34.00 d	18.85 cd	56.22 bcde	1.80
I-10	38.51 ab	17.30 d	52.92 e	2.23
<i>LSD (0.05)</i>	3.823	5.339	9.289	

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

4.5.2.3. Meksika laymı

Meksika laymı çeşidine ait genotiplerden alınan yaprak örneklerinde klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarı belirlenmiş ve Çizelge 4.22’de verilmiştir. Bu çizelgede Meksika laymı çeşidine ait kontrol ve gama ışını uygulanmış genotiplerde belirlenen klorofil miktarları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur .

Meksika laymı çeşidine ait kontrol genotiplerinin yapraklarında klorofil a miktarı 42.56 mg/g, klorofil b miktarı 28.14 mg /g, toplam klorofil miktarı ise 70.70 mg/g olarak saptanmıştır (Çizelge 4.22 ve Şekil 4.20).

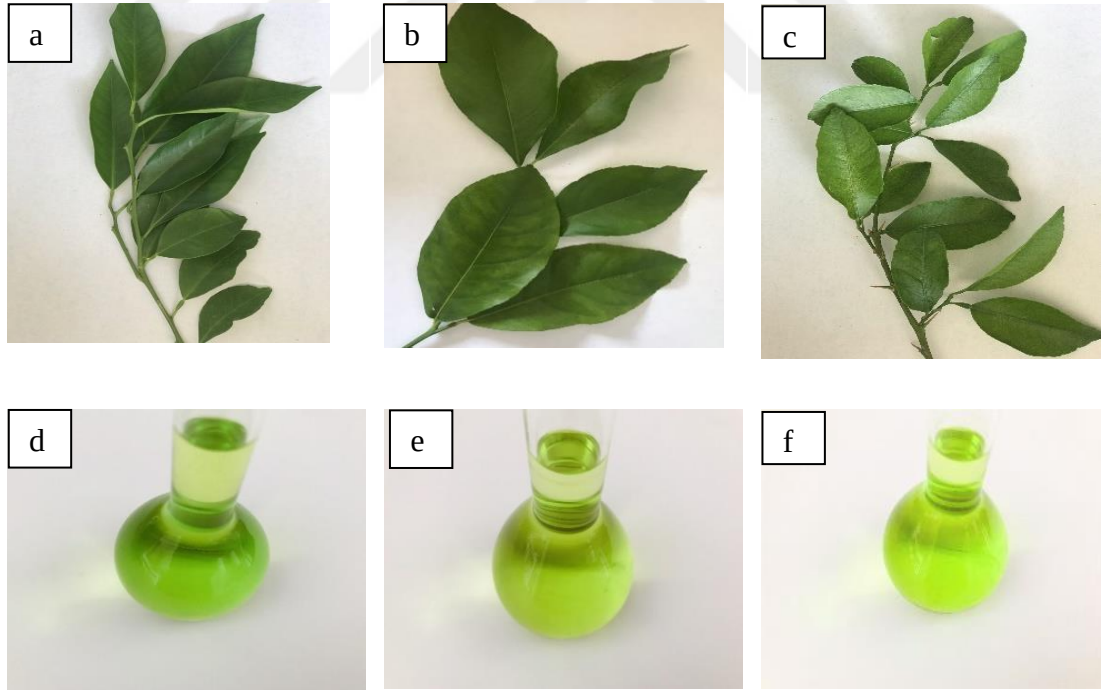
Gama ışını uygulanmış Meksika laymı çeşidine ait genotiplerin yapraklarında klorofil a miktarı 42.56 mg/g ile 45.04 mg/g değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük klorofil a miktarı L-1 mutant adayları bireyinde ve en yüksek L-8 mutant adayları bireyinde belirlenmiştir.

Klorofil b miktarı 23.36 ile 31.44 mg/g değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük klorofil b miktarı L-9 ve en yüksek I-3 genotipinde belirlenmiştir. Toplam klorofil miktarı 66.80 ile 76.49 mg/g değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük toplam klorofil miktarı L-9 ve en yüksek L-8 genotipinde olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.22)

Çizelge 4.22. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerin yaprak klorofil içeriği

Genotipler	Klorofil a (mg/g)	Klorofil b (mg/g)	Toplam Klorofil (mg/g)	Klorofil a/b
L-K	42.56 b	28.14 ab	70.70 ab	1.51
L-1	42.56 b	26.33 ab	68.88 ab	1.62
L-2	43.82 b	28.01 ab	71.51 ab	1.56
L-3	42.82 b	25.79 ab	68.61 ab	1.66
L-4	43.23 ab	28.21 ab	71.44 ab	1.53
L-5	42.62 ab	28.21 ab	70.83 ab	1.51
L-6	43.36 ab	27.00 ab	70.36 ab	1.61
L-7	44.71 ab	30.77 a	75.48 ab	1.45
L-8	45.04 a	31.44 a	76.49 a	1.43
L-9	43.43 ab	23.36 b	66.80 b	1.86
L-10	44.71 ab	29.76 ab	74.44 ab	1.50
LSD (0.05)	2.158	7.124	9.093	

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.



Şekil 4.20. Turunçgil türlerine ait kontrol bireylerin yaprak ve klorofil analiz ekstraktına ait görünüm; **a)** Moro portakalı yaprağı; **b)** Interdonato limonu yaprağı; **c)** Meksika laymı yaprağı; **d)** Moro portakalı; **e)** Interdonato limonu; **f)** Meksika laymı

Klorofil miktarı bitkideki yaprak birim alanındaki fotosentetik kapasiteyi ve fotosentez oranını göstermektedir. Klorofil içeriğinin yüksek olması bitkilerin abiyotik stres koşullarına dayanıklılığını arttırdığını belirtilmiştir (Gogoi ve Basumatary 2018).

Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin gama ışını uygulanmış ve uygulanmamış genotiplerinden alınan yaprak örnekleri ile yapılan klorofil içeriği analizi sonucu değerlendirildiğinde Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymı çeşitlerinin yaprak klorofil içeriklerinin farklı olduğu saptanmıştır (Şekil 4.16). Turunçgil türlerinde klorofil içeriğinin farklı olduğunu bildiren Hindistan'da Gogoi ve Basumatary (2018) tarafından farklı turunçgil türlerinde yapılan klorofil analizi sonuçları bizim bulgularımızı desteklemektedir. En yüksek klorofil miktarı Meksika laymı çeşidinde bulunmuş ve onu Moro portakalı ve Interdonato limonu izlemiştir. Khan vd. (2007) ve tarafından yapılan çalışmada limon türünde mandarin ve portakal türlerine göre daha az klorofil içeriği bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırma sonucu da bizim bulgularımızı desteklemektedir.

Gama ışını uygulanmış ve uygulanmamış turunçgil türlerine ait genotiplerin hepsinde klorofil a miktarının klorofil b miktarına göre fazla olduğu belirlenmiştir. Bitkilerde klorofil a ve b miktarı çok önemlidir. Güneş enerjisini kimyasal enerjiye dönüştüren ışık reaksiyonlarında klorofil a doğrudan görev almakta, klorofil b ise fotosentezde görev yapan bir diğer pigmenttir (İşler 2019). Alos vd. (2008), tarafından doğal mutasyon sonucu oluşmuş Negro Navel portakalının meyvelerinin klorofil ve karatonoit birikimlerinin incelenmesi sonucu klorofil yıkımından sonra karatonoit birikiminin gerçekleşmediği ve bununla nedenin mutasyonla karatonoit birikim yapısının kalıcı olarak değiştiğini bildirmişlerdir.

Bitkilerde klorofil a ve b, yüksek bitkilerde 2:1 oranında bulunmaktadır. Bu oran gölge bitkiler için yaklaşık 1.6-2.2 arasında değişim gösterirken, günlük maksimum güneş ışığına maruz kalan bitkilerde 2.6-2.4, tamamen yeşil yapraklarda ise yaklaşık 3 oranında olduğu ve bu oranın bitkinin fizyolojik durumuna bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir. Araştırma bulgularımız farklı turunçgil türlerine ait genotiplerin tümünde klorofil a/b oranının gölge bitkileri için verilen oran ile uyumlu olduğu bulunmuştur (Gogoi ve Basumatary 2018).

Turunçgil türlerine göre klorofil a değişim oranı değerlendirildiğinde, Moro portakalı, Interdonato limonu, Meksika laymı genotiplerinde sırasıyla % 27.90, % 21.17 ve % 5.05 olarak belirlenmiştir. Klorofil b değişim oranı sırasıyla % 66.20, % 68.55 ve % 34.58, toplam klorofil değişim oranı ise % 40.07, % 14.50 ve % 22.01 olarak belirlenmiştir. En yüksek klorofil a değişim oranı Moro portakalı ve en düşük değişim oranı Meksika laymı çeşidine ait genotiplerin yapraklarında belirlenmiştir.

Klorofil b değişim oranı, klorofil a'da olduğu gibi yine en yüksek Moro portakalı ve en düşük Meksika laymı çeşitlerine ait genotiplerin yapraklarında belirlenmiştir.

Gama ışını uygulanan Moro portakalı, Interdonato limonu, Meksika laymı çeşitlerine ait genotiplerin yapraklarında klorofil a değişim oranı sırasıyla % 23.96, % 21.17 ve % 12.68, klorofil b değişim oranı sırasıyla % 33.02, % 68.55 ve % 24.08, toplam klorofil değişim oranı ise % 26.83, % 18.04 ve % 12.66 olarak belirlenmiştir.

Bulgularımız sonucunda, klorofil içeriği gama ışını uygulanmış genotipler arasında düzensiz bir dağılım göstermiştir. Kısaca gama ışını uygulaması, farklı turuncgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinin yapraklarında farklı miktarda klorofil birikimine neden olduğunu söyleyebiliriz.

Ling vd. (2008) tarafından doku kültüründe yetiştirilen portakal bitkiciklerinde yaptıkları mutasyon ıslahı çalışmasında portakallarda kontrol bireylerinde toplam klorofil miktarının 5.70 ± 1.68 mg/g YA, 40 ve 50 Gy dozunda gama ışını uygulanan bireylerde sırasıyla 2.33 ± 1.59 mg/g YA, 1.32 ± 1.03 mg/g YA olarak bulduklarını, düşük dozların klorofil miktarını değiştirmediğini bildirmişlerdir. Bu araştırmada olduğu gibi bazı genotiplerimizin klorofil miktarları kontrol bireyleriyle aynı seviyede olduğu belirlenmiştir.

Mutasyon ıslahı ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda bitkilerde radyasyonun klorofil miktarını değiştirildiği saptanmıştır (Iglesias-Andreu ve Sortino 2007; Kusaba vd. 2007; Ling vd. 2008; Ling vd. 2013; Zhongfeng vd. 2017; Özbek ve Dalkılıç 2017).

Kara Özbek ve Dalkılıç (2017) tarafından Nagami kamkatında yapılan mutasyon ıslahı çalışmasında gama radyasyonu uygulanan bireylerde kontrol bireylerine göre klorofil miktarının daha düşük olduğu ve doz oranına göre düzensiz bir dağılım gösterdiğini bildiren çalışması ile Moro portakalı genotiplerinden elde edilen sonuçları desteklemekte fakat Interdonato limonu ve Meksika laymı genotiplerinde kontrol bireylerine göre bazı bireylerin daha yüksek klorofil içeriğini elde edilmesi sonuçları ile farklı olduğu saptanmıştır. Bunun nedeni gama radyasyonun Interdonato limonu ve Meksika laymında Moro portakalına göre daha düşük dozlarda uygulanmasından dolayı düşük dozların hücre bölünmesi ve gelişimini teşvik etmesi ve klorofil pigment sayısını artırması (Wand vd. 2012; Kebeish vd. 2018) veya Vieira vd. (2016) tarafından yapılan mutasyon ıslahı çalışmasında olduğu gibi klorofil içeriği yüksek olan bireyler gama ışını uygulaması ile tetraploit bireyler olmuş olabilir .

Zhongfeng vd. (2017) tarafından fasulyelerde, Fu vd. (2008) tarafından buğdaylarda yapılan mutasyon ıslahı çalışması radyasyon dozu arttıkça toplam klorofil miktarında düşüşler olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde Alikamanoglu vd. (2010) tarafından soya fasulyesi (*Glycine max* L.Merrill) tohumlarında yapılan mutasyon ıslahı çalışmasında 400 Gy ve 500 Gy dozlarında toplam klorofil düşüşü sırasıyla % 81.36 ve % 80.91 olduğu bildirmişlerdir. Pavlonia bitkisinin nodülleri ile yapılan mutasyon ıslahı çalışması sonucu 25 Gy gama ışının bitkilerde klorofil miktarını kontrol bireylerine göre düşürdüğü ve klorofil a, klorofil b ve toplam klorofilde sırasıyla düşüş miktarının % 34.69, % 33.33 ve % 35.21 olduğu belirtilmiştir (Alikamanoglu vd. 2007). Bu çalışmalar Moro portakalı çeşidinde diğer türlere göre daha yüksek dozda uygulanan gama ışını dozunun genotiplerin klorofil miktarlarının kontrole göre daha düşük olmasının nedenini açıklamaktadır.

Mutasyon ıslahı çalışmalarında klorofil içindeki düşüşlerin yanı sıra bazı çalışmalarda artışların olduğu belirtilmiştir. Hayashi ve Kawashima (1982) tatlı patateslerde mutasyon ıslahı çalışmasında düşük dozlarda gama ışınlarının klorofil sentezini arttırdığını; Hegazi ve Hamideldin (2010) bamya (*Abelmoschus esculentus* L.) bitkisi tohumlarında 500 Gy gama radyasyonunun klorofil içeriğini arttırdığını; Ling vd. (2013) çeltikte 40 Gy gama ışının klorofil içeriğini arttırdığını bildirmişlerdir. Bu da bazı

Interdonato limonu ve Meksika laymı genotiplerinde klorofil içeriğindeki artışı açıklamaktadır.

4.5.3. Yapraklarda toplam çözünebilir protein içeriği (%)

Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerde kontrol ve gama ışını uygulanmış mutant adayı bireylerin yapraklarında saptanan toplam çözünebilir protein içerikleri Çizelge 4.23'de verilmiştir. Yaprak toplam çözünebilir protein içeriği (YTÇPİ) bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Gama ışını uygulanmış Moro portakalı mutant adaylarının yapraklarında toplam çözünebilir protein içeriği % 9.32-19.32 arasında değişim göstermiştir. En düşük yaprak toplam çözünebilir protein içeriği M-4 ve en yüksek M-10 mutant adayında saptanmıştır. M-7, M-8 genotipleri kontrol uygulamasıyla aynı grupta yer almıştır. Mutant adayı bireylerin yapraklarındaki toplam çözünebilir protein içeriğinin kontrole göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.23).

Interdonato limon çeşidine ait mutant adayı bireylerden ve kontrolden alınan yaprak örneklerinde toplam çözünebilir protein içeriği belirlenmiştir (Çizelge 4.23). Gama ışını uygulanmış Interdonato limon mutant adayı bireylerin toplam çözünebilir protein içeriği % 9.77-13.18 arasında değişim göstermiş ve en düşük toplam çözünebilir protein içeriği I-10 mutant adayında bulunurken, en yüksek I-3 mutant adayında saptanmıştır. Interdonato limon çeşidine ait kontrol bireylerin yapraklarında toplam çözünebilir protein içeriği % 9.72 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.23. Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinin yapraklarında toplam çözünebilir protein içeriği

Moro Portakalı Genotipleri	YTÇPİ (%)	Interdonato Limonu Genotipleri	YTÇPİ (%)	Meksika Laymı Genotipleri	YTÇPİ (%)
M-K	13.86 de ⁽¹⁾	I-K	9.72 d	L-K	13.76 b
M-1	17.00 bc	I-1	12.46 abc	L-1	13.29 b
M-2	15.01 d	I-2	10.07 d	L-2	15.98 a
M-3	18.17 ab	I-3	13.94 a	L-3	14.11 ab
M-4	9.32 f	I-4	10.44 cd	L-4	14.54 ab
M-5	15.15 cd	I-5	10.77 cd	L-5	14.19 ab
M-6	12.99 e	I-6	13.18 ab	L-6	13.18 b
M-7	13.95 de	I-7	11.22 bcd	L-7	14.17 ab
M-8	14.89 de	I-8	12.39 abc	L-8	13.04 b
M-9	14.97 d	I-9	10.89 cd	L-9	12.77 b
M-10	19.32 a	I-10	9.77 d	L-10	14.52 ab
LSD (0.05): 1.977		LSD (0.05): 2.031		LSD (0.05): 1.944	

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

Meksika laymı genotiplerinde yapraklarda saptanan toplam çözünebilir protein içeriği genotiplere göre istatistiksel olarak farklılık göstermiştir (Çizelge 4.23). Toplam çözünebilir protein içeriği bakımından istatistiksel olarak iki bağımsız ve bir ara grup oluşmuştur. Kontrol, L-1, L-6, L-8 ve L-9 aynı istatistiksel grup içerisinde yer almıştır. En düşük toplam çözünebilir protein içeriği % 12.77 ile L-9 mutant adayında ve en yüksek ise % 15.98 ile L-2 mutant adayında kaydedilmiştir.

Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinin yapraklarında saptanan toplam çözünabilir protein içeriğinin türlere ve genotiplere göre değiştiği Çizelge 4.23'den izlenebilir. Türler toplam çözünabilir protein içeriği bakımından kıyaslandığında, bu değerin en düşük Interdonato limonunda ve en yüksek ise Moro portakalında saptandığı Çizelge 4.23'de görülmektedir. Sang vd. (2017), tarafından portakal ve pomeloda yürüttükleri çalışmada, bulgularımızda olduğu gibi türlere göre toplam çözünabilir protein içeriği bakımından farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir

Tüm türlerde toplam çözünabilir protein içeriği bakımından kontrol ve gama ışını uygulanmış genotipler arasında düzensiz bir dağılım belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde, türlere ve gama dozuna bağlı olarak gama ışını uygulamasının protein miktarını yükselttiği veya düşürdüğü ve ayrıca bitkilerin protein metabolizmasını değiştirdiği saptanmıştır. Nitekim Ling vd. (2008), portakalda kontrol bitkilerinde protein içeriğini 18.32 ± 1.39 mg/g YA olarak belirlerken, 10 Gy ve 50 Gy uygulanan bitkilerde sırasıyla 14.49 ± 4.04 mg/g YA, 21.03 ± 1.82 mg/g YA olarak bildirmişlerdir. Bulgular protein içeriği bakımından bazı genotiplerde Ling vd. (2008) ile uyumlu ve bazılarında ise daha düşük bulunmuştur. Bu durum, araştırmada kullanılan portakal çeşidinin (çeşit bildirilmemiştir) farklılığından kaynaklanabilir. Tür olarak farklı olmakla birlikte, Kiong vd. (2008) tarafından doku kültüründe yetiştirilen *Orthosiphon stamineus* bitkicikleri ile yürütülen mutasyon ıslahı çalışmasında, 10 ve 20 Gy dozlarında toplam protein içeriğinin sırasıyla 39.61 ve 34.00 mg/g olduğu ve doz oranı arttıkça protein miktarının düştüğünü bildirmişlerdir.

Benzer şekilde, Hagberg ve Persson (1968), çeltik ve buğdayda yürüttükleri mutasyon ıslahı çalışmalarında yüksek dozda gama ışını uygulamalarının protein zincirini kırdığının ve bu nedenle toplam çözünabilir protein miktarını düşürdüğünü kaydetmişlerdir. Bununla birlikte soya fasulyesi tohumlarına gama ışını uygulaması sonucu diğer araştırmacıların aksine doz arttıkça protein içeriğinin yükseldiği bildirilmiştir (Alikamanoglu vd. 2010). Bütün bulgular göz önüne alındığında protein miktarının artışı veya düşüşün türlere ve uygulanan gama ışını dozuna göre değiştiğini söyleyebiliriz.

4.5.4. Membran geçirgenliği (%)

Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymına ait kontrol ve ışın uygulanmış mutant aday bireylerin yapraklarında saptanan yaprak membran geçirgenliği değerleri Çizelge 4.24'de verilmiştir. Yaprak mebran geçirgenliği bakımından genotipler arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğu bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Gama ışını uygulanmış Moro portakalı mutant aday bireylerin yapraklarında belirlenen membran geçirgenliği % 11.93 ile 18.86 değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük membran geçirgenliği M-1 ve en yüksek M-10 mutant aday bireyde bulunmuştur. M-2, M-3, M-4, M-5, M-6, M-9 genotiplerinin aynı grupta yer aldığı saptanmıştır (Çizelge 4.24).

Interdonato limonuna ait kontrol bireylerinin yapraklarında membran geçirgenliği (%) 11.22 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.24). Gama ışını uygulanmış mutant aday bireylerin yaprak membran geçirgenliği ise % 10.12 ile % 14.83 değerleri arasında değişim göstermiştir. En düşük yaprak membran geçirgenliği I-1 ve en yüksek I-6 mutant aday bireyde belirlenmiştir (Çizelge 4.24). Gama ışını uygulanmış Meksika laymı mutant

adayı bireylerin yapraklarında saptanan membran geçirgenliği % 12.55 ile 25.60 değerleri arasında değişim göstermiştir. En düşük membran geçirgenliği L-3 ve en yüksek L-7 genotipinde saptanmıştır (Çizelge 4.24). Meksika laymına ait kontrol bireylerin yapraklarında membran geçirgenliği ise % 16.02 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. Turunçgil türlerine ait genotiplerin yaprak membran geçirgenliği

Moro Portakalı Genotipleri	Membran Geçirgenliği (%)	Interdonato Limonu Genotipleri	Membran Geçirgenliği (%)	Meksika Laymı Genotipleri	Membran Geçirgenliği (%)
M-K	12.53 cd	I-K	11.22 bcde	L-K	16.02 abc
M-1	11.93 d ⁽¹⁾	I-1	10.12 e	L-1	13.21 c
M-2	13.18 bcd	I-2	10.71 cde	L-2	14.34 c
M-3	15.00 bcd	I-3	11.20 bcde	L-3	12.55 c
M-4	13.76 bcd	I-4	10.50 de	L-4	21.71 abc
M-5	13.00 bcd	I-5	10.71 cde	L-5	13.47 c
M-6	13.56 bcd	I-6	14.83 a	L-6	21.35 abc
M-7	15.92 ab	I-7	11.95 abcde	L-7	25.60 a
M-8	15.69 abc	I-8	13.75 abc	L-8	24.30 ab
M-9	12.69 bcd	I-9	13.37 abcd	L-9	15.72 bc
M-10	18.86 a	I-10	13.90 ab	L-10	15.94 abc
LSD (0.05): 3.257		LSD (0.05): 3.177		LSD (0.05): 9.71	

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar aynı harflerle gösterilmiştir

Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinin yapraklarında yapılan membran geçirgenliği (%) değerlendirildiğinde, Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymı çeşitlerinin yaprak membran geçirgenliğinin farklılık gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen bulgular Yelonosky (1978) ve Rafie Rad vd. (2017) tarafından yapılan turunçgil türlerinin soğuğa toleranslılık çalışmasında membran geçirgenliklerini belirlediği çalışma ile uyumludur. Hozman (2016) tarafından yapılan çalışma ile de desteklenmektedir.

Abiyotik stres faktörlerinin ilk işareti, özel membranlarda hasar meydana getirmesidir. Stres koşullarında membran geçirgenliği artmakta ve bağl su içeriği azalmaktadır. Membran geçirgenliği, genotiplere göre farklılık göstermektedir (Yılmaz ve Tuna 2011). Wright (2002)'a göre bitkilerde soğuk stresinin hücre zarının geçirgen özelliğini olumsuz yönde etkilemesi sonucunda, hücrelerde aşırı sıvı kaybı ve solgunluğa neden olmaktadır.

Araştırma bulgularımıza göre gama radyasyon stresi uygulanmış her üç turunçgil türüne ait çeşitlerin genotiplerinde membran geçirgenliğinin düzensiz bir dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Gama ışını uygulanmış genotiplerden M-1, I-1 ve L-3 genotiplerinde membran geçirgenliğinin kontrol bireylerine göre sırasıyla %4.79, %9.80 ve %21.66 oranında düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Her üç turunçgil türünde soğuğa toleranslılık durumunu sırası ile Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymı olarak sıralanabilir. Bizim sonuçlarımıza göre ise membran geçirgenliği oranı en yüksek Meksika laymında saptanmış ve bunu Moro portakalı ve Interdonato limonu izlemiştir. Bu verilerden yola çıkıldığında, turunçgillerde soğuğa toleranslılık çalışmalarında bu parametrenin kullanılması uygun görülmemektedir.

4.5.5. Yaprak prolin konsantrasyonu ($\mu\text{mol/g YA}$)

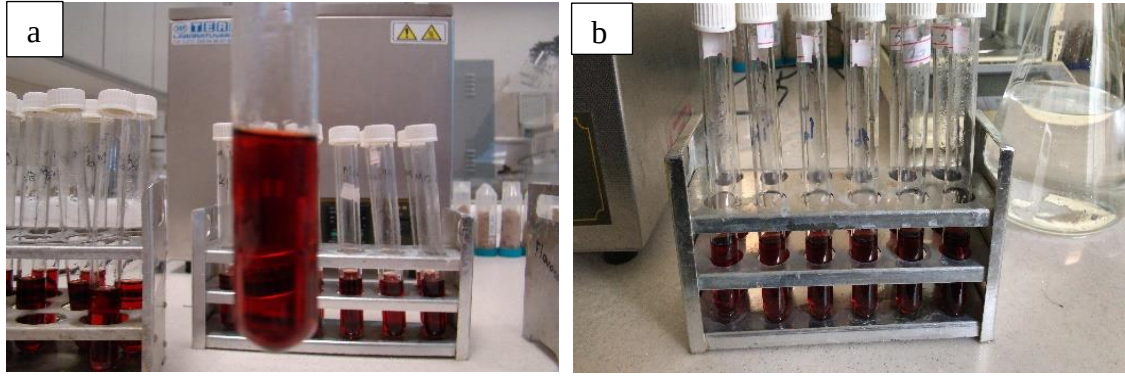
4.5.5.1. Moro Portakalı

Moro portakalı çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarında, yapraklarda saptanan prolin konsantrasyonu değerleri, genotip $\times$ dönem interaksyonu açısından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.25). Interaksiyon açısından prolin konsantrasyonu incelendiğinde, ortalama değerlerin 0.42-8.96 $\mu\text{mol/gYA}$ arasında değişim gösterdiği Çizelge 4.25'te görülmektedir (Şekil 4.21). Prolin konsantrasyonu bakımından en düşük değer, 0.42 $\mu\text{mol/gYA}$ ile M-10 mutant adayında ve en yüksek ise 8.96 $\mu\text{mol/gYA}$ ile M-2 mutant adayında saptanmıştır. Prolin konsantrasyonu bakımından genotipler incelendiğinde istatistiksel olarak bağımsız ve ara grupların olduğu görülmektedir. Genotiplere göre saptanan prolin konsantrasyonları 2.64 ile 5.74 $\mu\text{mol/g YA}$ arasında değişim göstermiştir. En yüksek prolin konsantrasyonu M-2 ve en düşük ise M-5 mutant adayında kaydedilmiştir. Prolin konsantrasyonu aylara göre de istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. Nitekim aylara göre değişmekle birlikte prolin konsantrasyonu 3.23-4.93 $\mu\text{mol/g YA}$ arasında kaydedilmiştir. Aylar dikkate alındığında en düşük değer ocak ayında ve en yüksek değer ise kasım ayında elde edilmiştir. Mart ayında kaydedilen değer ise her iki ayın arasında saptanmıştır.

Çizelge 4.25. Moro Portakalı çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarında saptanan prolin konsantrasyonları

Genotipler	Dönemler			Genotip Ort.
	Kasım	Ocak	Mart	
M-K	3.51 defghı	1.69 ij ⁽¹⁾	4.65 bcdef	3.28 DE
M-1	4.36 bcdefg	4.45 bcdefg	3.44 defghı	4.09 BCD
M-2	8.96 a	5.99 bc	2.96 efghı	5.97 A
M-3	6.53 b	3.17 efghı	4.55 bcdef	4.75 AB
M-4	4.74 bcdef	1.42 ij	2.09 hıgj	2.75 E
M-5	1.42 jı	4.09 cdefgh	2.43 fhıgj	2.64 E
M-6	6.16 bc	3.64 defghı	4.17 cdefg	4.65 ABC
M-7	3.52 defghı	1.84 hıj	2.87 fghıj	2.74 E
M-8	5.77 bcd	4.73 bcdef	5.99 bc	5.50 A
M-9	4.05 cdefgh	1.40 ij	4.62 bcdef	3.36 CDE
M-10	5.25 bcde	3.18 efghı	0.42 j	2.95 DE
Dönem Ort.	4.93 A	3.23 B	3.47 B	
LSD (0.05) dönem: 0.858 LSD (0.05) genotip $\times$ dönem: 2.324 LSD (0.05) genotip: 1.342				

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir



Şekil 4.21. Prolin analizinden görünüm; **a)** Moro portakalı; **b)** portakal genotipleri

4.5.5.2. Interdonato limonu

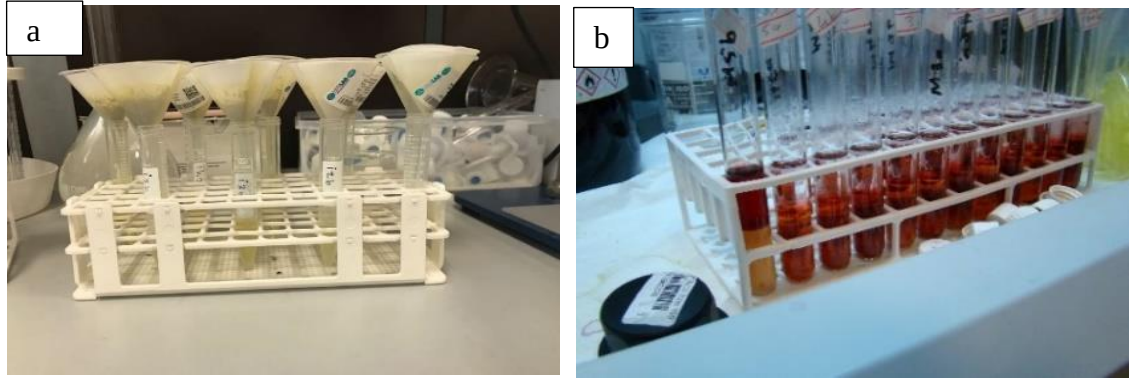
Interdonato limon çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarına ait, yapraklarda saptanan prolin konsantrasyonu değerleri, genotip $\times$ dönem interaksyonu açısından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.26). Interaksiyon açısından prolin konsantrasyonu incelendiğinde, ortalama değerlerin 1.40-8.96 $\mu\text{mol/g}$ YA arasında değişim gösterdiği Çizelge 4.26 ve Şekil 4.22’de görülmektedir. Prolin konsantrasyonu bakımından en düşük değer, 1.40 $\mu\text{mol/g}$ YA ile I-10 genotipinde ve en yüksek ise 8.96 $\mu\text{mol/g}$ YA ile I-3 genotipinde saptanmıştır. Prolin konsantrasyonu bakımından genotipler incelendiğinde istatistiksel olarak bağımsız ve ara grupların olduğu görülmektedir. Genotiplere göre saptanan prolin konsantrasyonları 2.64 ile 5.50 $\mu\text{mol/g}$ YA arasında değişim göstermiştir. En yüksek prolin konsantrasyonu I-1 ve en düşük ise I-5 genotipinde kaydedilmiştir. Prolin konsantrasyonu aylara görede istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. Nitekim aylara göre değişmekle birlikte prolin konsantrasyonu 2.99-5.51 $\mu\text{mol/g}$ YA arasında kaydedilmiştir. Aylar dikkate alındığında, en düşük değer ocak ayında ve en yüksek değer ise kasım ayında elde edilmiştir. Mart ayında kaydedilen değer ise her iki ayın arasında belirlenmiştir.

Çizelge 4.26. Interdonato limon çeşidine ait genotiplerin kasım, ocak ve mart aylarına ait prolin konsantrasyonu

Genotipler	Dönem			Genotip Ort.
	Kasım	Ocak	Mart	
I-K	5.25 bcdef	3.18 fghijk	4.08 cdefgij	4.06 BC
I-1	5.84 bcd	1.69 k	4.65 bcdefgh	3.96 BCD
I-2	5.02 bcdefg	4.45 bcdefgh	2.41 hijk	5.80 A
I-3	8.96 a	5.49 bcde	2.96 ghijk	4.75 AB
I-4	6.53 b	3.16 fghijk	4.55 bcdefgh	2.92 CDE
I-5	4.74 bcdefg	1.92 ijk	2.09 ijk	2.64 E
I-6	4.09 cdefghi	1.42 k	2.43 hijk	4.65 AB
I-7	6.17 bc	3.64 defghij	4.17 jdefghi	2.74 DE
I-8	3.52 efghijk	1.84 jk	2.87 ghijk	5.50 A
I-9	5.77 bcd	4.73 bcdefg	5.99 bc	3.58 BCDE
I-10	4.72 bcdef	1.40 k	4.62 bcdefgh	4.17 BC
Dönem Ort.	5.51 A	2.99 B	4.80 A	

LSD (0.05) dönem: 1.0129 LSD (0.05) genotip $\times$ dönem: 2.248 LSD (0.05) genotip: 1.2982

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir



Şekil 4.22. Prolin analiz sonuçlarına ait görünüm; **a)** süzölmüş örnekler; **b)** Interdonato limonu genotipleri

4.5.5.3. Meksika laymı

Meksika laymı çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarına ait, yapraklarda saptanan prolin konsantrasyonu değerleri, genotip $\times$ dönem interaksyonu açısından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.27). Interaksiyon açısından prolin konsantrasyonu incelendiğinde, ortalama değerlerin 0.84- 6.54 $\mu\text{mol/g}$ YA arasında değişim gösterdiği Çizelge 4.27’ da görölmektedir. Meksika laym genotiplerinde prolin konsantrasyonu diğer türlere göre daha düşük değerde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.23). Prolin konsantrasyonu bakımından en düşük değer, 0.84 $\mu\text{mol/g}$ YA ile L-1 genotipinde ve en yüksek ise 8.96 $\mu\text{mol/g}$ YA ile L-5 genotipinde saptanmıştır. Prolin konsantrasyonu bakımından genotipler incelendiğinde istatistiksel olarak bağımsız ve ara grupların oluştuğu görölmektedir. Genotiplere göre saptanan prolin konsantrasyonları 1.45 ile 4.89 $\mu\text{mol/g}$ YA arasında değişim göstermiştir. En yüksek prolin konsantrasyonu L-2 ve en düşük ise L-9 genotipinde kaydedilmiştir. Prolin konsantrasyonu aylara görede istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. Nitekim aylara göre değişmekle birlikte prolin konsantrasyonu 1.82-4.29 $\mu\text{mol/g}$ YA arasında kaydedilmiştir. Aylar dikkate alındığında, en düşük değer ocak ayında ve en yüksek ise kasım ayında elde edilmiştir.

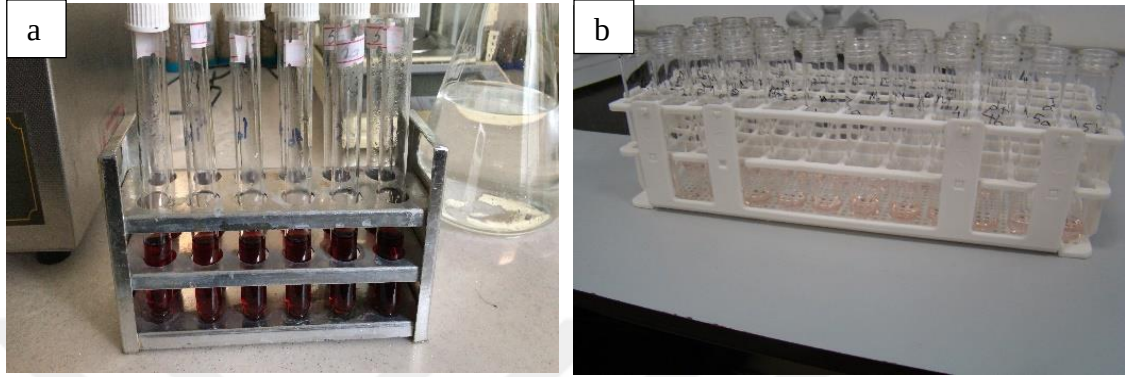
Çizelge 4.27. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerin kasım, ocak ve mart aylarına ait prolin konsantrasyonu

Genotipler	Dönem			Genotip Ort.
	Kasım	Ocak	Mart	
L-K	3.43 hijkl	1.29 no ⁽¹⁾	2.75 jklm	4.20 A ⁽¹⁾
L-1	6.12 abc	0.84 o	5.65 abcd	1.76 DE
L-2	2.51 klmn	0.87 o	1.90 mno	4.89 A
L-3	6.45 ab	1.94 mno	6.28 ab	1.77 DE
L-4	2.25 lmn	1.33 no	1.75 mno	4.76 A
L-5	6.54 a	2.87 ijklm	4.87 cdefg	4.49 A
L-6	5.46 abcde	2.88 ijklm	5.13 cdefg	3.14 BC
L-7	4.22 efghi	1.67 mno	3.54 ghijkl	3.05 BC
L-8	4.38 defgh	3.51 ghijkl	1.25 no	3.29 B
L-9	4.11 efghij	1.98 mno	3.79 fghijk	1.45 E
L-10	1.77 mno	0.85 o	1.73 mno	2.49 CD

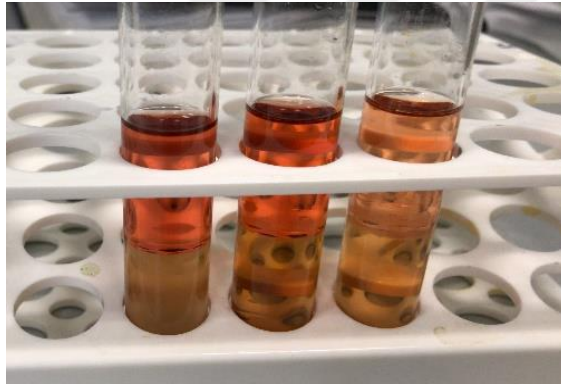
Çizelge 4.27'nin devamı

Dönem Ort.	4.29 A	1.82 C	3.51 B	
<i>LSD (0.05) dönem: 0.557 LSD (0.05) genotip x dönem: 1.360 LSD (0.05) genotip: 0.785</i>				

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir



Şekil 4.23. Meksika laymı prolin analizi sonuçlarına ait görünüm; **a)** aspire edilmemiş örnekler; **b)** Meksika laymı genotipleri



Şekil 4.24. Toluenle aspire edilen turuncgil türlerine ait örneklerden görünüm (Soldan sağa Moro portakalı, Interdonato limonu, Meksika laymı)

Farklı turuncgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinden kasım, ocak ve mart olmak üzere üç farklı dönemde alınan yaprak örneklerinde, bitki prolin konsantrasyonlarının mevsimsel değişimlerine ilişkin araştırma bulgularımızın her üç dönemde gerek çeşit-genotip ve gerekse zamana bağlı olarak değişim gösterdiği saptanmıştır. Moro portakalı genotiplerinde Meksika laymı ve Interdonato limon genotiplerinde göre daha yüksek prolin konsantrasyonu belirlenmiştir (Şekil 4.24). Turuncgil tür ve çeşitlerinde ilgili prolin konsantrasyonu ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Bununla birlikte, bulgular Yelenosky (1979) tarafından yapılan çalışma ile uyumludur. Araştırmacı Star Ruby altıntopu ve Valencia portakalı çeşitlerinin farklı turuncgil anaçları üzerine aşılı fidanlarında soğuğa toleranslılık çalışmasında en yüksek prolin konsantrasyonu Valencia portakalında saptamıştır. Aynı araştırmacının farklı turuncgil çeşit ve anaçlarında soğuk stres ve prolin konsantrasyonu çalışmalarında turuncgil türlerinde soğuk stresinde farklı seviyede prolin biriktiğini ve soğuğa toleranslılık çalışmalarında turuncgillerde türlerin

prolin birikimi ile soğuktan zararlanma arasında bir ilişki olmadığını fakat prolin miktarı ile zararlanma oranı arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda turunçgil türleri arasında soğuğa en hassas türlerden biri olan Meksika laymında prolin birikiminin Moro portakalı ve Interdonato limon genotiplerine göre daha az olduğu saptanmıştır. Turunçgillerde soğuğa toleranslılıkla ilgili yapılan çalışmalarda prolin miktarı ile soğuğa toleranslılık arasında pozitif bir ilişki olduğu saptanmıştır (Kushad ve Yelenosky 1987).

Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymı genotiplerinde dönemsel prolin konsantrasyonları benzerlik göstermiştir. En fazla prolin konsantrasyonu birikiminin kasım ayında, en az ise ocak ayında olduğu saptanmıştır. Bitkilerin soğuğa toleranslığı, soğuk aklımasyonuna bağlı olarak artmaktadır. Kış mevsiminin başlangıcı olan kasım ayında turunçgil fidanları sıcak yaz mevsiminden sonra sıcakların düşmesi ile strese girmekte ve prolin seviyesi yükselmektedir. Analiz sonuçlarına göre ocak ayında farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinde kasım ve mart ayına göre daha az miktarda prolin biriktiği saptanmıştır. Bunun nedeni turunçgil genotiplerinin soğuk aklımasyondan sonra düşük sıcaklıklarda daha az stres yaşamalarından kaynaklanmaktadır. Shao vd. (2008)'e göre tüm canlı organizmalar abiyotik ve biyotik stres karşısında hücrelerinde prolin oksidaz (PROX) enziminin birikimini artırarak ozmotik seviyesini yükselttiğini bildirmiştir. Gama ışını uygulamasının farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinde farklı miktarda prolin birikimine neden olduğu saptanmış ve gama ışını uygulanan genotiplerde genel olarak kontrol genotiplerine göre daha yüksek miktarda prolin biriktiği belirlenmiştir. Bu bulgularımız Beyaz ve Yıldız (2017)'nin yaptığı çalışma ile desteklenmektedir. Araştırmacılar Koçtaş korungasında gama ışını uygulaması çalışmalarında 500 Gy gama ışını uygulanan bireylerde prolin konsantrasyonunun arttığını ve en yüksek prolin konsantrasyonunun elde edildiğini bildirmişlerdir. Tripathy vd. (2011)'e göre birçok bitki türü soğuk strese karşı prolin biriktirmektedir ve bitkilerinde endojen prolin birikimiyle soğuğa toleranslılık arasında pozitif bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Yapılan birçok çalışmada bitkiler soğuk stresinde prolin konsantrasyonunu arttırmaktadır (Yelenosky 1979; Shao vd. 2008; Shvaleva vd. 2008; Gong vd. 2011).

Viera vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada su stresi uygulanmadan önce kontrol Volkemar limonunun diploid ve tetraploid fidanlarında prolin konsantrasyonu sırasıyla $87 \pm 2.5 \mu\text{mol/g KA}$, $99 \pm 4.6 \mu\text{mol/g KA}$ olarak bulunduğu ve su stresinde prolin seviyesinin arttığı fakat genotipler arasında önemli bir farkın belirlenemediği bildirilmiştir. Gama ışını uygulanan genotiplerin dönemlere göre prolin konsantrasyonu değerlendirildiğinde kasım ayında M-5, I-8 ve L-10 mutant adaylarında, ocak ayında M-10, I-10, L-1, mart ayında ise M-10, I-5 ve L-8 mutant adaylarında en düşük seviyede prolin birikimi olduğu saptanmıştır. Bu genotiplerin aynı ekolojik şartlarda diğer genotiplere göre prolin seviyesinin düşük olması soğuk stresinden daha az etkilenebileceğini düşünmemize neden olmaktadır.

4.6. Düşük Sıcaklık (Don) Testleri

Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinde iyon sızıntısı yöntemiyle kasım, ocak ve mart aylarında çeşitlere ait yaprak örneklerinde -2, -5, -8, -11, -14, -17 ve -20°C'de yapay don testleri yapılmıştır. Elde edilen bulgulara göre genotiplerin % zararlanma oranı ve düşük sıcaklık toleransları (LT₅₀) değerleri hesaplanmıştır.

4.6.1. Hücresel membran zararının belirlenmesi (%)

4.6.1.1. Moro portakalı

Moro portakalı çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarına ait, yapraklarda saptanan hücresel membran zararlanma oranları, dönem, genotip $\times$ sıcaklık ve genotip açısından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.28). Dönemler açısından hücresel membran zararlanma oranları incelendiğinde, en düşük hücresel membran zararlanma oranının ocak ayı döneminde olduğu, en yüksek hücresel membran zararlanma oranının ise kasım ayında olduğu Çizelge 4.32’ de görülmektedir. Sıcaklıklara göre hücresel membran zararlanma oranı en düşük değerleri bütün dönemlerde -5°C olduğu, en yüksek zararlanmaların ise -14°C , -17°C , -20°C sıcaklıklarda olduğu belirlenmiştir. Dönemlere göre genotip ortalamalarının hücresel membran zararlanma oranları incelendiğinde genotiplerin ortalama hücresel membran zararlanma oranı % 77.98 ile % 87.74 değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük hücresel membran zararlanma M-5 mutant adayında en yüksek ise M-8 mutant adayında saptanmıştır.

Çizelge 4.28. Moro Portakalı genotiplerinin kasım ayına ait farklı sıcaklıklarda hücresel membran zararlanma oranları (%)

Farklı Sıcaklıklarda Hücresel Membran Zararlanma Oranları (%)								
Kasım Ayı								
Genotipler	Sıcaklıklar							Gen. Ort.
	-2°C	-5 °C	-8°C	-11°C	-14°C	-17°C	-20°C	
M-K	41.45 p ⁽²⁾	32.01 r	97.51 cde	99.48 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.49 D
M-1	54.68 k	38.13 q	86.11 ı	98.62 abcd	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.50 C
M-2	55.64 k	42.04 p	89.69 h	97.91 bcde	100.00 a	100.00 a	100.00 a	83.61 B
M-3	54.53 k	23.59 s	88.76 h	93.74 g	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.09 E
M-4	47.04 mn	44.11 o	83.35 j	99.49 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.00 CD
M-5	40.29 p	36.93 q	96.61 def	99.42 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.89 CD
M-6	41.17 p	32.52 r	99.11 abc	99.20 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.71 D
M-7	48.66 m	46.53 n	98.44 abcd	99.33 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	84.71A
M-8	56.39 k	41.48 p	96.20 a	99.20 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	84.74 A
M-9	48.65 m	36.6 q	84.09 ij	99.71 ab	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.29 D
M-10	51.42 l	32.79 r	89.82 h	95.02 fg	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.29 D
Sıcaklık Ort.	49.08 D ⁽¹⁾	36.97 E	91.79 C	98.28 B	100.00 A	100.00 A	100.00 A	
LSD (0.05) sıcaklık: 0.620 LSD (0.05:genotip x sıcaklık: 2.058 LSD (0.05) genotip: 0.778								

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

⁽²⁾: Student’s t test farklılıkları ayrı harflerle gösterilmiştir.

Ocak ayı döneminde yapılan don testlerinde sıcaklıklara göre hücrel membran zararlanma oranı % 34.22 ile % 100.00 değerleri arasında değişim gösterdiği saptanmış ve en düşük hücrel membran zararlanma -5°C sıcaklıklarda olduğu, en yüksek zararlanmanın ise -14°C, -17°C, -20°C sıcaklıklarda meydana geldiği belirlenmiştir.

Genotiplerin hücrel membran zararlanma oranı % 71.55 ile % 87.74 değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük hücrel membran zararlanma M-5 mutant adayında, en yüksek M-8 mutant adayında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Moro Portakalı genotiplerinin ocak ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%)

Farklı Sıcaklıklarda Hücrel Membran Zararlanma Oranları (%)								
Ocak Ayı								
Genotipler	Sıcaklıklar							Gen. Ort.
	-2°C	-5°C	-8°C	-11°C	-14°C	-17°C	-20°C	
M-K	34.28 uvw	29.07 y ⁽²⁾	71.03 mn	85.50 fg	99.68 a	100.00 a	100.00 a	74.22 DE
M-1	31.91 wxy	37.94 st	67.96 no	76.58 jk	99.89 a	100.00 a	100.00 a	73.47 E
M-2	49.09 qr	30.05 z	87.98 ef	84.38 gh	98.32 ab	100.00 a	100.00 a	78.54 A
M-3	49.51 q	37.92 st	71.69 m	78.71 ijk	99.08 a	100.00 a	100.00 a	76.70 B
M-4	35.72 tuv	36.64 tu	65.17 o	88.95 de	99.98 a	100.00 a	100.00 a	75.20 D
M-5	24.41 z	20.36 z	69.78 mn	86.28 efg	100.00 a	100.00 a	100.00 a	71.55 E
M-6	30.65 xy	46.13 r	88.68 ef	92.15 dc	99.93 a	100.00 a	100.00 a	79.65 A
M-7	31.78 s	30.03 wxy	78.90 ij	95.12 bc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	76.55 BC
M-8	41.18 s	34.46 uvw	79.38 ij	73.05 lm	99.88 a	100.00 a	100.00 a	75.42 CB
M-9	35.84 tuv	53.27 p	75.45 kl	88.59 ef	99.89 a	100.00 a	100.00 a	79.00 A
M-10	32.69 vwx	20.63 z	71.04 mn	81.16 hi	100.00 a	100.00 a	100.00 a	72.21 F
Sıcaklık Ort.	36.09 D ⁽¹⁾	34.22 E	75.18 C	84.58 B	100.00 A	100.00 A	100.00 A	
LSD (0.05) sıcaklık: 0.993 LSD (0.05) genotip x sıcaklık: 3.293 LSD (0.05) genotip: 1.245								

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

⁽²⁾: Student's t test farklılıkları ayrı harflerle gösterilmiştir.

Mart döneminde sıcaklıklara göre hücrel membran zararlanma oranı % 39.31 ile % 100.00 değerleri arasında değişim gösterdiği saptanmış ve en az hücrel membran zararlanma -5°C sıcaklıklarda olduğu, en fazla hücrel membran zararlanmanın ise -14°C, -17°C, -20°C sıcaklıklarda meydana geldiği saptanmıştır.

Genotiplerin hücrel membran zararlanma oranı % 77.50 ile % 84.61 değerleri arasında değişim göstermiş ve en düşük hücrel membran zararlanma M-3 mutant adayında, en yüksek M-7 mutant adayında olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.30).

Çizelge 4.30. Moro Portakalı genotiplerinin mart ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%)

Farklı Sıcaklıklarda Hücrel Membran Zararlanma Oranları (%)								
Mart Ayı								
Genotipler	Sıcaklıklar							Gen. Ort.
	-2°C	-5°C	-8°C	-11°C	-14°C	-17°C	-20°C	
M-K	40.68 nopq	39.30 prq ⁽²⁾	81.73 g	96.80 abcd	96.75 ab	100.00 a	100.00 a	79.79 CD
M-1	48.38 kl	45.85 lm	80.45 gh	93.69 bcde	93.69 b	100.00 a	100.00 a	81.19 BC
M-2	51.93 jk	37.10 rq	66.70 i	93.40 cde	93.40 b	100.00 a	100.00 a	78.45 DE
M-3	44.91 lmn	40.41o pq	76.25 h	81.38 g	81.37 c	100.00 a	100.00 a	77.56 E
M-4	48.45 kl	42.43 mnop	96.28ab cd	92.88 de	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.86 A
M-5	40.82nop q	26.46 st	91.54 e	88.07 f	100.00 a	100.00 a	100.00 a	77.98 E
M-6	55.80 j	26.65 t	99.11 a	90.26 ef	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.54 AB
M-7	51.80 jk	30.55 s	98.44 a	99.34 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.68 AB
M-8	44.12 mno	35.68 r	97.60 abc	98.58 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.28 AB
M-9	41.96 mnop	38.27 prq	96.68 abcd	99.71 ab	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.33AB
M-10	39.58 prq	35.83 r	97.75 ab	99.37 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.79AB
Sıcaklık Ort.	46.22 D ⁽¹⁾	36.14 E	89.27 C	93.76 B	98.28 B	100.00 A	100.00 A	
LSD (0.05)sıcaklık: 1.280 LSD (0.05) genotip x sıcaklık: 4.247 LSD (0.05)genotip: 1.605								

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

⁽²⁾: Student's t test farklılıkları ayrı harflerle gösterilmiştir.

4.6.1.2. Interdonato limonu

Kasım ayında, Interdonato limon genotiplerinde hücrel membran zararlanma oranı üzerine genotip x sıcaklık interaksyonunun etkisi Çizelge 4.31'den izlenebilir. Genotip × sıcaklık interaksyonuna göre en yüksek hücrel membran zararlanma oranı Moro portakalı genotiplerinde olduğu gibi -14°C, -17°C ve -20°C sıcaklıklarda ve en düşük zararlanma oranı -5°C sıcaklıkta bulunmuştur.

Genotiplere göre hücrel membran zararlanma oranları incelendiğinde hücrel membran zararlanma oranları % 76.22 ile % 84.01 değerleri arasında değişmiştir. En yüksek hücrel membran zararlanma oranı I-K mutant adayında ve en düşük I-10 mutant adayında saptanmıştır.

Çizelge 4.31. Interdonato limonu genotiplerinin kasım ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%)

Farklı Sıcaklıklarda Aylara Göre Hücrel Membran Zararlanma Oranları (%)								
Kasım Ayı								
Genotipler	-2°C	-5°C	-8°C	-11°C	-14°C	-17°C	-20°C	Gen. Ort.
I-K	66.38 lm ⁽²⁾	22.74 v	99.70 ab	99.30 ab	100.00 a	100.00 a	100.00 a	84.02 A ⁽¹⁾
I-1	64.14 m	14.37 w	93.71 cde	91.42 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.38 C
I-2	69.19 kl	29.36 ts	93.56 cde	93.56 de	100.00 a	100.00 a	100.00 a	83.83 A
I-3	67.72 klm	44.29 q	95.95 bdec	75.69 j	100.00 a	100.00 a	100.00 a	83.38 AB
I-4	55.46 no	27.02 tu	99.26 ab	92.56 ef	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.05 BC
I-5	51.31 p	24.05 uv	89.39 fg	97.47 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.79 CD
I-6	41.87 q	24.09 uv	92.71 def	94.27 cde	100.00 a	100.00 a	100.00 a	78.99 E
I-7	51.08 p	33.12 rs	97.18 abc	87.04 gh	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.20 CD
I-8	56.43 n	14.62 w	82.49 i	93.26 e	100.00 a	100.00 a	100.00 a	79.08 E
I-9	71.36 k	34.06 r	83.41 hi	97.07 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	83.70 A
I-10	52.11 op	10.13 x	96.65 abcd	76.85 h	100.00 a	100.00 a	100.00 a	79.84 DE
Sıcaklık Ort.	58.82 C	23.35 D	93.20 B	94.24 B	100.00 A	100.00 A	100.00 A	
LSD (0.05)sıcaklık: 1.192 LSD (0.05) genotip x sıcaklık: 3.952 LSD (0.05) genotip: 1.494								

(¹): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(²): Student's t test farklılıkları ayrı harflerle gösterilmiştir

Interdonato limon genotiplerinde ocak ayında yapılan iyon sızıntı test sonuçları incelendiğinde, sıcaklıkların hücrel membran zararlanma oranı üzerine etkisi Moro portakalı genotiplerinde olduğu gibi kasım ayına göre daha az zararlanma olduğu görülmüştür.

Sıcaklıklara göre hücrel membran zararlanma oranı % 28.05 ile % 100 arasında değişim göstermiştir. En yüksek hücrel membran zararlanma oranı -14°C, -17°C ve -20°C'de ve en düşük -5°C sıcaklıkta bulunmuştur.

Genotiplere göre hücrel membran zararlanma oranı değerlendirildiğinde en yüksek hücrel membran zararlanma oranı I-5 (% 79.52) ve en düşük I-7 (% 76.19) mutant adayında belirlenmiştir (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.32. Interdonato limonu genotiplerinin ocak ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%)

Farklı Sıcaklıklarda Hücrel Membran Zararlanma Oranları (%)								
Ocak Ayı								
Genotipler	Sıcaklıklar							Gen. Ort.
	-2°C	-5°C	-8°C	-11°C	-14°C	-17°C	-20°C	
I-K.	53.03 i ⁽²⁾	18.74 m	72.91 fg	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	77.81 BCD
I-1	54.64 i	10.31 opq	82.62 cd	99.52 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	78.23 ABCD
I-2	43.71 l	6.46 q	88.18 b	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	76.91 CDE
I-3	45.09 kl	14.15 no	61.96 de	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	76.90 CDE
I-4	45.37 kl	14.84 mn	78.12 e	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	76.90 CDE
I-5	63.62 h	7.55 q	85.49 bc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	79.52 A
I-6	84.44 h	6.59 q	50.75 h	99.74 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	76.75 DE
I-7	48.61 jk	9.10 pq	52.61 ef	99.50 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	76.19 E
I-8	51.48 ij	10.34 opq	87.13 b	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	78.42 ABCD
I-9	66.75 h	12.60 nop	71.05 g	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	78.63 AB
I-10	46.42 kl	12.86 nop	65.41 bc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	77.95 ABCD
Sıcaklık Ort.	52.96 C ⁽¹⁾	11.23 D	79.40 B	100.00 A	100.00 A	100.00 A	100.00 A	
LSD (0.05) sıcaklık: 1.264 LSD (0.05) genotip x sıcaklık: 4.193 LSD (0.05) genotip: 1.585								

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

⁽²⁾: Student's t test farklılıkları ayrı harflerle gösterilmiştir

Mart ayında yapılan iyon sızıntı testlerinin analiz sonuçları genotip x sıcaklık interaksiyonunu Çizelge 4.27'te incelendiğinde en yüksek % zararlanma oranının Moro portakalı genotiplerinde ve diğer aylarda olduğu gibi kasım ayına göre daha düşük fakat ocak ayına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Sıcaklıklara göre en yüksek % zararlanma oranı -14°C, -17°C ve -20°C'de ve en düşük -5°C'de bulunmuştur. (Çizelge 4.33).

Genotiplere göre % zararlanma oranları bakımından en yüksek % zararlanma oranının I-3 (% 82.83) mutant adayında en düşük ise I-4 (% 73.97) mutant adayında saptanmıştır (Çizelge 4.33).

Çizelge 4.33. Interdonato limonu genotiplerinin mart ayına ait farklı sıcaklıklarda hücrel membran zararlanma oranları (%)

Farklı Sıcaklıklarda Hücrel Membran Zararlanma Oranları (%)								
Mart Ayı								
Genotipler	Sıcaklıklar							Gen. Ort.
	-2°C	-5°C	-8°C	-11°C	-14°C	-17°C	-20°C	
I-K.	55.46 lm ⁽²⁾	17.95 t	96.92 bcd	99.01 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.33 BC
I-1	52.11 no	24.09 r	99.69 ab	99.53 ab	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.20 AB
I-2	60.44 k	25.64 r	94.20 def	97.92 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.60 A
I-3	52.59 mn	32.04 q	96.57 cde	98.63 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.83 A
I-4	40.96 p	10.36 u	73.56 j	92.93 fg	100.00 a	100.00 a	100.00 a	73.97 F
I-5	55.99 l	24.05 r	86.37 h	99.47 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.56 C
I-6	40.42 p	11.75 u	97.49 abc	97.67 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	78.19 D
I-7	50.05 no	9.36 u	94.21 def	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	79.08 D
I-8	46.62 o	24.85 r	87.37 abc	93.26 fg	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.73 C
I-9	60.73 k	11.04 u	90.35 g	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.30 C
I-10	41.79 p	20.93 s	93.96 ef	76.85 i	100.00 a	100.00 a	100.00 a	76.22 E
Sıcaklık Ort.	50.92 D ⁽¹⁾	19.27 E	92.79 C	95.75 B	10.00 A	10.00 A	10.00 A	
LSD (0.05) sıcaklık: 0.883 LSD (0.05) genotip x sıcaklık: 2.929 LSD (0.05) genotip: 1.107								

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

⁽²⁾: Student's t test farklılıkları ayrı harflerle gösterilmiştir.

4.6.1.3. Meksika laymı

Meksika laymı çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarına ait hücrel membran zararlanma oranları Çizelge 4.34'de gösterilmiştir. Bu çizelgeden, kasım ayında genotip × sıcaklık interaksyonun hücrel membran zararlanma oranı üzerine etkisi incelendiğinde, Moro portakalı ve Interdonato genotiplerine göre daha fazla hücrel membran zararlanma olduğu ve en yüksek zararlanmanın kasım ayında olduğu saptanmıştır. En yüksek hücrel membran zararlanma oranı -14°C, -17°C ve -20°C'de ve en düşük -5°C'de saptanmıştır.

Genotiplerin hücrel membran zararlanma oranı üzerine etkisi incelendiğinde en yüksek hücrel membran zararlanma oranı L-2 (% 90.22) mutant adayında ve en düşük ise L-8 (% 83.24) mutant adayında bulunmuştur.

Çizelge 4.34. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerinin kasım ayına ait hücrel membran zararlanma oranları (%)

Farklı Sıcaklıklarda Hücrel Membran Zararlanma Oranları (%)								
Kasım Ayı								
Genotipler	Sıcaklıklar							Gen. Ort.
	-2°C	-5°C	-8°C	-11°C	-14°C	-17°C	-20°C	
L-K	66.38 j ⁽²⁾	22.74 rs	93.93 def	96.47 abcd	100.00 a	100.00 a	100.00 a	84.12 B
L-1	52.11 lm	24.09 rsq	84.8 h	99.53 ab	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.20 C
L-2	69.19 ij	29.36 p	94.72 cde	93.56 def	100.00 a	100.00 a	100.00 a	83.83 B
L-3	67.72 j	44.29 n	95.95 bcde	95.69 h	100.00 a	100.00 a	100.00 a	83.38 C
L-4	55.46 kl	27.02 pq	99.26 ab	92.56 ef	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.04 D
L-5	55.99 k	24.05 rsq	86.37 g	97.47 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.55 E
L-6	41.87 n	24.09 rsq	97.49 abc	93.09 defg	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.49 E
L-7	51.08 m	33.12 o	97.18 abcd	98.29 ab	100.00 a	100.00 a	100.00 a	83.06 C
L-8	49.62 m	24.85 rq	97.37 abc	93.26 ef	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.73 E
L-9	71.36 i	34.06 o	90.35 f	94.1 cdef	100.00 a	100.00 a	100.00 a	85.11 A
L-10	41.79 n	20.92 s	93.96 cdef	76.85 h	100.00 a	100.00 a	100.00 a	76.22 F
Sıcaklık Ort.	56.60 D ⁽¹⁾	28.05 E	95.64 B	93.54 C	100.00 A	100.00 A	100.00 A	
LSD (0.05) sıcaklık: 1.0953 LSD (0.05) genotip x sıcaklık: 3.6327 LSD (0.05) genotip: 1.373								

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): Student's t test farklılıkları ayrı harflerle gösterilmiştir.

Meksika laymı genotiplerinde ocak ayında yapılan iyon sızıntı bulguları incelendiğinde sıcaklıkların hücrel membran zararlanma oranı üzerine etkisi portakal ve limon türleri ile benzerlik göstermiştir.

Sıcaklıklara göre hücrel membran zararlanma oranı % 43.27 ile % 100 arasında değişmiştir. En yüksek hücrel membran zararlanma oranı -14°C, -17°C ve -20°C'de ve en düşük -5°C'de bulunmuştur.

Genotiplere göre hücrel membran zararlanma oranı değerlendirildiğinde en yüksek hücrel membran zararlanma oranı L-6 (% 85.89) ve en düşük L-2 (% 77.98) mutant adayında belirlenmiştir (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerinin ocak ayına ait hücrel membran zararlanma oranları (%)

Farklı Sıcaklıklarda Hücrel Membran Zararlanma Oranları (%)								
Ocak Ayı								
Genotipler	Sıcaklıklar							Gen. Ort.
	-2°C	-5°C	-8°C	-11°C	-14°C	-17°C	-20°C	
L-k	43.16 nopq	42.88 uv	89.04 cd ⁽²⁾	94.76 cde	100.00 a	100.00 a	100.00 a	83.12 C
L-1	56.91 lm	48.25 nopqr	64 j	67.0 k	100.00 a	100.00 a	100.00 a	78.59 FG
L-2	47.3 rst	45.93 w	97.46 abc	66.64 k	100.00 a	100.00 a	100.00 a	77.98 G
L-3	67.00 v	29.69 x	79.83 i	98.27 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	78.22 G
L-4	69.35 k	52.11 no	66.85 k	83.78 gh	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.73 E
L-5	47.83 pqrst	35.55 v	84.51 g	94.72 cde	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.37 E
L-6	58.35 l	53.99 mn	95.94 bcd	92.95 def	100.00 a	100.00 a	100.00 a	85.89 A
L-7	57.48 Lm ⁽²⁾	47.57 qrst	96.63 abcd	67.87 k	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.36 E
L-8	46.28 st	44.37 ut	89.19 f	80.04 hı	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.03 EF
L-9	51.4 nop	40.23 v	91.09 ef	99.64 ab	100.00 a	100.00 a	100.00 a	83.19 C
L-10	48.35 opqrs	46.85 rst	89.39 f	95.99 bcd	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.94 C
Sıcaklık Ort.	52.25 D ⁽¹⁾	43.27 E	87.43 B	85.60 C	100.00 A	100.00 A	100.00 A	
LSD (0.05) sıcaklık: 1.149 LSD (0.05) genotip x sıcaklık: 3.813 LSD (0.05) genotip: 1.441								

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): Student's t test farklılıkları ayrı harflerle gösterilmiştir.

Mart ayında sıcaklıkların hücrel membran zararlanma oranı üzerine etkisi incelendiğinde kasım ve ocak aylarına benzer sonuçlar elde edilmiş ve en yüksek zararlanma oranının -14°C, -17°C ve -20°C'de, en düşük ise -5°C'de saptanmıştır.

Genotiplerin hücrel membran zararlanma oranı üzerine etkisi incelendiğinde kasım ve ocak ayından farklı olarak L-K (% 87.94) mutant adayında ve en düşük L-9 (% 78.82) mutant adayında bulunmuştur (Çizelge 4.36).

Çizelge 4.36. Meksika laymı çeşidine ait genotiplerinin mart ayına ait hücrel membran zararlanma oranları (%)

Farklı Sıcaklıklarda Hücrel Membran Zararlanma Oranları (%)								
Mart Ayı								
Genotipler	Sıcaklıklar							Gen. Ort.
	-2°C	-5°C	-8 C	-11°C	-14°C	-17°C	-20°C	
L-K	53.02 I ⁽²⁾	18.74 m	72.90 fg	98.09 ab	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.33 C
L-1	54.64 i	13.65 no	82.62 cd	90.32 ef	100.00 a	100.00 a	100.00 a	81.38 BC
L-2	43.71 l	9.46 pq	95.84 abcde	97.18 abc	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.60 AB
L-3	45.09 kl	14.15 no	79.09 de	90.91 def	100.00 a	100.00 a	100.00 a	82.83 A
L-4	45.37 kl	14.84 n	78.12 e	98.17 ab	100.00 a	100.00 a	100.00 a	73.97 G
L-5	63.61 h	7.54 q	85.49 bc	93.72 abcdef	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.79 CD
L-6	63.81 h	6.59 q	66.84 h	96.10 abcd	100.00 a	100.00 a	100.00 a	77.02 F
L-7	48.61 jk	9.10 pq	75.62 ef	94.38 abcdef	100.00 a	100.00 a	100.00 a	77.23 F
L-8	51.48 ij	10.33 opq	80.01 gh	95.52 abcde	100.00 a	100.00 a	100.00 a	79.08 E
L-9	66.75 h	12.60 nop	71.05 g	95.64 abcde	100.00 a	100.00 a	100.00 a	78.89 E
L-10	46.42 kl	12.87 nop	86.39 bc	93.85 abcdef	100.00 a	100.00 a	100.00 a	79.84 DE
Sıcaklık Ort.	53.15 D ⁽¹⁾	16.57 E	90.35 C	96.73 B	100.00 A	100.00 A	100.00 A	
LSD (0.05) sıcaklık: 0.985 LSD (0.05) genotip x sıcaklık: 3.268 LSD (0.05) genotip: 1.235								

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): Student's t test farklılıkları ayrı harflerle gösterilmiştir.

4.6.2. Düşük sıcaklık toleransı (LT₅₀)**4.6.2.1. Moro portakalı**

Moro portakalı çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarına ait, yapraklarda saptanan bitkinin % 50'sinin öldüğü (LT₅₀) değerleri, dönem, genotip × dönem interaksyonu ve genotip açısından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.37). İnteraksiyon açısından LT₅₀ dereceleri incelendiğinde, ortalama değerlerin -2.54 ile -5.21°C arasında değişim gösterdiği Çizelge 4.39'da görülmektedir.

Genotiplerin LT₅₀ değerleri bakımından en düşük değer -2.54°C ile M-8 genotipinde ve en yüksek ise 5.21°C ile M-5 genotipinde saptanmıştır (Çizelge 4.37). LT₅₀ değerleri bakımından genotipler incelendiğinde istatistiksel olarak bağımsız ve ara grupların olduğu görülmektedir. Genotiplere göre saptanan LT₅₀ değerleri -2.96°C ile -4.11°C arasında değişim göstermiştir. En yüksek LT₅₀ değerleri M-8 ve en düşük ise M-6 genotipinde kaydedilmiştir. LT₅₀ değerleri aylara görede istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. Nitekim aylara göre değişmekle birlikte LT₅₀ değerleri -2.98°C ile -3.98°C

arasında kaydedilmiştir. Aylar dikkate alındığında en düşük sıcaklık değeri ocak ayında ve en yüksek ise kasım ayında elde edilmiştir. Mart ayında kaydedilen değer ise her iki ayın arasında saptanmıştır.

Çizelge 4.37. Moro portakalı genotiplerinin dönemsel düşük sıcaklık toleransı (LT₅₀)

Genotipler	Dönem			Genotip Ort.
	Kasım	Ocak	Mart	
M-K	-3.31 fgh	-4.36 c	-3.45 ef	-3.71 B
M-1	-2.68 lm	-4.43 bc	-2.99 hijkl	-3.37 C
M-2	-2.65 lm	-3.35 fgh	-3.18 fgh ₁	-3.06 EF
M-3	-3.17 fgh ₁	-3.47 ef	-3.39 fg	-3.34 CD
M-4	-2.91 ijklm	-4.16 cd	-2.90 ijklm	-3.32 CD
M-5	-3.30 fgh	-5.22 a	-3.82 de	-4.11 A
M-6	-2.59 m	-3.30 fgh	-2.98 hijkl	-2.96 F
M-7	-2.73 klm	-4.21 c	-2.77 jklm	-3.24 CDE
M-8	-2.54 m	-3.80 de	-3.11 fgh ₁ j	-3.15 DEF
M-9	-2.89 ijklm	-3.47 ef	-3.23 fgh ₁	-3.20 CDE
M-10	-3.07 gh ₁ jk	-4.79 b	-3.32 fgh	-3.72 B
Dönem Ort.	-3.31 FGH	4.36 C	-3.45 EF	
LSD (0.05) dönem: 0.168 LSD (0.05) genotip x dönem: 0.375 LSD (0.05) genotip: 0.217				

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

4.6.2.2. Interdonato limonu

Interdonato limonu çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarına ait, yapraklarda saptanan düşük sıcaklık tolerans değerleri, genotip × dönem interaksyonu açısından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.38). İnteraksiyon açısından LT₅₀ değerleri incelendiğinde, ortalama değerlerin -1.91 ile -4.0°C arasında değişim gösterdiği Çizelge 4.38’ da görülmektedir.

Genotiplerin LT₅₀ değerleri bakımından en düşük değer -1.91°C ile I-3 genotipinde ve en yüksek ise 4.04°C ile I-2 genotipinde saptanmıştır (Çizelge 4.30), LT₅₀ değerleri bakımından genotipler incelendiğinde istatistiksel olarak bağımsız ve ara grupların olduğu görülmektedir. Genotiplere göre saptanan LT₅₀ değerleri -2.91°C ile - 5.54°C arasında değişim göstermiştir. En yüksek LT₅₀ değerleri I-4 ve en düşük ise I-9 genotipinde kaydedilmiştir.

LT₅₀ değerleri aylara görede istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. Nitekim aylara göre değişmekle birlikte LT₅₀ değerleri -2.63°C ile -3.61°C arasında kaydedilmiştir. Aylar dikkate alındığında en düşük sıcaklık değeri ocak ayında ve en yüksek ise kasım ayında elde edilmiştir. Mart ayında kaydedilen değer ise her iki ayın arasında saptanmıştır.

Çizelge 4.38. Interdonato limonu genotiplerinin dönemsel düşük sıcaklık toleransı (LT₅₀)

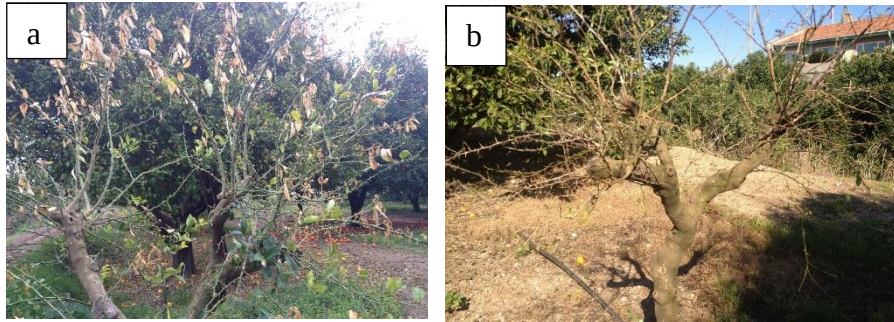
Genotipler	Dönem			Genotip Ort.
	Kasım	Ocak	Mart	
I-K	-2.48 mno	-3.52 cdef	-2.65 klm	-2.88 C
I-1	-2.43 mno	-3.51 def	-2.52 lmn	-2.82 CD
I-2	-2.24 no	-4.04 a	-2.42 mno	-2.89 C
I-3	-1.91 p	-3.89 ab	-2.45 mno	-2.75 CD
I-4	-2.84 jlk	-3.87 ab	-3.84 abc	-3.51 A
I-5	-2.73 klm	-3.08 ghij	-2.92 ijk	-2.91 C
I-6	-2.86 jk	-3.42 ef	-3.35 efg	-3.21 B
I-7	-2.96 hijk	-4.00 a	-3.26 fgh	-3.41 A
I-8	-2.72 klm	-3.60 bcde	-3.20 fghi	-3.17 B
I-9	-2.19 op	-3.07 ghij	-2.70 klm	-2.65 D
I-10	-2.86 jk	-3.89 abcd	-2.86 jk	-3.17 B
Dönem ort.	-2.56 C	-3.62 A	-2.92 B	
LSD (0.05) dönem: 0.154 LSD (0.05) genotip x dönem: 0.323 LSD (0.05) genotip: 0.187				

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

4.6.2.3. Meksika laymı

Meksika laymı çeşidine ait genotiplerde kasım, ocak ve mart aylarına ait, yapraklarda saptanan bitkinin % 50 'sinin öldüğü (LT₅₀) değerleri. Genotip × dönem interaksyonunu açısından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.39). (Şekil 4.16). İnteraksiyon açısından LT₅₀ dereceleri incelendiğinde, ortalama değerlerin -1.68 ile -4.29°C arasında değişim gösterdiği Çizelge 4.39'de görülmektedir.

Genotiplerin LT₅₀ değerleri bakımından en düşük değer, -1.68°C ile L-1 genotipinde ve en yüksek ise 4.29°C ile L-8 genotipinde saptanmıştır (Çizelge 4.39). LT₅₀ değerleri bakımından genotipler incelendiğinde istatistiksel olarak bağımsız ve ara grupların olduğu görülmektedir. Genotiplere göre saptanan LT₅₀ değerleri -2.15°C ile -2.96°C arasında değişim göstermiştir. En yüksek LT₅₀ değerleri L-K ve en düşük ise L-8 genotipinde kaydedilmiştir. LT₅₀ değerleri aylara görede istatistiksel olarak farklılık göstermiştir. Nitekim aylara göre değişmekle birlikte LT₅₀ değerleri -2.16 ile -3.32°C arasında kaydedilmiştir. Aylar dikkate alındığında en düşük sıcaklık değeri ocak ayında ve en yüksek ise kasım ayında Şekil 4.23'de açık alanda görüldüğü gibi elde edilmiştir. Mart ayında kaydedilen değer ise her iki ayın arasında saptanmıştır.

**Şekil 4.25.** Arazide Meksika laymı ağacına ait görünüm; a) kasım ayı; b) mart ayı

Çizelge 4.39. Meksika laymı genotiplerinin dönemsel düşük sıcaklık toleransı (LT₅₀)

Genotipler	Dönem			Genotip Ort.
	Kasım	Ocak	Mart	
L-K	-1.78 no	-2.74 e ⁽¹⁾	-1.92 mno	-2.15 D ⁽¹⁾
L-1	-1.68 o	-3.83 c	-1.80 no	-2.44 BCD
L-2	-1.77 no	-4.25 ab	-1.99 lmn	-2.68 ABC
L-3	-1.95 lmno	-3.73 c	-2.53 efgh	-2.73 AB
L-4	-2.17 jklm	-2.17 jklm	-2.43 fghij	-2.26CD
L-5	-2.39 fghijk	-3.20 d	-2.60 efg	-2.73 AB
L-6	-2.40 fghijk	-2.23 ijkl	-2.47 efghi	-2.37 BCD
L-7	-2.52 efgh	-2.43 fghij	-2.65 ef	-2.53 ABCD
L-8	-2.17 jklm	-4.29 a	-2.42 fghij	-2.96 A
L-9	-2.12 klm	-3.74 c	-2.32 hijk	-2.73 AB
L-10	-2.00 lmn	-3.99 bc	-2.35 ghijk	-2.78 AB
Dönem Ort.	-2.08 B	-3.32 A	-2.31 B	
LSD (0.05) dönem: 0.241 LSD (0.05) genotipxdönem: 0.285 LSD (0.05) genotip: 0.164				

⁽¹⁾: Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

Turunçgil türleri içerisinde düşük sıcaklıklara çok hassas bir tür olan Meksika laymı çeşidinde yapılan yapay don testlerinde en yüksek zararlanma kasım ayında meydana gelmiştir. Kasım ayında, gama ışını uygulanmış Meksika laymı genotiplerinin düşük sıcaklıklara toleransı, Meksika laymı çeşidine (kontrol) göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Kasım ayında % 86.27 zararlanma oranı ve LT₅₀ değeri -2.65 ile L-7 genotipi en düşük sıcaklıklara toleranslı genotip olarak saptanmıştır. Diğer turunçgil türlerinde olduğu gibi düşük sıcaklıklardan en düşük zararlanma ocak ayında olduğu belirlenmiştir. Bu ayda düşük sıcaklıklara en toleranslı genotip % 77.98 zararlanma oranına ve -4.25°C LT₅₀ sıcaklığına sahip L-2 genotipi bulunmuştur.

Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin genotiplerinden kasım, ocak ve mart olmak üzere üç farklı dönemde alınan yaprak örneklerinde, yapılan don testi sonuçlarımızın mevsimsel değişimlerine ilişkin araştırma bulgularımızın her üç dönemde gerek çeşit-genotip ve gerekse zamana bağlı olarak değişim gösterdiği (Şekil 4.25) saptanmıştır.

Meksika laymı genotiplerinin Moro portakalı ve Interdonato limonu genotiplerine göre daha düşük sıcaklık toleransı derecesine sahip olduğu belirlenmiştir. Bulgularımız birçok araştırmacı tarafından turunçgil türlerinin düşük sıcaklıklara toleransı sıralaması ile uyumludur (Praloran 1964). Young vd. (1960) tarafından, Meksika laymı çeşidinde düşük sıcaklığa toleranslılık çalışması ile de desteklenmektedir. Tüm turunçgil türlerinde ocak ayında kasım ve mart aylarına göre % zararlanma oranının daha düşük olduğu saptanmıştır. Bizim bulgularımız Küden vd. (1998) tarafından desteklenmektedir. Denemede kullanılan turunçgil fidanları sera içerisinde yetiştirilmesine rağmen Çizelge 3.3'te gösterilen iklim verilerine göre sıcaklıklar kademeli olarak azaldığı için fidanların düşük sıcaklıklara aklimasyonu sağlanmıştır. Bu nedenle prolin ve düşük sıcaklık tolerans değerleri düşük çıkmıştır. Gama ışını uygulamasının düşük sıcaklık toleransı derecesi üzerine farklı etkilere sahip olduğu belirlenmiştir. Kontrol bireylerine göre Moro portakalı genotiplerinden -4.11°C ile M-5 mutant adayı, Interdonato limonu

genotiplerinden -2.96°C ile I-7 mutant adayı ve Meksika laymı genotiplerinden -2.96°C ile L-8 mutant adayı ile en yüksek sıcaklık toleranslarına sahip olduğu saptanmıştır. Bizim bulgularımız Praloran (1964) tarafından turuncgil ağaçları ile yapılan düşük sıcaklık denemesinde -5.5°C düşürülerek 3 saat tutulan bitkilerde yaprakların donma eşiğinin -3.9 °C olduğunu bildiren çalışma ile desteklenmektedir. Moro portakalında ve bazı diğer Interdonato ve Meksika laymında düşük sıcaklık tolerans derecelerinin yüksek olmasını ise Dean (1953) tarafından turuncgillerde yapılan çalışmalar ile desteklenmektedir (Praloran 1964).

Turuncgil türlerinde en düşük hücrel membran zararlanma -5°C sıcaklıklarda olduğu, en yüksek zararlanmanın ise -14°C, -17°C, -20°C sıcaklıklarda meydana geldiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın bulguları Praloran (1964) ve Yelenosky (1978) tarafından bildirilen çalışmalar ile uyumludur.

Turuncgillerde don testi ile ilgili çok az çalışmaya rastlanmıştır.(Ehlert vd. 2008). Bulgular Yelenosky (1979) ve Barrett vd. 1982 tarafından yapılan çalışmalar ile uyumludur.

Gama ışını uygulaması sonucu farklı turuncgil türlerine ait çeşitlerin bazı genotiplerinde genetik olarak değişikliğe neden olmuş (Wang vd. 2012; Kara Özbek ve Dalkılıç 2017; Kebeis vd. 2018) ve bu nedenle bu bireylerin düşük sıcaklıklara kontrol bireylerine göre daha yüksek toleranslılık gösterdiği saptanmıştır. Elde edilen bulgularımız Majd vd. (2008) tarafından İranda mandarinlerde mutasyon ıslahı ile elde edilen düşük sıcaklıklara toleranslı yeni çeşitlerin elde edildiği çalışma ile desteklenmektedir.

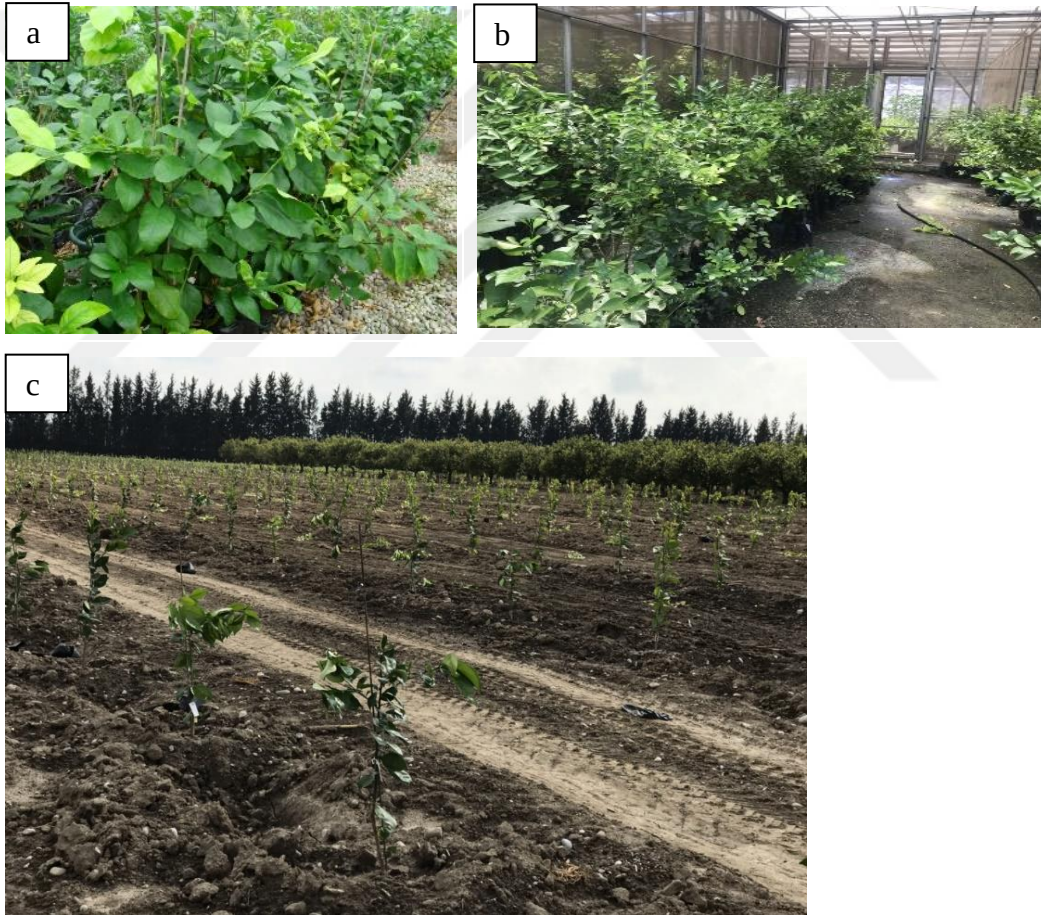
Antalya’da 2016 yılında yaşanan kar yağışı ve 2019 yılında yaşanan dolu yağışı ile ilgili resimler Şekil 4.26 ve Şekil 4.27’de verilmiştir. Mutasyon ıslahı ile elde edilen turuncgil genotiplerinden Moro portakalı genotipleri araziye dikilmiş ve Interdonato limonu ve Meksika laymı genotipleri serada muhafaza edilmektedir (Şekil 4.28).



Şekil 4.26. Üzerine kar yağmış portakal fidanı (22 Aralık 2016 Antalya’da kar yağışı)



Şekil 4.27. Antalya’da 2019 yılında dolu yağışından zarar görmüş turunçgil ağacı



Şekil 4.28. Mutasyon ıslahı sonucu elde edilen genotipler; **a)** Interdonato limonu; **b)** Meksika laymı; **c)** Moro Portakalı

5. SONUÇLAR

Farklı turunçgil türlerine ait çeşitlerin aşı kalemlerine kobalt-60 kaynağından 0, 30, 40, 50, 60, 70, 80 Gy dozlarında gama ışını uygulaması sonucu Moro portakalı çeşidinde etkili mutagen dozu 68 Gy, Interdonato limon çeşidinde 50 Gy, Meksika laymı çeşidinde 45 Gy olarak bulunmuştur.

Turunçgil türlerinde M_1V_1 , M_1V_2 ve M_1V_3 populasyonlarının oluşturulması için yapılan aşılamalarda turunçgil türlerinin aşı tutma oranlarının farklı olmuş ve en düşük aşı tutma oranı Meksika laymından elde edilmiştir. Tüm türlerdeki mayıs ayındaki aşı tutma oranı ekim ayına göre daha yüksek belirlenmiştir.

Gama ışını uygulanmış M_1V_1 genotiplerinde fizyolojik zararlanma belirtileri çoğu bireylerde rozetleşme, boğum aralarının kısalması ve yapraklarda şekil bozukluğu, kalınlaşma, renk koyulaşması, renk açılması gibi deformasyonlar şeklinde görülmüştür. Bazı bireylerde ise aşı tutmasına rağmen aşılar sürmemiş veya çok uzun süre sonunda sürmüştür.

Turunçgil türlerinde gama ışını uygulanan genotiplerde sürgün boyları ve boğum aralıkları kontrol bitkilerine göre daha kısa gelişmiştir.

Turunçgil türlerinin yaprak oransal su içeriklerinin farklı olmuş ve gama ışını genotiplerin yaprak oransal su içeriğini değiştirmiştir.

Yapraklardaki klorofil içerikleri oldukça değişim göstermiştir. Soğuklara daha hassas Meksika laymı genotiplerin yapraklarında saptanan klorofil içerikleri soğuklara daha dayanıklı olan portakal ve limon türlerine göre daha yüksek değerde saptanmıştır. Diğer türlerden farklı olarak gama ışını uygulaması Moro portakalı genotiplerinde toplam klorofil içeriğini azaltmıştır. Interdonato limon çeşidine ait genotiplerin yapraklarında belirlenen klorofil miktarı Meksika laymı ve Moro portakalı çeşitlerine ait genotiplere göre daha düşük değerde bulunmuştur.

Gama ışını her üç türde de genel olarak genotiplerin protein içeriğini artırmıştır.

Moro portakalı, Interdonato limonu ve Meksika laymı çeşitlerinin yaprak membran geçirgenliği (%) farklı olmuştur. Türler bazında en yüksek membran geçirgenliği soğuklara en hassas çeşit olan Meksika laymında saptanmış ve onu sırasıyla Moro portakalı ve Interdonato limonu izlemiştir. Gama ışını uygulanan genotiplerin membran geçirgenliği genel olarak artmıştır.

Düşük sıcaklara daha tolerant olan Moro portakalında kasım, ocak ve mart aylarında yapraklarda saptanan prolin seviyesi soğuğa hassas olan Meksika laymı ve Interdonato limon çeşitlerine göre daha yüksek değerde saptanmıştır. Turunçgil türlerinde dönemlere göre prolin seviyesi ile zararlanma oranı arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur. Gama ışını uygulaması turunçgil genotiplerinde prolin seviyesini değiştirmiştir.

Soğukların başladığı kasım ayında, yılın en soğuk ayı olan ocak ayında ve vegetasyonun başladığı mart ayında yapılan yapay don testlerinde düşük sıcaklık

toleransları türlere göre değişmiştir. Düşük sıcaklıklara daha dayanıklı olan Moro portakalında belirlenen LT_{50} değeri düşük sıcaklıklara daha hassas olan Intredonato limonu ve Meksika laymı çeşitlerine göre daha yüksek olmuştur. Bütün türlerde Kasım ayında yapılan don testinde düşük sıcaklıklarda zararlanma oranı diğer aylara göre daha yüksek saptanmış ve en düşük zararlanma oranı ocak ayında meydana gelmiştir. Moro portakalı genotiplerinden M-5 genotipi, Interdonato limon genotiplerinden I-7 genotipi ve Meksika laymı genotiplerinden L-8 genotipi kontrol bitkilerine göre düşük sıcaklıklara daha tolerantlı bulunmuştur.

M_1V_3 populasyonunda farklı turunçgil türlerine ait bitkilerde yapılan istatistiki analizler sonucu mutasyon uygulamasının bu türlerde varyasyon yarattığı tespit edilmiştir.

Turunçgil türlerinde mutasyon ıslahı ile elde edilen genotipler daha sonra yapılacak olan turunçgil ıslahı çalışmaları için genetik materyal olarak kullanılabilir.

6. KAYNAKLAR

- Alikamanoglu, S., Yaycili, O. and Sen, A. 2010. Effect of gamma radiation on growth factors, biochemical parameters, and accumulation of trace elements in soybean plants (*Glycine max* L.Merrill). *Biol. Trace Elem. Res.* 141(1-3): 283-293.
- Agisimanto, D., M.N. Noor, R. Ibrahim and A. Mohamad. 2016. Gamma irradiation effect on embryogenic callus growth of *Citrus reticulata* cv. Limau Madu. *Sains Malaysiana*. 45(3): 329–337
- Anderson, C.M. 2008. Claro: a New Lemon Selection. The 11th International Citrus Congress, pp. 136. October 26-30, Wuhan, China.
- Anonim 1: <http://www.taek.gov.tr/ogrenci/r04.htm> (Son erişim tarihi 26.06.2019).
- Al-Salhi, M., Ghannam, M.M., Al-Ayed, M.S., El-Kameesy, S.U. and Roshdy, S. 2004. Effect of gamma-irradiation on the biophysical and morphological properties of corn. *Nahrung*, 48(2): 95–98.
- Albrigo, L.G. 2004. Climate affects on flowering, fruit set and quality of citrus- A review. *Proc. Int. Soc. Citriculture*. pp. 278-283. <http://ediciones.inca.edu.cu/files/congresos/2010/CDMemorias/memorias/ponecias/talleres/ENP/ra/ENP-C.04.pdf> (Son erişim tarihi 26.06.2019).
- Albrigo , L.G. and Melgar, J.C. (2012). Mechanical harvesting and citrus tree stress in florida. *Acta Hortic.*, 928: 281-286.
- Aleza, P., Jua´rez, J., Ollitrault,P. and Navarro, L. 2009. Production of tetraploid plants of non apomictic citrus genotypes. *Plant Cell Rep.*, 28: 1837-1846.
- Ahloowalia, B.S., Maluszynski, M., and Nichterlein, K. 2004. Impact of mutation-derived varieties. *Euphytica*, 135: 187-204
- Alos, E., Roca, M., Iglesias, D. J., Minguez-Mosquera, M. I., Damasceno, C. M. B., Thannhauser, T. W. and Cercos, M. 2008. An evaluation of the basis and consequences of a stay-green mutation in the navel negra citrus mutant using transcriptomic and proteomic profiling and metabolite analysis. *Plant Physiology*, 147(3): 1300-1315.
- Anonymous 2: <https://www.iaea.org/topics/food-and-agriculture> (28.06.2019)
- Anonymous 3: <http://www.fao.org/3/y7223e/y7223e0a.htm#bm10.11>(28.06.2019)
- Anonymous 1: FAO Statistical Databases, www.fao.org (Son erişim tarihi 22.07.2019)
- Arora, R., Visniewski, ME. and Scorza, R. 1992. Cold acclimation in genetically related (sibling) deciduous and ever green peach (*Prunus persica* [L.] Batsch I. Seasonal changes in cold harclines sand polypeptides of bark and tissues. *Plant Physiol.*, 99(4): 1562-1568.

- Bado, S., Forster, B. P., Nielen, S., Abdelbagi, M. A., Lagoda, P.J.L., Till, B. J. and Laimer, M. 2015. Plant Mutation Breeding: Current Progress and Future Assessment. *Plant Breeding and Genetics, Advances in Plant Mutation Breeding*, International Atomic Energy Agency, Vienna, Chapter 1, pp. 8-55
- Bagher, A. M., Nahid, A., Mirzaei, V., Abadi, M., Mirhabibi, M, Askari, N. 2014 . Gamma Rays Destroy Plant Stress Resistance Genes. *Greener Journal of Biochemistry and Biotechnology*. Vol. 1 (1), pp. 018-022.
- Barr, H.D. and Weatherley, P.E. 1962. A re-examination of the Relative Turgidity Technique for Estimating Water Deficit in Leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* 15, 413- 428
- Barrett, H.C. and Young, R. 1982. New sources of cold hardiness for citrus breeding. *HortScience*, 17: 886.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, ID. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Bermejo, A., Pardo, j. and Cano, A. 2011. Influence of Gamma Irradiation on Seedless Citrus Production: Pollen Germination and Fruit Quality. *Food and Nutrition Sciences*, 2: 169-180.
- Beyaz, R. ve Yıldız, M. 2017. The Use of Gamma Irradiation in Plant Mutation Breeding. *Plant Engineering*. doi:10.5772/intechopen.69974.
- Broertjes, C. and Van Harten, A.M. 1988. Applied mutation breeding vegetatively propagated crops. *Elsevier Science Pub.*, Amsterdam, pp. 313
- Bojovic, B. and Stojanovic, J. 2005. Chlorophyll and carotenoid content in wheat cultivars as a function of mineral nutrition. *Archives of Biological Sciences*, 57(4): 283–290.
- Çağırğan M.İ., Mbaye, N., Silme R.S., Ouedraogo N., Topuz H., 2013. The Impact Of Climate Variability On Occurrence Of Sesame Phyllody And Symptomatology Of The Disease In A Mediterranean Environment. *Turkish Journal Of Field Crops*, 18: 101-108.
- Çağırğan, M. İ. 2006. Selection and morphological characterization of induced determinate mutants in sesame. *Field Crops Research*, 96(1): 19–24. doi:10.1016/j.fcr.2005.06.010
- Cairn, J.E, Botwright Acuna, T.L., Simborio, F.A., Dimayuga, G., Lakshmi Praba, M., Leung, H., Torres, R. and Lafitte, H.R. 2009. Identification of deletion mutants with improved performance underwater-limited environments in rice (*Oryza sativa* L.). *Field Crops Research*, 114(1): 159–168.
- Cansev, A. 2008. Gemlik zeytin çeşidi'nin düşük sıcaklık koşullarında fizyolojik ve moleküler açıdan karakterizasyonu. Doktora tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, 172 s.

- Caruso, M., Russo, R., Caruso, A. G., Romano, F., Cirrone, G., Gattolin, S., Rossini, L., Cuttone, G. and Russo, G. 2016. Citrus breeding activities at Crea, Italy. The 13th International Citrus Congress, 18 – 23 September, Foz do Iguaçu, PR – Brazil.
- Champ, K.I. 2004. Isolation and characterization of components of low temperature-induced signal transduction pathways in *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. and *Citrus paradisi* Macf. PhD Thesis, University of Florida, Florida, 125 p.
- Chen, C., Zhou, P., Choi, Y.A., Huang, S., Gmitter, Jr F.G. 2006. *Mining and Theoretical and Applied Genetics*, 112: 1248–1257.
- Chen, Z., 2008. Some new & Superior Sweet Orange Selections whit commercial Potential in China today. The 11th International Citrus Congress, pp. 183-184, 26-30 October, Wuhan, China.
- Citrus Industry, 1948. Volume 1. History, Botany, Breeding, pp. 862-870.
- Cuellar, F., Cronje, P.J.R., Barry, G., Rodrigo, M.J. and Zacarías, L. 2016. Characterization of new lycopene- accumulation mutants of sweet orange. The 13th International Citrus Congress, 18-23 September, Foz do Iguaçu, PR–Brazil.
- Çevik, Ş.M. 2012. Identification and expression analysis of early cold-induced genes from cold-hardy citrus relative *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Gene*, pp. 536-545. 10th International Citrus Congress, 15– 9 February, 2004 Agadir, Morocco.
- Çiftçi, C.Y. ve Şenay, A. 2005. Makarnalık buğdayda (*Triticum durum* Desf.) gama ışını ve EMS’in farklı dozlarının ayrı ayrı ve birlikte uygulanmasının M2 bitkilerinde etkileri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi* 14: 41-49.
- Davies, F. S. and Albrigo, L. G. 2005. Turunçgiller. Çev. Zeynel Dalkılıç. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ders Kitabı, Aydın, 272 s.
- Deng, XX., Zhang, M., Liu, Q., Zhang, J.C., Xu, Q., Xu, J. and Ceng, J. C. 2008. Exploitation of citrus bud sports for both breeding and genomic research. 11th International Citrus Congress, pp. 197, 26-30 October, Wuhan, China.
- Donini, B., Kawai, T. and Micke, A. 1984. Spectrum of mutant characters utilized in developing improved cultivars. In *Selection in Mutation Breeding*, pp. 7–31, IAEA, Vienna.
- Donini, B. 1988. Mutagenesis applied to improve vegetatively propagated crops. FAO/IAEA International training course on the induction and use of mutations in plant breeding, Hand out, Seibersdorf, 5 April-19 May Rome Italy.
- Durham, R.E., Moore G.A., Haskell, D.C. and Guy, L. 1991. Cold-Acclimation Induced Changes In Freezing Tolerance and Translatable RNA Content in *Citrus grandis* and *Poncirus trifoliata*. *Physiol. Plant*, 82: 519-522.

- Dutt, M., Stanton, D., Satpute, A., Grosser, J.W., Yu, Q. and Gmitter, Jr. 2016. Genetically engineered bio fortified citrus: current and future trends in anthocyanin production. The 13th International Citrus Congress, 18–23 September, Foz do Iguaçu, PR-Brazil.
- Ebel, R.C., Nesbitt, M., Dozier W.A. Jr. and Dane, F. 2008. Freeze Risk and Protection Measures of Satsuma Mandarins Grown in the Southeastern United States. *The American Society for Horticultural Science*, 43(2): 287-289.
- Elyazid, D. M. A. and El-Shereif, A. R. 2014. In Vitro Induction of Polyploidy in Citrus reticulata Blanco. *American Journal of Plant Sciences*, 5, 1679-1685.
- Ehlert, B. and Hınca, D.K. 2008. Chlorophyll fluorescence imaging accurately quantifies freezing damage and cold acclimation responses in Arabidopsis leaves. *Plant Methods*, 4:12.
- Enio, S., Mercedes, P., Margot, R. and Ruiz, J. 2008. Productivity of six early orange selection on two rootstock evaluated in tropical conditions of Venezuela. The 11th International Citrus Congress, pp 126-129, 26-30 October, Wuhan, China.
- Endo, T., Shimada, T., Nakata, Y., Fujii, H., Matsumoto, H., Nakajima, N., Ikoma, Y. and Omura, M. 2017. Abscissic acid affects expression of citrus FT homologs upon floral induction by low temperature in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.). *Tree Physiology*, 38(5): 755-771.
- Gmitter, F.G. 2019. A Brief Overview of Citrus Breeding in Florida. CRDF Select Committee Meeting 12 April 2019. https://citrusrdf.org/wp-content/uploads/2019/06/2019-04_Brief-History-of-Citrus-Breeding-for-RDF_Fred-Gmitter.pdf
- Gogoi, M. and Basumatary, M. 2018. Estimation of the chlorophyll concentration in seven *Citrus* species of Kokrajhar district, BTAD, Assam, India. *Tropical Plant Research*, 5(1): 83–87.
- Gonzaga, D. L., Latado R. R., Neto, A.T. and Pio, R.M. 2011. Radiosensitivity of two propagules of citrus. *Bragantia, Campinas*, 70(1):13-18.
- Gusso, G., Recupero, G.R., Recupero, S., Paglio, G. and Menesatti, P. 2008. New selection of Tarocco orange. The 11th International Citrus Congress, ss. 208 26-30 October, Wuhan, China.
- Gusta, L.V., Wsniowski, M., Nesbitt, N.T. and Tanino, K.T. 2003. Factors to Consider in Artificial Freeze Tests. *Acta Hort.*, 618: 493-507.
- Gülşen, O., Uzun, A., Pala, H., Canıhoş, E. ve Kafa, G. 2007. Development of seedless and Mal Secco tolerant mutant lemons through budwood irradiation. *Scientia Horticulture*, 112:184–190.

- Gray, G. R., Chauvin, L. P., Sarhan, F., and Huner, N. (1997). Cold Acclimation and Freezing Tolerance (A Complex Interaction of Light and Temperature). *Plant Physiology*, 114(2): 467–474.
- Fu, H.-W., Li, Y.-F. and Shu, Q.Y. 2008. A revisit of mutant induction by gamma rays in rice (*Oryza sativa* L.): implications of microsatellite markers for quality control. *Mol. Breed.*, 21: 281–288.
- Habermann, G. And Souza, M.C. 2014. History, Ecology and Challenges of Citrus Production in Tropical and Subtropical Areas. In: Hayat K. (Ed.) Nova Science Publishers pp. 1-22
- Hanafy Ahmed, A. H., Ghalab, A. R. M., Hussein, O. S. and El-Hefny, A. M. 2011. Effect of Gamma Rays and Salinity on Growth and Chemical Composition of *Ambrosia maritima* L. Plants. *J. Rad. Res. Appl. Sci.*, 4(4), 1139 – 1162.
- Handaji, N., Benyahia, H., Arsalane, N., Mouhib, M., Ibriz, M., Srairi, I., Chahidi, B. and Bourachide, Y. 2008. Research developments on the constituents of pigmented orange juices. The 11th International Citrus Congress, 26-30 October, Wuhan, China, pp. 59
- Handaji N, Arsalane N, Essalhi M, Label K, Aderdour T, Yacoubi R, Mahmoudi K & Benyahia. 2016. Conventional breeding and biotechnologies to develop improved citrus scion in INRA Morocco. p.102. The 13th International Citrus Congress, 18–23 September, Foz do Iguaçu, PR-Brazil
- Hensz, R.A. 1971. ‘Star Ruby’, a new deep-red fleshed grape fruit variety with distinct tree characteristics. *Journal of the Rio Grande Valley Horticulture Society*, 25: 54-58.
- Hensz, R.A. 1991. Mutation breeding of grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.). Plant Mutation Breeding for Crop Improvement. Vol. I. SM-311, IAEA, ss. 533–536.
- Hozman, S. 2016. Su stresi ve osmoprotektan uygulamalarının kestane fidanlarında fizyolojik ve morfolojik özellikler üzerine etkileri. Doktora tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 113 s.
- Inch, S., Stover, E. and Driggers, R. 2014. Freeze response of *Citrus* and *Citrus* related genotypes in a Florida field planting. *HortScience*, 49(8): 1010-1016.
- Inglese, P. and Sortino, G. 2019. Citrus History, Taxonomy, Breeding, and Fruit Quality. Oxford Research Encyclopedia of Environmental Science. pp.40-44.
- Iglesias-Andreu, L. G., Octavio-Aguilar, P. And Bello-Bello, J. 2019. XX Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada, pp. 8-22.
- İşler, N. 2019. www.mku.edu.tr/files/898-184a5d0b-2a7b-4419-843f-9d2a8b682805.pdf (Son erişim tarihi: 30.06.2019).
- Jain, S. M., Brar, D. S., and Ahloowalia, B. S. 2000. Somaclonal Variation and Induced Mutations in Crop Improvement. induced mutation in fruit trees pp: 409-410.

- Jones, J. B.1991. Kjeldahl method for nitrogen determination. Micro-Macro Publ., Athens, GA. pp. 79
- Kacar, B ve İnal, A. 2008. Bitki Analizleri. Nobel Yayınları No:1241.
- Kafa, G., Uzun, A., Kunter, B., Gülşen, O. ve Tekin, H.İ., 2007. Gamma ışını uygulanmış bazı mandarin çeşitlerinde LD₅₀ değerleri ve sürgün gelişimi. Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, ss. 134-137, 4-7 Eylül, Erzurum.
- Kafa, G. 2012.<http://www.alata.gov.tr/wp-content/GKafa.pdf> (Son erişim tarihi 22.07.2014)
- Kara Özbek, C., Dalkılıç, Z. 2017. Üç Yapraklı Portakal Çöğürlerinin Büyümesi Üzerine Mikoriza ve Solucan Gübresinin Etkisi, Nagami Kamkatı Aşı Kalemlerinin Kobalt-60 Işınlamasına Dayanımının Belirlenmesi ve Farklı Genotiplerin RAPD Belirteçleri ile Tanımlanması. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14 (1): 1-7.
- Kamble, P.N., Giri, SP., Mane, R.S. and Tiwana, A. 2015. Estimation of Chlorophyll content in young and adult leaves of some selected plants. *Universal journal of environmental research and technology*, 5(6): 306–310
- Kaur, S. 2015. Effect of mutagens on regeneration and growth of in vitro grown epicotyl segments of rough lemon seedlings (Citrus jambhiri Lush.). *J. Appl. & Nat. Sci.*, 7 (1): 459 – 465.
- Kebeish, R., E. Deef, H., El-Bialy, N. 2015. Effects of Gamma Radiation on Growth, Oxidative Stress, Antioxidant System, and Alliin Producing Gene Transcripts in Allium Sativum. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB)*, 3(3): 161-174
- Ketchie, D.O. 1969. Method of determination cold hardiness and cold injury in citrus. digitool. library. mcgill. Ca / thesis file 74065. Pdf.
- Khalil, S. A., Sattar, A. and Zamir, R. 2011. Development of sparse-seeded mutant kinnow (Citrus reticulata Blanco) through bud wood irradiation. *Frican Journal of Biotechnology*, 10(65):14562-14565.
- Khan, M.A., Idrees, M. and Shabab, D. 2007. Chlorophyll content in some citrus species. *Vegetos*, 20(2):7-8.
- Küden, A.B., Küden, A. ve Paydaş, S. 1998. Elma, şeftali, nektarin ve kayısı tomurcuklarında dona dayanıklılık ile bitki besin elementleri içerikleri arasındaki ilişkiler. *Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(4): 93-106.
- Kusaba, M., H., Morita, R., Iida, S., Sato, Y., Fujimoto, M., Kawasaki, S., Tanaka, R., Hirochika, H. and Ishimura, M. 2007. Rice non-yellow coloring 1 is involved in light-harvesting complex II and grana degradation during leaf senescence. *Plant Cell* 19: 1362–1375.
- Kunter, B., Baş, M., Taner, Y. ve Burak, M. 2008. Preliminary results of mutation breeding on high quality Turkish sweet cherry cultivar 0900 Ziraat. FAO/IAEA

- International Symposium on Induced Mutations in Plants, pp. 12-15 August, Austria.
- Kunter, B., Baş, M., Kantoğlu, Y. ve Burak, M. 2009. Mutasyon ıslahıyla kirazda yeni tiplerin geliştirilmesi. X. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, ss. 321-332, 6-9 Ekim Muğla.
- Kunter, B., Bas, M., Kantoglu, Y. ve Burak, M. 2012. Mutation breeding of sweet cherry (*Prunus avium* L.) var. 0900 Ziraat. (Eds. Shu, Q.Y., B.P. Forster and H. Nakagawa). *Plant Mutation Breeding and Biotechnology*. CABI. pp: 453-462.
- Kushad, M. and Yelenosky, G. 1987. Evaluation of polyamine and proline levels during low temperature acclimation of *Citrus*. *Plant Physiol.*, 84: 692-695.
- Kırnak, H., Demirtaş, M. N. 2002. Su stresi altındaki kiraz fidanlarında fizyolojik ve morfolojik değişimlerin belirlenmesi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 33 (3): 265-270.
- Kim, J.S., Kim, J.K., Lee, Y.K., Baek, M.W. and Kim, J.G. 1998. Effects of low dose gamma radiation on the germination and yield components of Chinese cabbage. *Kor. J. Environ. Agr.*, 17: 274-278.
- Ladaniya, M.S. (2008). Citrus fruits and climate. Citrus fruit: Biology, technology and evaluation. San Diego CA. Elsevier Academic Press. pp. 191-193.
- Latado, R. R., Neto, A. T. and Figueira, A. 2012. *In vivo* and *in vitro* mutation breeding of *Citrus*. Bioremediation, Biodiversity and Bioavailability. Global Science Books. pp.40-44.
- Lestari, E. G. 2012. Combination of somaclonal variation and mutagenesis for crop improvement. *Journal AgroBiogen*, 8(1): 33-44.
- Ling, A.P.K., Chian, J.Y. Hussein, S., Harun, A.R., vd. 2008. Physiological responses of *Citrus sinensis* to gamma irradiation. *World Applied Sciences Journal*, 5(1): 12-19.
- Ling, A.P.K., Chian, J.Y. Hussein, S., Harun, A.R. 2013. Morphological and biochemical responses of *Oryza sativa* L. (cultivar MR219) to ion beam irradiation. *Journal of Zhejiang University Science B*, 14(12): 1132-1143.
- Lopez, A., Terol, J., Taden, F.R., Hemero, A., Iberiaz, V. and Talon, M. 2012. Three new cultivars of Clementine: 'Clemenverd', 'Nero' and 'Neufina'. The 12th International Citrus Congress, 18-23 November, Valencia, Spain, pp.55.
- Lutts, S., Kinet, J. M. and Bouharmont, J. 1996. NaCl induced senescence in leaves of rice cultivars differing in salinity resistance. *Ann. Bot.*, 78: 389-398.
- Maccarone, E. and Rapisarda, P. 2008. Research developments on the constituents of pigmented orange juices. The 11th International Citrus Congress, 26-30 October, Wuhan, China, pp. 172.

- Majd, F., Jahangirzadeh, E., Vedadi, S., NasariTafti, M., Rastegari, J. 2009. Induce mutation tropical fruits tree. Mutation induction for improving of tangerine in Iran. IAEA-TECDOC-1615: 41-46.
- Maluszynski, M., Ahloowalia, B. S. and Sigurbjornsson, B. 1995. Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. *Euphytica*, 85: 303-315.
- Marasalı, B., Kunter, B., Değirmenci, D., Keskin, N., Taner, Y., Çelik, H., Tutluer, İ., Uslu, N., Sağıl, Z. ve Peşkiricioğlu, H. 2003. Yerli Üzüm Çeşitlerinde Mutasyon Islahına Yönelik Olarak Etkili Mutasyon Dozunun Belirlenmesi ve M₁V₁ Generasyonunda Görülen İlk Etkiler. IV. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, ss: 467-469, 8-12 Eylül, Antalya.
- Martínez-Nicolás, J., Díaz, L., Porras, I., Celdrán, A. and Ortuño, A. 2016. Effects of temperatures and phytohormones treatments on anthocyanins accumulation in *Citrus sinensis* cv Sanguinelli. The 13th International Citrus Congress, 18-23 September, Foz do Iguaçu, PR–Brazil.
- Mete, N., Şahin, M., Çetin, Ö., Hakan, M., Güloğlu, U., Hülya Kaya, H., Uluçay, N. 2016. Bazı zeytin çeşitlerinde don toleransının dönemsel değişimi. *Zeytin Bilimi*, 6 (1), 25-31.
- Montanola, M.I. and Martiz, I. 2012. New mandarins (*Citrus reticulata*) and lemon (*Citrus lemon*) selection obtained by gamma irradiation in Chile. The 12th International Citrus Congress, 18-23 November, Valencia, Spain, pp.54.
- Ollitrault, P., and Navarro, L. 2012. Citrus. Fruit Breeding: Handbook of Plant Breeding 8 (Badenes M.L., editor; and Byrne D.H., editor., eds), pp. 623–662. New York, USA.
- Örçen, N. 2012. Kimera; doku kültüründeki uygulamaları ve bitki ıslahındaki kullanımı. *HR. Ü. Z.F. Dergisi*, 16(3): 9-17.
- Özcan, M. ve Ulubelde, M. 1984. Turunçgil Anaçları. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Proje ve Uygulama Genel Müdürlüğü. Ege Bölge Zirai Araş. Ens. Yayınları No:50, Menemen, 37 s.
- Özkaya, H. 1988. Analitik Gıda Kontrolü. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, 313, Ankara, 137s.
- Pearce, R. 1999. Molecular analysis of acclimation to cold. *Plant Growth Regulation* 29 (1-2): 47-76.
- Praloran, J.C. 1964. Les basses températures en agrumiculture. *Fruits* 19(2): 62-84.
- Prina, A.R., Landau A.M., Pacheco, M.G. 2012. Chimeras and Mutant Gene Transmission. In: Shu Q.Y, Foster BP, Nakagawa H, (Ed.), Plant Mutation Breeding and Biotechnology, Rome, FAO-IAEA. C: 15, pp. 181-190.
- Qi, J., Liu, Z., Huang, L., Chen, H., Liu, J. and Dai, Z. 2008. Effect of ⁶⁰Co Ray Treatment on Seedless Mutation in Budwood of Jincheng Orange. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 1: 146-148.

- Qi-bin, H., Xi-jun, M., Gui-zhi, G., Zhu-chun P. and Yong-rui, H. 2012. QTL Mapping of *Citrus* freeze tolerance. The 12th International Citrus Congress, 18-23 November, pp. 467-474, Valencia, Spain.
- Rafie Rad, Z., E. Dorsadipour and Tajvar, Y. 2017. Evaluation of low temperature tolerance indices in seedling of *Citrus aurantium* under potassium nitrate nutrition. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 7(2): 2007-2015.
- Rattanpal, H.S., Singh, G. and Gupta, M. 2019. Studies on mutation breeding in mandarin variety Kinnow. *Current Science*, 116 (3): 483-487.
- Reuther, W., Batchelor, L.D. and Webber, H.J. 1968. The Citrus Industry. *University of California Division of Agricultural Sciences*, 2: 360-366.
- Rouse, R. E., Holcomb, E.D., Tucker, D.P.E. and Youtsey, C. O.1990. Freeze damage sustained by 21 citrus cultivars on 21 rootstocks in budwood foundation grove immokalee. *Poc. Flat. State. Hart. Soc.*, 103: 64-67.
- Rouse, R. E., Wutscher, H. K. and Youtsey, C. O. 2001. Tracing the Development of Currently Planted Grapefruit Cultivars. *Subtropical Plant Science*, 53:1-3.
- Russo, F., Donini, B. and Starrantinno, A. 1981. Mutagenesis applied for citrus improvement. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1: 68-70.
- Russo, G., Licciardello, C., Caruso, P., Russo, M.P. and Pietro Paolo, D. 2016. First evaluation of new sweet orange selection obtained by gamma irradiation. The 13th International Citrus Congress, 18-23 September, Foz do Iguaçu, PR-Brazil.
- Saamin, S. and Thompson, M.M. 1998. Radiation induced mutations from accessory buds of sweetcherry, *Prunus avium* L. cv ‘Bing’. *Theoretical and Applied. Genetics*, 96: 912-916.
- Sakai, A., Otsuka, K. and Yyoshida, S. 1968. Mechanisms of Survival Of Plant Cells At Super-Low Temperatures By Rapid Cooling and Re-Warming. *Cryobiology*, 4: 165–173.
- Sang, W., Huang, Z-R., Yang, L-T, Guo, P., Ye, X. and Chen, L-S. 2017. Effects of high toxic boron concentration on protein profiles in roots of two *Citrus* species differing in boron-tolerance revealed by a 2-DE based MS approach. *Front. Plant Sci.*, 8: 180.
- Sarsu, F., Ghanim, A. M. A., Das, P., Bahuguna, R. N., Kusolwa, P. M., Ashraf, M. and Ingelbrecht, I. 2008. Pre-Field Screening Protocols for Heat-Tolerant Mutants in Rice. <https://aggie-horticulture.tamu.edu/citrus/cold/L2287.htm>. (04.07.2019)
- Sarsu, F., Penna, S., Kunter, B., and Ibrahim, R. 2018. Mutation breeding for vegetatively propagated crops. Third edition. Spencer-Lopes, M.M., Forster, B.P., Jankuloski, L. (eds.). *Manual on Mutation Breeding*, FAO-IAEA, (6): 157-175.
- Saunt, J. 1990. *Citrus Varieties of the World*. Sinclair Int. Ltd, Norwich, England. 126+ p.

- Shao H. B., Chu, L.Y., Shao M. A., Jaleel C.A. and Mi, H. M. 2008. Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses, *Compt. Rend. Biol.*, (331): 433-441.
- Shvaleva, A., Silva, F. C., Scotti, P., Oufir, M., Jean-François Hausman, J. and Cedric, S. 2008. Physiological and biochemical responses to low non-freezing temperature of two *Eucalyptus globulus* clones differing in drought resistance. *Ann. For. Sci.*, 65:204.
- Singh B and Datta, P.S. 2010. Effect of low dose gamma irradiation on plant and grain nutrition of wheat. *Rad Phys Chem.*, 79: 819-825.
- Spiegel-Roy, P. and Padova, R. 1973. Radiosensitivity of Shamouti orange (*C. Sinensis*) seeds and buds. *Radiation Botany*, (13): 105-110.
- Spiegel-Roy, P., Vardi, A. and Elhanati, A. 1985. Seedless induced mutant in lemon (*Citrus limon*). *Mutation Breeding Newsletter*, (26): 1-2.
- Starrantino, A., Russo, F., Donini, B. and Spina, P. 1988. Lemon mutants obtained by gamma irradiation of the nucellus cultured in vitro. *Citriculture*, 1: 231-235.
- Szalai, G., Jvea, T., Paldi, E. and Dubacq, J.P. 2001. Changes in the fatty acid unsaturation after hardening in wheat chromosome substitution lines with different cold tolerance. *J. Plant Physiol.*, 158: 663-666.
- Szalay, L., Hegedűs, A. and Stefanovits-Bányai, E. 2005. Presumable protective role of peroxidase and polyphenoloxidase enzymes against freezing stress in peach (*Prunus persica* /L./ Batsch). *Acta Biologica Szegediensis*, 49 (1-2): 53-54.
- Taehyun H and Jinyeong, K. 2016. The study of tetraploid production in C. unshiu Sangdojosaeng and C. Hybrid Sagakashı 34 Gou by colchicine treatment. The 13th International Citrus Congress, 18-23 September, Foz do Iguaçu, PR–Brazil.
- Tallon, C.I., Poras, I., and Perez-Tomero, O. 2012. Radiosensitivity of seeds and nodal segments of citrus rootstocks irradiated in vitro X-rays from ⁶⁰Co. The 12th International Citrus Congress, pp.55, 18-23 November, Valencia, Spain.
- Tang, X.L., Li, Z.Q., Wu, S.Y., Peng, C.J., Ma, P.Q. and Wang, P. 2008. Breeding of a new citrus cultivar ‘Shaohehoncheng’. The 11th International Citrus Congress, pp. 172, 26-30 October, Wuhan, China.
- Tang, X.L. and Ma, P.Q. 2012. Studies on mutation breeding for seedless and low-seeded cultivars of citrus. The 12th International Citrus Congress, pp.55 18-23 November, Valencia, Spain.
- Tang, X.L., Li, Z.Q., Wu, S.Y., Peng, C.J., Zeng, S.R. and Yi, G.J. 1993. Breeding of seedless Hong jiang cheng by repeated budwood irradiation. *China-Citrus*, 22 (4): 1819
- Toker, C., Uzun, B., Canci, H., Ceylan, FO. 2005. Effects of gamma irradiation on the shoot length of Cicer seeds. *Radiation physics and chemistry*, 73: 365-367.

- Tripaty, S. K., Mishra, P. K., Rout, G. R. and Das, A. B. 2011. Biochemical and molecular Basis of cold tolerance in plants. *Biotechnology: a New Approach* (P:C. Trivedi Eds) Agribios (India): pp. 161-187.
- Tuzcu, Ö., Özsan, M., Hızal, A. Y. ve Kaşka, N. 1977. Çukurova bölgesinde şubat 1975'te görülen düşük sıcaklıkların Adana koşullarında bazı bazı turunçgil tür ve çeşitlerindeki zararları üzerinde bir araştırma. *Ç. Ü. Zir. Fak. Yıllığı* 1975, 6: 254-271.
- Tuzcu, Ö. 1979. Bazı Önemli Turunçgil Anaçlarında Değişik Çevre Koşullarının Büyüme Üzerine Etkileri, Düşük Sıcaklıklara Dayanıklılık ve Bununla Elektrolitik İletkenlik Oranları Arasındaki İlişkiler. Doçentlik Tezi. Ç. Ü. Ziraat. Fakültesi. Adana, 166 s.
- Tuzcu, Ö., Kaplankıran, M. ve Yeşiloğlu, T. 1988. Turunçgillerde Radyasyon Uygulaması ile Yeni Çeşitlerin İslahı. Ç.Ü. Araştırma Fonu 1. Bilim Kongresi (Ziraat-FenMühendislik-İdari Bilimler), 1: 25-34, 28-30 Kasım, Adana.
- Tuzcu, Ö., Anıl, Ş., Yeşiloğlu, T., Kafa, G., Turgutoğlu, E. 2013. Türkiye Turunçgil Genetik Kaynakları Kitabı. Mersin, 868 s.
- Uzun, A., Gülşen, O., Kafa, G. ve Seday, U. 2008. 'Alata', 'Gulsen', and 'Uzun' Seedless Lemons and 'Eylul' Early-maturing Lemon. *Hortscience*, 43: 1920–1921.
- Van Heck, A., Horemans, N., Van Hees, M., Nauts, R., Knapen, D., Vandenhove, H. and Blust, R. 2015. Characterizing dose response relationships: chronic gamma radiation in *Lemna minor* induces oxidative stress and altered polyploidy level. *J. Environ. Radioact.*, 150: 195–202.
- Vieira, D. D. S. S., Emiliani, G., Michelozzi, M., Centritto, M., Luro, F., Morillon, R., ... and Maserti, B. 2016. Polyploidization alters constitutive content of volatile organic compounds (VOC) and improves membrane stability under water deficit in Volkamer lemon (*Citrus limonia* Osb.) leaves. *Environmental and Experimental Botany*, 126: 1–9.
- Wang, J.H., Liu, J.J., Chen, K.L., Li, H.W., He, J., Guan, B., and He J. 2016. Anthocyanin biosynthesis regulation in the fruit of *Citrus sinensis* cv. Tarocco. *Plant Molecular Biology Reporter*, 34(6): 1043-1055.
- Wang, X., Ma, R., Cui, D., Cao, Q., Shan, Z., Jiao Z. 2017. Physio-biochemical and molecular mechanism underlying the enhanced heavy metal tolerance in highland barley seedlings pre-treated with low-dose gamma irradiation. 27 Oct 2017, *Scientific Reports*, 7(1):14233.
- Wilson, S.B., K. Iwaabuchi, N.C. Rajapakse and R.E. Young, 1998. Response of Broccoli seedlings to light quality during low temperature storage *in vitro*: 2.Sugar content and photosynthetic efficiency. *HortSci.*, 33: 1258–61.
- Weisberg, S. 1985. *Applied Linear Regression*. 2nd ed. John Wiley, New York, pp 324.
- Williams, T.E. and Roose, M.L. 2008a. Tango-A New, Very Low-Seeded, Late Season Irradiated Selection of W. Murcott Mandarin from the University of California

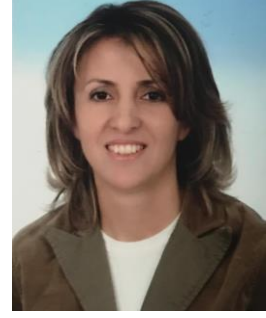
- Riverside. Proceedings of the International Society of Citriculture, 1: 202.
- Williams, T.E. and Roose, M.L. 2008b. Daisy SL, Fairchild SL and Kinnow SL-Three New, Very Low-Seeded, Mid Season Irradiated Selection of W. Murcott Mandarin from the University of California Riverside. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 1: 203.
- Williams, S. 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Published by the Association of Official Analytical Chemist. Inc. Virginia 22209, USA. 140: 59-60.
- Wright, M., 1974. The effect of chilling on ethylene production, membrane permeability, and water loss of *Phaseolus vulgaris*. *Plants*, 120: 63-69.
- Xu, J., Gong, J., Wang, L., Ke, F. and Nie, Z. 2008. Dongjian Citrus succosa Hort. Ex Tanaka, A New Mandarin Selection of Seedling Mutation. The 11th International Citrus Congress, pp 168-170, 26-30 October, Wuhan, China.
- Xu, J.G., Ke, F.Z., Huang, J.Z., 2012. Qing-ougan: the green-peel mandarin mutation of Ougan in Zhejiang province. China. The 12th International Citrus Congress, pp.55, 18-23 November, Valencia, Spain.
- Xu, X., Zhang, L., Liu, B., Ye, Y. and Wu, Y. 2014. Characterization and mapping of a spotted leaf mutant in rice (*Oryza sativa*). *Genetics and Molecular Biology*, 37(2): 406–413.
- Yadav, S. K. 2010. Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agron. Sustain. Dev.*, 30: 515–527.
- Yelenosky, G. 1971. Effect of the light on hardening of citrus seedlings. *Hort. Science*, 6: 234-235.
- Yelenosky, G. 1978. The effect of withholding water on cold hardiness of ‘Valencia’ orange and ‘Star Ruby’ grapefruit trees in controlled freezes. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 91: 18-20.
- Yelenosky, G. 1978. Cold hardening ‘Valencia’ orange trees to tolerate -6,70°C without injury. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 103: 449-452.
- Yelenosky, G. 1979. Water-stress-induced cold hardening of young citrus trees. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 104 (2): 270-273.
- Yelenosky, G. and Vu, J.C.V. 1992. Ability of ‘Valencia’ sweet orange to cold acclimate on cold-sensitive citron rootstock. *Hortscience*, 27(11): 1203.
- Yılmaz, E., Tuna, A. L. ve Bürün, B. 2011. Bitkilerin tuz stresi etkilerine karşı geliştirdikleri tolerans stratejileri. *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 1: 47–66.
- Young, R. 1969. Cold hardening in citrus seedlings as related to artificial hardening conditions. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 94: 612-614.

- Yuan, F., Long, G. and Deng, Z. 2008. 'Jingxian' Blood orange: The only pigmented sweet orange cultivar originated in China. The 11th International Citrus Congress, pp. 70-72. 26-30 October, Wuhan, China.
- Zhang, C., Nesbitt, M., Dane, F. and Ebel, B. 2002. Cold hardiness and genetic relationships among Satsuma mandarin cultivars. American Society for Horticultural Science and the International Society for Horticultural Science joint annual meeting, 10-16 Aug., Toronto, Canada.
- Zhongfeng, L., Lingxue, J., Yansong, M., Zhongyan, W., Huilong, H. and Lijuan, Q. 2017. Development and utilization of a new chemically-induced soybean library with a high mutation density. *J Integr Plant Biol.* Jan, 59(1): 60-74.
- Zhou, Y.B., Peng, D.X., Zhou, Z.X., Zhang, J.Y. and Dai, Z.G. 1995. Studies on the mutagenic effect of an electron beam on citrus budwood. *China-Citrus*, 24(1): 7-10.
- Zhou, C.H., Huang, D.H. and Xiao, J.X. 2008. Breeding of sweet orange variety Xingguotiancheng 3-5. The 11th International Citrus Congress, pp. 171-175, 26-30 October, Wuhan, China.

ÖZGEÇMİŞ

Zeynep ERYILMAZ

Zeyneper07@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2010-2019	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans 1992-1995	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans 1987-1991	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Teknik Eleman 1999-Devam Ediyor	Batı Akdeniz Tarımsal araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya
------------------------------------	---

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Eryılmaz, Z., Yeşiloğlu, T. (2004). The Effect of Girdling, Fe-Chelate and Sea Weed Extract Application on Fruit Yield and Quality of Clementine Mandarin. 10th International Citrus Congress, February 15– 19, Agadir, Morocco. 614-616).
- 2- Eryılmaz, Z., Özkan, C., Demirtaş, I., Çelik, N. (2008). Antalya Serik Koşullarında Organik Star Ruby Altıntop Yetiştiriciliğinde Yeşil gübreleme ve Zeytin Kekiinin Kullanım İmkanlarının Araştırılması. 11th International Citrus Congress, Wuhan, China.

- 3- Eryılmaz Z, Ercisli S., Gübbük H., and Tuncay M. (2012). A New orange cultivar 'BATEM Baharı' selected from cv. Valencia Late. 12th International Citrus Congress, October 15 – 19, 2012 Valencia, Spain. 614-616.
- 4- Eryılmaz Z., Dal B., Tuncay M., Balkılıç R., and Gübbük H. (2012). BATEM Fatih: A New Orange Selection from cv. Washington Navel. 12th International Citrus Congress, October 15 – 19, 2012 Valencia, Spain. 614-616.
- 5- Eryılmaz Z., Tuncay M., Yener A., Göral T., Salman A., Hazal A.Y. and Gübbük, H. (2013). BATEM Şekeri, Uluslararası bitki ıslahı kongresi 10-14 Ekim Antalya/Türkiye.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- 1- Eryılmaz, Z., Ataseven Işık, E., Eşitken, A. ve Eski, H. (2003). Etkili Mikroorganizmaların Organik Tarımda Kullanım Olanakları. IV. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 8-12 Eylül, Antalya (Poster, s.559-562)
- 2- Kelten, M., Taşdemir, T., Göçmen, M., Güneş, S., Taşdemir, H.A., Eryılmaz, Z., Tepe, S., Dal, B., Turgutoğlu, E., Aktaş, G., Kurt, Ş. (2003). Türkiye Turunçgil Çeşit Geliştirme Programı Türkiye 4. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Kongre Kitapçığı, s:63-66. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Antalya 8-12 Eylül.
- 3- Eryılmaz, Z. (2009). Turunçgillerde Don zararı ve Dondan Korunma Yöntemleri Tarım Türk Dergisi, Kasım Aralık 2009 Sayı 20 yıl:4:64-66.
- 4- Eryılmaz, Z., Özkan, C., Demirtaş, I., Çelik, N., (2008) Antalya Serik Koşullarında Organik Star Ruby Altıntop Yetiştiriciliğinde Yeşil gübreleme ve Zeytin Kekiinin Kullanım İmkanlarının Araştırılması. 11th International Citrus Congress, Wuhan, China.