

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FORTUNE MANDARİNİNDE MUTASYON YOLUYLA *Alternaria alternata* f.sp. *citri*
ETMENİNE KARŞI TOLERANT YENİ MUTANTLARIN ELDE EDİLMESİ VE
MUTANTLARDAKİ BAZI DOĞAL HORMON SEVİYELERİNİN SAPTANMASI**

Ertuğrul TURGUTOĞLU

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**FORTUNE MANDARİNİNDE MUTASYON YOLUYLA *Alternaria alternata* f.sp. *citri*
ETMENİNE KARŞI TOLERANT YENİ MUTANTLARIN ELDE EDİLMESİ VE
MUTANTLARDAKİ BAZI DOĞAL HORMON SEVİYELERİNİN SAPTANMASI**

Ertuğrul TURGUTOĞLU

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2019

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FORTUNE MANDARİNİNDE MUTASYON YOLUYLA *Alternaria alternata* f.sp. *citri*
ETMENİNE KARŞI TOLERANT YENİ MUTANTLARIN ELDE EDİLMESİ VE
MUTANTLARDAKİ BAZI DOĞAL HORMON SEVİYELERİNİN SAPTANMASI**

Ertuğrul TURGUTOĞLU

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
tarafından 2014.03.0121.016 nolu proje ile desteklenmiştir.**

OCAK 2019

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FORTUNE MANDARİNİNDE MUTASYON YOLUYLA *Alternaria alternata* f.sp. *citri*
ETMENİNE KARŞI TOLERANT YENİ MUTANTLARIN ELDE EDİLMESİ VE
MUTANTLARDAKİ BAZI DOĞAL HORMON SEVİYELERİNİN SAPTANMASI**

Ertuğrul TURGUTOĞLU

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 14 / 01 / 2019 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İbrahim BAKTİR (Danışman)

Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU

Prof. Dr. Salih ÜLGER

Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ

Dr. Öğretim Üyesi İlhami TOZLU

ÖZET

FORTUNE MANDARİNİNDE MUTASYON YOLUYLA *Alternaria alternata* f.sp. *citri* ETMENİNE KARŞI TOLERANT YENİ MUTANTLARIN ELDE EDİLMESİ VE MUTANTLARDAKİ BAZI DOĞAL HORMON SEVİYELERİNİN SAPTANMASI

Ertuğrul TURGUTOĞLU

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. İbrahim BAKTİR

14/01/2019; 69 sayfa

Alternaria kahverengi leke hastalığı (*Alternaria alternata* f.sp. *citri*) birçok mandarin ve melezlerinin yaprak, dal ve meyvelerine zarar vermektedir. Bu araştırmada, mutasyon ıslahı ile turuncgillerde hastalığa hassas olduğu bilinen Fortune mandarininden (*Citrus reticulata* Blanco) tolerant genotiplerin elde edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla; Fortune mandarin aşı gözlerine 2014 yılında ⁶⁰Co kaynağından 50 ve 60 gray dozlarında akut gamma ışını uygulanmıştır. Işınlanan gözler Yerli turunc anacı üzerine ‘T’ göz aşısı ile aşılanarak M₁V₁, M₁V₂ ve M₁V₃ bitkileri elde edilmiştir. *Alternaria* kahverengi leke hastalığına tolerantlık durumu M₁V₃ aşamasında elde edilen bitkilerde test edilmiştir. Hastalık testlemesi için kullanılan izolat Adana’daki bir ticari Minneola tanjelo bahçesinden elde edilmiştir. Hastalık testlemeleri ilk önce, bitkilerin sürgün ucuna yakın olan 1-2 cm uzunluğundaki yapraklarında *in vitro* koşullarda yapılmıştır. *Alternaria* kahverengi leke hastalığına karşı *in vivo* değerlendirmelerde araştırmadan elde edilen 9 adet tolerant ve 2 adet hassas olan birey ile ticari Fortune, Clementine Fina, Okitsu Wase ve Minneola tanjelo çeşitleri kullanılmıştır. Absisik asit (ABA), gibberellik asit (GA₃), indol asetik asit (IAA) ve zeatin (Z) analizleri için fidanların yaprakları budanmıştır. Budamadan sonra gelişen genç yapraklar 2-3 cm uzunluğa eriştiğinde yapraklara hastalığa ait spor süspansiyonu uygulanmıştır. Uygulamadan önceki yapraklar ile uygulamadan sonraki 24-72 saat sonrasında hastalık belirtileri gözlenen yapraklarda içsel hormon analizleri gerçekleştirilmiştir.

Hem *in vitro* hem de *in vivo* testlemeler sonucunda, patojenik fungus olan *Alternaria* kahverengi leke hastalığı etmenine karşı 111 mutant birey arasından 9 adet mutant bireyin tolerant olabileceği belirlenmiştir. Testlemeler neticesinde Clementine Fina ve Okitsu Wase mandarin çeşitlerinin hastalık etmenine karşı tolerant olmalarına karşın Minneola tanjelo ve Fortune mandarin çeşitleri hassas olarak bulunmuştur.

Çoğu genotiplerde hastalık inokulasyonu sonrasında saptanan GA₃ seviyesi, inokulasyon öncesine göre düşüş göstermiştir. IAA seviyesi bazı genotiplerde inokulasyon sonrası azalırken, diğer bazı genotiplerde ve çeşitlerde ise artmıştır. Genotiplerdeki zeatin seviyesi hastalık inokulasyonu sonrasında düşüş göstermiştir. Ancak, çeşitlerde zeatin seviyesi bazılarında artmış, bazılarında ise azalmıştır. İnokulasyondan sonra ve önce saptanan absisik asit seviyeleri diğer hormonlarda olduğu gibi çok fazla değişmemiştir. Genel olarak; absisik asit, gibberellik asit ve zeatin seviyeleri inokulasyon öncesi daha yüksek iken inokulasyondan sonra azaldığı

saptanmıştır. İndol asetik asit seviyesinin ise inokulasyon sonrasında, inokulasyon öncesine göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Tolerant genotipler daha ileri değerlendirmeler için açık araziye dikilmişlerdir.

ANAHTAR KELİMELEER: Alternaria kahverengi leke hastalığı, hormon, mandarin, mutasyon

JÜRİ: Prof. Dr. İbrahim BAKTİR

Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU

Prof. Dr. Salih ÜLGER

Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ

Dr. Öğretim Üyesi İlhami TOZLU

ABSTRACT

A RESEARCH TO OBTAIN TOLERANT NEW MUTANT GENOTYPES VIA MUTATION BREEDING FROM FORTUNE MANDARIN AGAINST ALTERNARIA BROWN SPOT DISEASE AND DETERMINATION OF SOME PHYTOHORMON LEVELS IN THESE MUTANT GENOTYPES

Ertuğrul TURGUTOĞLU

PhD Thesis in Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. İbrahim BAKTİR

14/01/2019; 69 pages

Alternaria brown spot disease caused by the *Alternaria alternata* pv. *citri* factor affects the leaves, branches and fruits of many tangerine types and their hybrids. In this study, it is aimed to obtain tolerant genotypes by mutation breeding in Fortune tangerine (*Citrus reticulata* Blanco) which is known to be sensitive to the brown spot disease of citrus. Gamma rays were applied to Fortune mandarin budwoods at doses of 50 and 60 gray from ^{60}Co as a physical mutagen in 2014. The irradiated budwoods were consecutively grafted onto common sour orange by using 'T' grafting in order to obtain M_1V_1 , M_1V_2 and M_1V_3 individuals, respectively. The tolerance status against Alternaria brown spot disease was examined in 111 candidate plants. The isolate used in this study was obtained from a commercial 'Minneola tangelo' orchard in Adana, Turkey. Disease tests were performed in leaves located within 1-2 cm length near the shoot tip of the plants *in vitro* conditions. For *in vivo* evaluations of Alternaria brown spot disease resistancy, in 9 tolerant and 2 sensitive mutant individuals and Fortune, Clementine Fina, Okitsu Wase and Minneola tangelo commercial cultivars were used.

As a result of both *in vitro* and *in vivo* testings and evaluations, it was determined that 9 mutant genotypes could be tolerant against the pathogenic Alternaria brown spot disease. Meantime, similar testing of commercial cultivars showed that Clementine Fina and Okitsu Wase mandarin were found to be tolerant while Minneola tangelo and Fortune mandarin were found to be sensitive against the Alternaria brown spot disease.

Leaves of the seedlings were cut in order to the conidial suspensions disease treatment when the young leaves reached to length of 2 to 3 cm after the pruning for abscisic acid, gibberellic acid, indole acetic acid and zeatin analysis. Hormone analyzes of the leaves were carried out in order before the inoculation and after 24 – 72 hours from the inoculation.

In most genotypes, gibberellic acid level was determined comparatively lower after the disease inoculation compared to pre-inoculation tests. The gibberellic acid level of commercial cultivars increased in the inoculated ones. Indole acetic acid levels decreased after inoculation in the some genotypes while it increased in some genotypes and cultivars. The zeatin level in the genotypes decreased after inoculation. However, the zeatin level increased in some of commercial cultivars whereas zeatin decrements

were detected in some other commercial cultivars. Absciscic acid levels did not significantly change before and after the inoculations. The results of phytohormone analysis showed that the levels of absciscic acid gibberelic acid and zeatin were higher before the inoculations compared to after inoculation in the genotypes. However, indole acetic acid level increased after the inoculation compared to non inoculated ones. Nine tolerant genotypes were transferred to open field for the further evaluations.

KEYWORDS: Alternaria brown spot disease, hormone, mandarin, mutation

COMMITTEE: Prof. Dr. İbrahim BAKTİR

Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU

Prof. Dr. Salih ÜLGER

Assoc. Prof. Dr. Zeynel DALKILIÇ

Asst. Prof. Dr. İlhami TOZLU

ÖNSÖZ

Zengin bir C vitamini içeriğine sahip olan turunçgiller, insan sağlığı için son derece önemlidir. Turunçgiller taze tüketiminin yanında; meyve suyu, konsantre, reçel, marmelat olarak çeşitli ürünlere işlenebilmekte ve kabuklarından da esans elde edilebilmektedir.

Ülkemizde toplam 237.625.723,9 dekar tarım alanının % 13.46'sında meyve ve bağ yetiştiriciliği yapılmaktadır. Türkiye'de 2016 yılı verilerine göre 20.580.293 ton meyve üretilmekte bunun da % 23.18'ini turunçgiller oluşturmaktadır (Anonim 1). Ülkemiz turunçgil üretimi 2017 yılı verilerine göre 4.769.726 ton ile dünya üretiminin % 3.25' ini oluşturmaktadır. Türkiye turunçgil üretiminin ise % 40.88'ini portakal, % 32.51'ni mandarin, % 21.12'sini limon, % 5.45'ini altıntop ve % 0.04'ünü ise diğer turunçgil meyveleri oluşturmaktadır (Anonymous 1).

Alternaria kahverengi leke hastalığının yaprak enfeksiyonları, ağacın zayıflamasına ve bir yıl sonraki ürünün doğrudan etkilenmesine neden olmaktadır. Etmen kış boyunca enfekteli yapraklarda hayatta kalmakta ve büyüme mevsimi boyunca gövde ve meyvelerde inokulum kaynağı olarak bulunmaktadır. Meyveler 3-4cm çap büyüklüğüne ulaşınca kadar hastalığa karşı duyarlıdır ve Meyveler çok küçükken hastalığa yakalanırsa dökülebilmektedir. Alternaria kahverengi leke hastalığı ile mücadele edebilmek için ilkbahar döneminde 2 hafta aralıklarla en az 5 ilaçlama yapılması gerekmektedir. Uygun bir ilaçlama programı ile bile hastalığın gelişimi tam olarak engellenememektedir. Ülkemizde bu hastalığa hassasiyeti nedeniyle orta-geç dönemde olgunlaşan Minneola tanjelo çeşidinin üretimi oldukça azalmıştır. Yapılan çalışma neticesinde Alternaria kahverengi leke hastalığına tolerant bireylerin belirlenmesi ile hem geç dönemde olgunlaşan Fortune mandarin çeşidinin üretiminin yaygınlaşmasındaki engel kaldırılmış hem de bu hastalığın kontrolü amacıyla üreticilerin kullanmak zorunda oldukları ilaçlardan kaçınılmış olunacaktır. Bu durum ise ekonomik avantajı yanında ilaçların kalıntı etkisinin azalması nedeniyle daha sağlıklı üretime imkân verecektir.

Bana bu çalışma imkânını veren, denemenin düzenlenmesi ve araştırmanın yürütülmesinde her türlü yardımını esirgemeyen Uluslararası Kıbrıs Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi Dekanı hocam Sayın Prof. Dr. İbrahim BAKTİR'a ve tez izleme komitesinde yer alan Prof. Dr. Salih ÜLGER ve Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca denememin çeşitli aşamalarında bana her konuda yardımcı olan, Sayın Dr. Ercan CANİHOŞ ile arkadaşlarım Şenay KURT, Bengi TOPKAYA ve Gülay DEMİR'e, sevgili oğlum Berkay TURGUTOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	4
2.1. Turunçgillerde Yapay Mutasyon Yoluyla Yapılan İslah Çalışmaları	4
2.2. Bitkisel Hormonlar ve Bitki Hastalıkları ile İlişkiler	9
2.3. Alternaria Kahverengi Leke Hastalığı ile İlgili Yapılan Çalışmalar	19
3. MATERYAL VE METOT	23
3.1. Materyal.....	23
3.2. Metot	25
3.2.1. Mutajen uygulamasıyla Fortune mandarin mutant populasyonlarının oluşturulması	25
3.2.2. Alternaria alternata f.sp. citri izolatlarının toplanması ve izolasyonu.....	27
3.2.3. In vitro’da Alternaria alternata f.sp. citri etmenine karşı reaksiyonların belirlenmesi	28
3.2.4. In vitro’da tolerant ve hassas olarak belirlenen bireylerin fidanlarında Alternaria alternata f.sp. citri etmenine karşı reaksiyonlarının belirlenmesi	29
3.2.5. Alternaria alternata f.sp. citri etmenine karşı mutantlardaki bazı doğal hormon seviyelerinin saptanması amacıyla HPLC ve DAS-ELISA çalışmaları	31
3.2.6. İstatistiksel değerlendirme	36
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	37
4.1. Mutajen uygulamasıyla Fortune mandarin mutant populasyonlarının oluşturulması	37

4.2. <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> izolatlarının toplanması ve izolasyonu	37
4.3. <i>In vitro</i> 'da <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmenine karşı reaksiyonların belirlenmesi	38
4.4. <i>In vitro</i> 'da tolerant ve hassas olarak belirlenen bireylerin fidanlarında <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmenine karşı reaksiyonlarının belirlenmesi	40
4.5. <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmenine karşı mutantlardaki bazı doğal hormon seviyelerinin saptanması amacıyla HPLC ve DAS-ELISA çalışmaları	41
5. SONUÇLAR	48
6. KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Fortune Mandarininde Mutasyon Yoluyla *Alternaria alternata* f.sp. *citri* Etmenine Karşı Tolerant Yeni Mutantların Elde Edilmesi ve Mutantlardaki Bazı Doğal Hormon Seviyelerinin Saptanması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

14/01/2019

Ertuğrul TURGUTOĞLU

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm	: Santimetre
g	: Gram
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
ppm	: Milyonda bir
pmol	: Pikomol
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
°C	: Santigrad derece
%	: Yüzde

Kısaltmalar

ABA	: Absisik asit
DAS-ELISA	: Double antibody sandwich indirect enzyme-linked assay
GA ₃	: Gibberellik asit
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografi
IAA	: İndol asetik asit
PBST	: Phosphate buffered saline with Tween 20
TBS	: Tris – buffered saline
Z	: Zeatin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Alternaria kahverengi leke hastalığının semptomlarını gösteren Fortune mandarinini a) meyvesi; b) yaprakları	23
Şekil 3.2. Deneme alanının uydu görüntüsü	24
Şekil 3.3. Türkiye Atom Enerjisi Kurumunda akut gamma ışını uygulanan a) Fortune mandarin aşı gözleri ve b) Co ⁶⁰ kaynağı	26
Şekil 3.4. Aşılamalar sonrası a) tepe kesimi yapılan bireyler; b) süren aşı gözleri	26
Şekil 3.5. Alternaria alternata f.sp. citri sporlarının ışık mikroskobu altında a) 20 µm; b) 50 µm boyutta görünümü	27
Şekil 3.6. Mutant bireylerin in vitro'da yaprak testlemelerinde kullanılan taze yapraklarından bir görünüm	28
Şekil 3.7. Yaprığın alt yüzeyine mikropipet yardımıyla 20 µl konidi süspansiyonu ilave edilmesi	29
Şekil 3.8. Alternaria kahverengi leke hastalığına a) hassas; b) tolerant bulunan bireylerden görünüm	29
Şekil 3.9. İnokulasyon büyüklüğüne gelen yapraklar	30
Şekil 3.10. Hastalık inokulasyonu sonrası nem kaybını azaltmak için polietilen torbalar içerisine alınan yapraklar	30
Şekil 3.11. İnokulasyon sonrasında hastalık belirtisi görülen bitkiler	31
Şekil 3.12. İnokulasyon sonrasında hastalık belirtisi görülmeyen bitkiler	31
Şekil 3.13. Çalışmada izlenen ekstraksiyon ve saflaştırma aşamaları.....	32
Şekil 3.14. Örneklerin homojenize edilmesi	33
Şekil 3.15. Örneklerin homojenize edildikten sonra 4 °C'de karanlıkta 24 saat bekletilmesi	33
Şekil 3.16. Rotary evaporatörde metil alkolün uzaklaştırılması	33
Şekil 3.17. Hormon analizlerinde kullanılan HPLC cihazının görünümü	34
Şekil 3.18. TBS Buffer ile seyreltme yoluyla absisik asit standartlarının hazırlanma şeması	35
Şekil 3.19. Test kiti içerisinden çıkan kaplanmış tabakaların kuyucuklarına eklenen preparatların görünümü	36

Şekil 3.20. Preparatların eklendiği test kitine ait tabakaların spektrofotometrede okutulması	36
Şekil 4.1. Patojenisite testlemesine alınan iki farklı hastalık izolatu görünümü	38
Şekil 4.2. Hastalık testlemelerinde a) <i>in vivo</i> ; b) <i>in vitro</i> görülen hastalık şiddetlerinin görünümü	40
Şekil 4.3. HPLC cihazından elde edilen örnek kromatogramlar	41



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan absisik asit standartlarının TBS Buffer ile seyreltme yoluyla hazırlanması	35
Çizelge 4.1. Fortune mandarininde gamma ışın uygulaması yapılan ve süren aşı gözü sayıları.....	37
Çizelge 4.2. Mutant bireyler ile oluşturulan M_1V_2 ve M_1V_3 popülasyonu sayıları	37
Çizelge 4.3. Turunçgil genotiplerinin in vitro değerlendirmeleri sonucu <i>Alternaria</i> kahverengi leke hastalığına hassasiyetleri	38
Çizelge 4.4. Fortune mandarin mutantlarının <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel GA_3 seviyelerindeki değişim (ppm)	42
Çizelge 4.5. Ticari çeşitlerin <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel GA_3 seviyelerindeki değişim (ppm).....	42
Çizelge 4.6. Fortune mandarin mutantlarının <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel IAA seviyelerindeki değişim (ppm)	43
Çizelge 4.7. Ticari çeşitlerin <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel IAA seviyelerindeki değişim (ppm).....	43
Çizelge 4.8. Fortune mandarin mutantlarının <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel zeatin (Z) seviyelerindeki değişim (ppm)	44
Çizelge 4.9. Ticari çeşitlerin <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel zeatin (Z) seviyelerindeki değişim (ppm).....	44
Çizelge 4.10. Fortune mandarin mutantlarının <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel ABA seviyelerindeki değişim (ppm)	45
Çizelge 4.11. Ticari çeşitlerin <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>citri</i> etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel ABA seviyelerindeki değişim (ppm)	45

1. GİRİŞ

Turunçgiller, Rutaceae familyasının, Aurantioideae alt familyasında *Citrus* cinsine ait olup, içerisinde portakal (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), limon (*Citrus limon* (L.) Burm. f.), mandarin (*Citrus reticulata* Blanco), altıntop (*Citrus paradisi* Macf.) gibi ticari türleri içermektedir. Ekvatorun 40° kuzey ve güney enlemleri arasında yer alan ülkelerin tamamında yetiştiriciliği yapılabilmektedir (Taşdemir vd. 2001).

Zengin bir C vitamini içeriğine sahip olan turunçgiller, insan sağlığı için son derece önemlidir. Turunçgiller taze tüketiminin yanında; meyve suyu, konsantre, reçel, marmelat olarak çeşitli ürünlere işlenebildiği gibi kabuklarından da esans elde edilebilmektedir.

Turunçgil yetiştiriciliği gerek dünyada ve gerekse ülkemizde hızlı bir gelişme sürecindedir. Son 30 yılın dünya turunçgil üretimi incelendiğinde; 1980 yılında yaklaşık 55 milyon ton olan üretimin, 2017 yılında 146.6 milyon tona yükseldiği görülmektedir. Dünya üretiminde 2017 yılı verilerine göre Çin, Brezilya ve Hindistan ilk üç sırayı alan ülkelerdir. Ülkemizde toplam 237.625.724 dekar tarım alanının % 13.46'sında meyve ve bağ üretimi yapılmaktadır. 2017 yılı verilerine göre ülkemizde 20.580.293 ton meyve üretilmekte bunun da % 23.18'ini turunçgiller oluşturmaktadır (Anonim 1). Türkiye, 2017 yılında 4.769.726 ton üretim ile dünya üretiminin % 3.25'ini oluşturmakta ve önemli turunçgil üreticisi ülkeler arasında 7. sırada yer almaktadır. Bu üretimin 1.950.000 tonunu portakal, 1.550.469 tonunu mandarin, 1.007.133 tonunu limon, 260.000 tonunu altıntop ve 2.124 tonunu ise diğer turunçgil meyveleri oluşturmaktadır (Anonymous 1). Türkiye İstatistik Kurumunun 2017 yılı verileri incelendiğinde Türkiye turunçgil üretiminin bir önceki yıla göre % 11.10 artış gösterdiği ve üretimin % 86.78'inin Akdeniz Bölgesinde yapıldığı ve daha sonra % 12.70 ile Ege Bölgesinin takip ettiği görülmektedir (Anonim 1).

Ülkemizin toplam yaş meyve ve sebze ihracatımız içinde turunçgiller; 2017 yılında 1.672.800.000 kg ihracat miktarı ile bir önceki yıl ile aynı oranda kalmasına rağmen elde edilen gelir bakımından % 3'lük bir azalışla 849.600.000 \$ olarak gerçekleşmiştir. Turunçgil meyveleri, 2017 yılı toplam yaş meyve ve sebze ihracat miktarının % 42,22 ve elde edilen ihracat gelirinin ise % 38,08'sini turunçgil meyveleri oluşturmakta olup yaş meyve ve sebze ihracatında ilk sırada yer almaktadır. 2017 yılı toplam turunçgil ihracatımızın % 41.68'ini mandarin, % 28.40'ını limon, % 22.05'ini portakal ve % 7.87'sini altıntop oluşturmaktadır (Anonim 2).

Dünyada son yıllarda kolay soyulabilen turunçgil çeşitlerine olan eğilim artmaktadır. Ülkemizde de yurtdışı talepleri doğrultusunda turunçgiller ve özellikle de mandarin üretim sezonunun daha da uzatılabilmesi amacıyla yeni çeşitlere ağırlık verilmeye başlanmıştır. Özellikle daha geç dönemde olgunlaşan çeşitlerin yaygınlaşmasıyla birlikte bazı hastalıklar da önem kazanmaya başlamıştır. Bu hastalıklardan biri de turunçgillerde *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeninin neden olduğu *Alternaria* kahverengi leke hastalığıdır. *Alternaria* cinsi az veya çok koyu pigmentli, konidiyoforlar üzerinde zincir şeklinde spor oluşturan eşeyli üreme dönemi bilinmeyen *Deuteromycetes* sınıfı funguslardandır. Yaklaşık 100 kadar türü bulunan bu patojen, hububat, süs bitkileri, yağlık tohumlu bitkiler, sebzeler ve meyve ağaçları

olmak üzere birçok kültür bitkisinde ekonomik düzeyde etkili olmaktadır (Joly 1964; Ellis 1971, 1976; Simmons 1992; Strandberg 1992; Rotem 1994).

Hastalık etmeni genç yaprak, sürgün ve genç meyvelerde enfeksiyon yapmaktadır. Genç yapraklarda genellikle yaprağın uç ve kenar kısmından başlayan enfeksiyonlar yaprağın orta kısmına doğru yayılmakta, yaprak üzerinde sarı halelerle birlikte kahverengi düzensiz lekeler oluşturmaktadır. Enfekteli yapraklar kısa sürede dökülmekte, bunun sonucunda ağaçlar zayıflamakta ve bir yıl sonraki ürün de doğrudan etkilenmektedir. Hastalığa hassas olan çeşitlerde 3.5-4.0 cm çapındaki meyvelerin yüzeyinde 1-3 mm çapta kahverengi siğil şeklinde mantar doku oluşmakta, bu mantar dokular birleşerek meyve yüzeyinde geniş bir alan oluşturabilmektedir. Hastalık gelişimi sonucunda enfekte olan genç yaprak ve meyveler dökülmekte, olgun meyveler ise ihraç özelliğini kaybetmektedir (Canlıhoş ve Erkılıç 1998).

Mutasyon, kalıtım materyalinin (DNA, RNA ve Plasmid) fiziksel veya kimyasal yapısının dış veya iç nedenlerle değiştirilmesi sonucu canlıda meydana gelen kalıtsal değişimlerdir. Kromozom mutasyonu terimi kromozomlardaki yapı değişikliklerini içerir. Gen mutasyonu; bir genin bir dereceye kadar farklı bir gen olarak değişimini belirler. Genin tabiatında meydana gelen değişimler nokta mutasyon olarak tanımlanır.

Mutasyon somatik hücrelerde veya eşey hücrelerinde meydana gelebilir. Değişme bitki bünyesinde (somatik yapıda) meydana gelirse somatik mutasyonu veya tomurcuk mutasyonunu; eşey hücrelerinde meydana gelirse gametik veya germinal değişimi (varyasyon) oluşturur (Cameron ve Soost 1969). Bir somatik mutasyon herhangi bir hücrede meydana gelebilir. Mutasyon meydana gelmiş hücre kendi kendine üreyebilirse, bundan meydana gelecek bir sürgün veya meyve gelişerek bu sürgün veya meyvede kimera meydana gelebilmektedir.

Organizma üzerindeki etkileri yönünden nokta mutasyonuna benzer değişimler, kromozom yapısı ve sayısındaki sapmalardan, genlerin kaybına, duplikasyonuna ve yeniden düzenlenmesine yol açan anormal kromozom segregasyonları tarafından meydana getirilebilir. Kromozomlar da bir canlının bütün özelliklerini DNA çift sarmalındaki nükleotidlerin sıralanışı ile belirler. Nükleotidlerin sıralanışındaki bir değişiklik mutasyonla sonuçlanmaktadır. Aynı şekilde kromozomlarda fiziksel mutajenlerle meydana gelen yapısal bozulmalar da kromozom mutasyonunu meydana getirir. Meydana gelen mutasyonlar, çoğu kez zararlı olup, doğal seleksiyonlarla canlı popülasyonunda elenirler. Çok ender olarak ortaya çıkan mutasyonlar değişen çevreye adaptasyonunu da artırarak yararlı hale gelebilmektedir. Bu nedenle mutasyonlar canlıdaki genetik değişikliğin en önemli kaynağı olup, şu anda var olan bütün canlı türlerinin evriminde en önemli rolü üstlenmiştir.

Mutasyon yoluyla ıslahın önemi anlaşıldıktan sonra, 1950 yılından günümüze kadar başta süs bitkileri olmak üzere tahıllar, baklagiller, endüstri bitkileri ve meyve ağaçları olmak üzere 3188 adet çeşit geliştirilmiştir (Anonymous 2). Kromozom mutasyonları M_1 ve sonrası generasyonda belirlenirken, gen mutasyonları çoğunlukla resesif olduğundan değişik fenotiplerin ve gen mutasyonlarının ortaya çıkması M_2 generasyonunda mümkün olabilir. Bu değişikliğin mutasyon veya modifikasyon olup olmadığı M_3 generasyonunda yapılacak kontrol ile ortaya çıkabilir (Donini 1992).

Turunçgiller doğal melezlemeye ve mutasyona eğilimli bitkiler olmasından dolayı yeni çeşitler ortaya çıkarmaya elverişlidir (Davies ve Albrigo 1994). Ticari olarak yetiştiriciliği yapılan turunçgil çeşitlerinin çoğu tomurcuk mutasyonları sonucu ortaya çıkmıştır. Tomurcuk mutasyonlarına turunçgillerde çok sık rastlanmaktadır (Tanaka 1925). Bu nedenle turunçgillerde tomurcuklarda değişimi yapan mutasyonlar çok önem arz etmektedir. Ender meydana gelen kalıcı değişiklikleri çok sık karşılaşılan ve kalıcı olmayan değişikliklerden ayırmak oldukça önemlidir. Tomurcuk mutasyonu ile meydana gelmiş ağaç veya meyvedeki değişim ekolojik koşullardan ileri gelmiş değişikliklerden kolay ayırt edilebildiği halde ürünün miktarı ve kalitesi üzerinde meydana gelmiş karakter değişikliğini fark etmek oldukça zordur. Bu farklılığı ortaya çıkarmak yoğun ve uzun çalışmalar gerektirir (Cameron ve Frost 1968).

Turunçgillerde ışınlamayla ilk mutasyon 1935 yılında Haskin ve Moore tarafından çekirdekler üzerine X-ışınları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, X-ışınlarının hücre yapısına zarar verdiği ve elde edilen çöğürlerde bazı anormalliklerle birlikte geçici özellik gösteren durumlarla da karşılaşıldığı bildirilmiştir (Cameron ve Frost 1968). Turunçgillerde yapay mutasyon oluşturma konusunda ilk yıllarda daha çok Star Ruby altıntop çeşidi üzerinde çalışılmıştır (Hensz 1971).

Orta-geç dönemde olgunlaşan Minneola tangelo'nun dikim alanlarında *Alternaria* kahverengi leke hastalığı nedeniyle ciddi azalmalar meydana gelmiş ve orta-geç dönem için potansiyel geçici çeşit olan Fortune gibi mandarin çeşitlerinin de dikimini engellemiştir. Mutasyon ıslahı ile turunçgillerde kahverengi leke hastalığına hassas olduğu bilinen Fortune mandarinini mutantları arasında tolerant genotiplerin belirlenmesi öngörülmüştür. Çalışmada hassas ve tolerant bulunan genotiplerdeki hormonal değişimin (oksin, gibberellin, sitokinin, absisik asit) belirlenmesi de hedeflenmiştir.

Bu çalışma; *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine hassas olduğu bilinen Fortune mandarinini çeşidinden mutasyon ıslahı yoluyla yeni mutant bireylerin elde edilmesi, elde edilen mutant bireylerin *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine hassasiyetlerinin belirlenmesi ve sonuçta tolerant ve hassas olarak bulunan genotiplerde hastalık inokulasyonu öncesi ve sonrasında hormonal değişimin (oksin, gibberellin, sitokinin, absisik asit) ortaya konulması amacıyla 2014-2018 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi ile Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde yürütülmüştür.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Turunçgillerde Yapay Mutasyon Yoluyla Yapılan İslah Çalışmaları

Turunçgillerde tohumların poliembriyonik yapıya sahip olması, seksüel uyumsuzluk, yüksek heterozigot yapıya sahip olma, kısırılık gibi birçok biyolojik engel nedeniyle kontrollü melezleme yoluyla ıslah çalışmalarının oldukça uzun ve maliyetli olmasına neden olmaktadır (Cameron ve Frost 1968). Günümüzde ticari olarak yetiştiriciliği yapılan turunçgil çeşitlerinin çoğu tomurcuk mutasyonları sonucu ortaya çıkmıştır (Tanaka 1925). Doğal mutasyonlar yeni turunçgil çeşitlerinin geliştirilmesi için çok önemlidir. Ancak doğal mutasyonlar düşük sıklıkta gerçekleşmektedir. Turunçgillerde mutasyon sonucu yeni çeşitlerin oluşumunu artırmak için radyasyon veya kimyasal mutagenler kullanılarak hedefler doğrultusunda seleksiyon için uygun genetik varyabilite oldukça artırılabilir (Broertjes ve van Harten 1988).

Mutasyon ıslahı çalışmaları çoğunlukla daha lezzetli, farklı renge sahip veya doğada evrim sürecinde kaybolacak olan kalıtımı üretmek için kullanılmaktadır. Belirli fiziksel veya kimyasal mutagenler ile genlerin yapısını değiştiren mutasyonlar yapay olarak meydana gelmektedir. Kullanılan mutasyonun tipine bağlı olarak oldukça farklı çalışmalar mevcuttur. Örneğin iyonlaştırıcı radyasyon olarak gamma ışınları ve X ışınları (Spiegel-Roy ve Padova 1973; Hearn 1984; Spina vd. 1991; Chen vd. 1991; Tulmann Neto vd. 1996;), termal nötronlar (Hensz 1960) mutasyon oluşturmak amacıyla kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Colchisin hariç olmak üzere kimyasal mutagenler dokulara penetrasyonu daha zor olmasından dolayı turunçgillerde mutasyon ıslahı çalışmalarında daha az kullanılmaktadır. Colchisin çoğunlukla *in vitro* veya *in vivo* çalışmaları ile mitotik poliploidinin teşvik edilmesiyle tetraploid turunçgillerin elde edilmesi için kullanılmaktadır (Barret 1974; Gmitter ve Ling 1991; Wu ve Mooney 2002; Wakana vd. 2005; Latado vd. 2007; Zhang vd. 2007; Aleza vd. 2009; Dutt vd. 2010).

Günümüzde fiziksel mutagenlerden en çok gamma ışını tercih edilmektedir. Gamma ışınları kullanılarak meyve türlerinden günümüze kadar elma (*Malus domestica*), fındık (*Corylus avellana*), ceviz (*Juglans regia*), vişne (*Prunus cerasus*), badem (*Amygdalus communis*), zeytin (*Olea europaea*), muz (*Musa cavendishii*) ve turunçgillerde (*Citrus* spp.) olumlu sonuçların alındığı çalışmalar mevcuttur (Kunter vd. 2009).

Turunçgillerde mutasyon ıslahı genetik kalıtımının geliştirilmesi ve yeni çeşitlerin elde edilmesinde başarılı bir metot olarak düşünülmektedir. Turunçgillerde özellikle aşı gözü mutasyonları olmak üzere mutasyonlar yeni çeşit elde edilmesinde yoğun olarak yararlanılmasına rağmen mutasyonun mekanizması henüz iyi anlaşılamamıştır (Liu vd. 2009). Üstelik mutasyonlar içerisinde minor genetik varyasyonların orjinal çeşitler içerisinde ayırt edilmesi oldukça zordur (Liu vd. 2009; Deng vd. 1995; Breto vd. 2001).

Turunçgillerde yapay mutasyon oluşturmak için ilk defa ışınların kullanımı 1935'te açıklanmıştır. Bu konuda daha çok Star Ruby üzerinde çalışılmıştır (Hensz 1971). Hudson altıntopunun çekirdeklerine termal nötron uygulanmasıyla elde edilen Star Ruby altıntopu 1977 yılında meyve başına 0-3 çekirdek sayısı ile az çekirdekli ve

ebeveyni olan Hudson altıntopuna göre meyve kabuk ve et rengi daha koyu olarak ortaya çıkmıştır (Hensz 1977). Günümüzde ticari olarak oldukça önemli olan Rio Red altıntop çeşidi de Star Ruby altıntopu gibi yapay mutasyon ile elde edilmiştir. Ruby Red altıntopu aşı gözlerine radyasyon uygulaması neticesinde çekirdeksiz ve meyve eti rengi ebeveynine göre 3-5 kat daha koyu renkli Rio Red çeşidi elde edilmiştir (Hensz 1985).

Turunçgil çeşitlerinin bazı özelliklerini değiştirmek amacıyla yapay mutasyonun kullanıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Yapay mutasyon yoluyla yapılan bu çalışmalardan bazıları; çekirdeksiz mandarin (Starrantino vd. 1988b; Sutarto vd. 2009; Williams ve Roose 2010; Bermejo vd. 2012; Goldenberg vd. 2014; Montañola vd. 2015), çekirdeksiz pummelo (Huang vd. 2003; Sutarto vd. 2009), portakalda kompakt taç büyüklüğü ve verimlilik (Donini 1982), altıntoplarda meyve kabuk rengi (Chapot 1975; Hensz 1985), erken yaşta meyveye yatan altıntop ve portakal (Donini 1982; Tang vd. 1994), limonlarda çekirdeksizlik ve uç kurutana dayanıklılık (Gülşen vd. 2007; Uzun vd. 2008), limonlarda erken olgunlaşma (Uzun vd. 2008) hedefleri doğrultusunda yapılmıştır.

Russo vd. (1981), yapay mutasyonların turunçgil ıslahında kullanılması olanaklarını inceledikleri araştırmalarında, Monreal Clementine çeşidinde herbiri 4 göz içeren kalemlere 0, 20, 40, 60, 80 ve 100 gray dozlarında gamma ışını uygulamışlardır. 80 ve 100 gray dozların öldürücü olduğu bulunmuş ve bu dozların uygulandığı gözlerin tamamı ölmüştür.

Hearn (1984), Pineapple portakalı ile Duncan ve Foster altıntopu tohumlarına 100, 150, 200, 250 ve 300 gray dozlarında gamma ışını uygulamıştır. LD₅₀ değerleri Pineapple için 100–150, Duncan için 150, Foster için 100 grayden düşük olarak bulunmuştur. En duyarlı olan Foster altıntopunun bu özelliğinin, uygulama sırasındaki yüksek nem içeriğinden kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Az sayıda çekirdek içeren mutantların yanında çekirdeksiz mutantlar da elde etmiştir. En az çekirdek sayısına sahip olan mutantlar Pineapple ve Duncan bireylerinde kaydedilmiştir.

Spiegel-Roy vd. (1985), Eureka limon çeşidine 40 ve 60 gray dozlarında ışın uygulaması sonucu elde edilen 600 adet birey içerisinden çekirdeksiz meyvelere sahip mutantların elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmada birkaç vegetatif döngü sonrasında da çekirdeksizlik karakterinin kalıcı olduğu belirlenmiştir. Villafranca limon çeşidinde yapılan benzer bir çalışmada 50 gray gamma ışın uygulamasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Spiegel-Roy 1990). Bu çalışmalar neticesinde Eureka limon çeşidinden çekirdeksiz bir çeşit olan Galya ve Villafranca limon çeşidinden çekirdeksiz bir çeşit olan Ayelet çeşitleri elde edilmiştir (Spiegel-Roy vd. 2007).

Hearn (1986), Foster altıntopunda tomurcuklara 30, 50, 70, 90 ve 110 gray dozlarında gamma ışını uygulamıştır. Bunlar anaçlar üzerine sera ve fidanlıkta ayrı ayrı aşılanmıştır. LD₅₀ dozu serada aşılananlar için 50 gray, fidanlıkta aşılananlar için 90 gray olarak bulunmuştur. Meyve başına çekirdek miktarının sayılması sonucunda bazı ticari anlamda çekirdeksiz klonların bu yolla klasik ıslaha göre daha kısa süre içerisinde elde edilebildiğini bildirmiştir.

Starrantino vd. (1988), Femminello Siracusano limonunun genç meyvelerine çiçeklenmeden 100–120 gün sonra 2–40 gray dozlarında gamma ışını uygulamışlardır. Işın uygulanan meyvelerin tohumlarından izole edilen nusellus dokusu *in vitro*

koşullarda Murashige ve Skoog (MS) ortamında kültüre alınmıştır. Meydana gelen bireyler turunç, *Citrus macrophylla* ve citrumele anaçları üzerine aşılanmış ve 1980'de bahçedeki yerlerine dikilmiştir. 7 orijinal ve 179 ışın uygulanmış birey içinden yapılan seleksiyonda 2 adet dikensiz birey saptanmış ve Femminello Siracusano NL2Kr (FS) ve Femminello Compatto NL2Kr (FC) olarak isimlendirilmiştir. Bu iki bireyin aynı zamanda uçkurutan (*Phoma tracheophila*) hastalığına bir derece dayanıklılık gösterdiği kaydedilmiştir. FS olarak adlandırılan bireyin yüksek verimli ve daha erkenci, FC olarak adlandırılan bireyin ise kompakt taçlı, küçük ve kaba meyvelere sahip olduğu bulunmuştur.

Nito vd. (1989), Valencia ve Yoshida portakalları, Kalamondin, Yuzu ve Satsuma çeşitlerinin kalluslarına 10 ile 500 gray dozları arasında gamma ışını uygulamışlardır. Gamma ışın uygulamasının kallus oluşumunu yavaşlatırken embriyo şekillenmesini hızlandırdığı, maksimum embriyo üretimi için optimum dozların çalışılan tür ve çeşitler için 50, 100, 200 ve 500 gray olarak saptanmıştır.

Farklı şeftali çeşitlerinde tomurcuklara gamma ışını uygulanan bir çalışmada çeşitler arasında gamma ışını uygulamasına cevap vermedeki farklılıkların, uygulama dozu ve zamanıyla ilgili olduğu görülmüştür. Bazı uygulamaların ise küçük taç oluşturan bireylerin seleksiyonu için varyasyonu artırmada etkili olduğu görülmüştür (Smykov 1989).

Ponnuswami vd. (1991), Muscat üzümünün 25–45 cm uzunluğundaki kalemlerine 0 (kontrol), 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 gray dozlarında gamma ışını uyguladıkları çalışmada tomurcuklanma oranları, canlı kalma oranları, sürgün ve kök uzunlukları, yaprak alanı özellikleri açısından LD₅₀ değerlerinin 20 ile 25 gray arasında olduğunu bulmuşlardır.

Çin'de tohumlara 100 gray gamma ışını uygulamasıyla elde edilen iki portakal mutantının ('Jin Cheng' 7 ve 'Jin Cheng' 9) çekirdeksizlik karakterinin kararlılığı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda çekirdeksizlik özelliğinin kalıcı olduğu ve vejetatif olarak aktarılabilirdiği belirlenmiştir. Üstelik mutantlarda sterilitenin nedeninin anormal mayoz bölünme olduğu belirlenmiştir (Chen vd. 1991).

Ollitraut (1992), Willowleaf mandarini nuseller embriyogenik kallusları üzerine rejenarasyon öncesinde 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 gray dozlarında gamma ışını uyguladığı çalışmada 90 gray dozuna kadar özel bir etkinin görülmediğini, 1-2 alt kültürde 160 ve 180 gray dozlarının en iyi uygulama olarak görüldüğünü bildirmiştir.

Hongjiangcheng mandarininde çekirdek sayısını azaltmak amacıyla sürgünlere 80 gray gamma ışını uygulaması sonucunda 2 adet mutant bireyde (2–6–2 ve 1–9–22) meyve başına üçten az çekirdek bulunduğu, mutant bireylerde ortalama meyve ağırlığının 122 gramın üzerinde, suda çözünebilir kuru madde miktarının ise % 13,0–13,5 olarak saptandığı belirtilmiştir (Tang vd. 1993).

Sanada vd. (1993), Alternaria hastalığına hassas 'Nijisseiki' armut çeşidinde gamma ışını uygulaması ile elde ettikleri mutant genotipleri, hastalık açısından testledikleri çalışma neticesinde 9 mutant bireyde dayanıklılık saptadıklarını bildirmişlerdir. Dayanıklı olduğu saptanan mutantlardan biri 'Gold Nijisseiki' ismiyle tescil edilmiştir.

Zhou vd. (1995), Ruby Blood ve Xinhucheng portakalları ve Ponkan mandarinine değişik dozlarda ışın uygulamışlar ve mutantlar arasından polenleri kısır olan ve çekirdeksiz 22 adet portakal mutanı selekte etmişlerdir. Optimum ışın dozu portakallarda 5 gray, mandarinde ise 30 gray olarak saptanmıştır.

Froneman vd. (1996), gamma ışınlarını kullanarak çekirdeksiz turuncgil çeşitleri elde etmek amacıyla yaptıkları mutasyon çalışmasında aşı kalemlerini 30 gray dozdan başlayarak 75 gray doza kadar gamma ışınına tabi tutmuşlardır. Çalışma süresince 13 adet çekirdeksiz birey elde edilmiş ve yapılan incelemeler neticesinde Nova mandarininin çekirdeksiz tipi olan ‘Nova SL’ elde edilmiştir.

Calabrese vd. (2000), Palermo’daki Coltivazioni Arboree Enstitüsünde 1989’dan beri genotiplerin uçkurutana toleranslıkları ve çekirdeksizlik durumunu tanımlama amaçlı denemelerini sürdürmektedirler. İtalya’da çok fazla üretilen, çok çekirdekli meyvelere sahip ve uçkurutan hastalığına orta derecede tolerant olan Zagara Bianca limonunda yapılan mutasyon çalışmaları neticesinde Akragas, Erice, Kamarina, Segesta ve Selinunte çeşitleri tanımlanmıştır. Bunlardan Akragas, Kamarina, Segesta ve Selinunte çeşitleri çekirdeksiz olarak belirlenmiş, Erice çeşidinin ise 0–4 arası çekirdeğe sahip olduğu bildirilmiştir.

Singh vd. (2000), mandarin tohumlarına 0, 100, 150, 200, 250 ve 300 gray gamma ışını uyguladıkları çalışmada tohumların ekiminden sonra çimlenme oranlarını 5 gün aralıklarla 70 gün boyunca takip etmişlerdir. Ayrıca 10–12 cm uzunluğundaki kalemlere 0, 30, 50, 70, 90 ve 110 gray gamma ışını uygulayarak Rangpur laymı (*C. limonia*) üzerine aşılamışlar ve 10. günden itibaren 1 hafta aralıklarla 1 ay boyunca gözlerin durumunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada bekledikleri üzere gama ışın dozu yükseldikçe tohum çimlenmesi ile tomurcuğun canlılığında önemli derecede ve kademeli olarak bir azalma bulunduğunu gözlemlemişlerdir. En yüksek tohum çimlenmesi ışın uygulanmayan kontrol uygulamasında (% 83.9) ve en düşük tohum çimlenmesi ise 250 gray dozda (% 49.6) bulunmuştur. Uygulama dozunun artmasının aynı zamanda çimlenme süresini de geciktirmiştir. Aşılanan gözlerin canlılığı bakımından ise en yüksek değerler benzer şekilde kontrol uygulamasında (% 97.1) elde edilirken, bu uygulamayı sırasıyla 30 gray (% 53.96), 50 gray (% 18.03) ve 70 gray (% 13.85) dozları izlemiştir.

Jonathan, Fuji, Oorin ve Indo elma çeşitlerinden gamma ışını uygulaması ile elde edilen mutant bireylerin *Alternaria* hastalığına karşı testlenmesi neticesinde bazı mutantların tolerant olduğu bulunmuştur (Akira vd. 2001). Yoshioka vd. (2001), elmalarda zarar oluşturan *Alternaria mali* etmenine hassas olan ‘Indo’ elma çeşidinin mikroçoğaltılan sürgünlerine 80 gray gamma ışın dozunda elde edilen mutant bireylerden arasından bu hastalığa tolerant bulunduğunu ve “Houiku Indo” ismiyle tescil edildiğini bildirmişlerdir.

Williams ve Roose (2008), Daisy, Fairchild ve Kinnow mandarinlerinin aşı gözlerine gamma ışını uygulamasıyla meyve başına ortalama 2-3 adet çekirdek oluşturan Daisy SL, Fairchild SL ve Kinnow SL çeşitlerini ıslah etmişlerdir.

Crowley (2011), Kaliforniya’da W. Murcott mandarin çeşidi ve bu çeşitten mutasyon yolu ile çekirdeksiz çeşit olarak elde edilmiş olan Tango mandarin çeşidinin moleküler olarak genetik farklılıklarının araştırıldığı bir çalışmada ms-AFLP analizi

sonucunda bu iki çeşit arasında genetik bakımdan bir farklılık bulunmadığını bildirmiştir. Bununla birlikte W. Murcott çeşidinden farklı olarak Tango çeşidinde kromozom dağılım görünümünün birkaçında mayotik metafaz aşamasında kromozomlarda yanlış sıralama olduğu belirlenmiş ve bu durum üzerine Tango mandarin çeşidinin çekirdeksiz meyve üretmesinin genetik olarak temel nedeninin gamma ışın uygulamasından kaynaklanan kromozom anormallikleri olabileceği öne sürmüştür.

Mandarinlerde çekirdeksiz mutantların elde edilmesi üzerine ABD, Güney Afrika, İtalya ve diğer ülkelerde çeşitli çalışmalar mevcuttur (Russo vd. 1981; Starrantino vd. 1988a; Du Plooy vd. 1992; Froneman vd. 1996). Khalil vd. (2011), Kinnow mandarinini aşı gözlerine 20 gray radyasyon uygulamasıyla meyve başına ortalama olarak 25 adet olarak bulunan ebeveyne göre az çekirdekli bireyleri geliştirmişler ve ortalama olarak meyve başına 5 adet çekirdek sayısına kadar azaldığını bildirmişlerdir. Yafa portakalında gamma ışını kullanılarak daha kompakt taçlı mutantlar elde edilmiştir (Vardi ve Spiegel-Roy 1978). Işınlama yöntemi Femminello Siracusano limonunda uçkurutana dayanıklılık çalışmaları amacı ile de kullanılmıştır (Starrantino ve Russo 1976).

Brezilya'da Pera portakalına 40 gray dozunda gamma ışını uygulanan çalışmada M_1V_4 aşamasında yaklaşık olarak 7600 adet mutant birey elde edildiği ve bu bireyler içerisinde taç yapısı değiştirilmiş bodur, çekirdek sayısı azaltılmış meyvelere sahip, meyve formu ve olgunlaşma periyodu farklı bireyler olmak üzere farklı karakterli 127 mutant bitki selekte edilmiştir (Tulmann Neto vd. 1996). 127 mutant birey içerisinde 8 adet mutantın çekirdeksiz meyvelere sahip olduğu ve ticari yetiştiricilik için büyük potansiyele sahip olduğu bulunmuştur (Latado vd. 2001). Latado vd. (2004), düşük polen canlılığı ile meyvelerdeki çekirdeklerin yokluğu veya az sayıda olması arasında ilişki olduğunu belirtmiştir. Belasque Jr vd. (2009), bu bireyler içerisinde 6 adet mutant birey ile önceden tanımlanmış 3 adet (9-1, 9-2, 9-3) bireyin Brezilya'da yaygın olarak görülen turuncgil bakteriyel leke hastalığına karşı tolerant olarak görüldüğünü bildirmişlerdir.

Gülşen vd. (2007), Kütdiken limon çeşidinin aşı gözlerine 0, 30, 50, 70 ve 90 gray dozlarında mutasyon uygulaması sonucunda elde edilen 478 adet M_1V_3 aşamasındaki birey içerisinde yapılan seçim sonrasında belirlenen 4 mutant bireyin çekirdeksiz olduğu ve aynı zamanda uçkurutan hastalığına karşı da tolerantlık gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu bireylerden 3 adedi 50 gray ışın dozundan ve 1 adedi ise 70 gray ışın dozundan elde edilmiştir.

Vardi vd. (2008), İsrail'de Orah, Murcott, Yafit ve Michal çeşitlerinden az çekirdekli veya çekirdeksiz yeni çeşitler elde etmek amacıyla bu çeşitlere 4 farklı gamma ışını uyguladıkları çalışmaları neticesinde çekirdekli 'Orah' mandarin çeşidinin çekirdeksizi olarak Orri ve 'Murcott' mandarin çeşidinin çekirdeksizi olan Moria çeşitlerini elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Kara (2014), Nagami kamkat çeşidinin aşı kalemlerine 0, 15, 30, 45 ve 60 gray dozlarda gamma ışını uyguladığı çalışmasında M_1V_1 aşamasındaki bireyler arasından RAPD primerleri ile 12 nolu bireyin diğer bireylerden farklı olduğunu belirlemiştir. Araştırmacı, çalışmada Nagami kamkat çeşidi için 60 gray gamma ışın dozundan daha yüksek dozlarda çalışılabileceğini belirtmiştir.

Polat vd. (2015), farklı gamma ışın dozları uygulanarak elde edilen 35 Yerli mandarin ve 10 Yerli Yuvarlak limon bireyinde 26 SSR ve 28 SRAP primeri kullanarak moleküler olarak tanımladıkları çalışmalarında, 6 SSR primerinde polimorfizm elde ettiklerini ve bunun limonlarda sürgün ucu rengi ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir.

Turunçgillerde farklı araştırmacılar tarafından *in vitro* koşullarında mutasyon uygulaması yapıldığı bildirilmiş (Spiegel-Roy ve Kochba 1973; Broertjes ve van Harten 1988; Predieri 2001) olmasına rağmen bu çalışmalardan ticari mutant bir çeşit elde edilmemiştir. Brezilya'da en önemli anaç olarak kullanılan Rangpur laymı çeşidinin epikotil segmentlerine mutasyon uygulanması neticesinde *in vitro* sürgün rejenerasyonu ve *in vitro* mikro aşılama bitkilerin hızla gelişip pişkinleştiği belirtilmiştir. Bu strateji kullanılarak mutasyon uygulanmış bireylerin ilk meyve verme zamanının dikimden sonra 2-3 yıl sonra gözlemlendiği ve Rangpur laymında gençlik kısırlığı döneminin kısaltıldığı belirtilmiştir (Gonzaga vd. 2011). Starrantino vd. (1988b), tarafından yapılan bir çalışmada da nuseller kalluslara *in vitro* mutasyon sonrasında dikensiz limon mutantlarının elde edildiği bildirilmiştir.

2.2. Bitkisel Hormonlar ve Bitki Hastalıkları ile İlişkiler

En uygun koşullardan kurtulmak için hareket edebilen ve uyum sağlayabilen hayvanların aksine, bitkiler yerleşiktir. Bu nedenle, patojen enfeksiyonunu yenme yeteneği hayatta kalmak için kritik bir özelliktir (Ma ve Ma 2016). Doğal çevrelerinde bitkiler bakteri, fungus, virüs, böcekler gibi değişik vektörlerin neden olduğu sürekli biyotik stress altındadır. Çoğu organizma yeşil bitkileri enerji kaynağı olarak kullanırlar. Bu nedenle bitkilerde esas olarak bir böcek veya patojen saldırısından sonra baskılanmış veya uyarılmış dayanıklılık mekanizmasına sahip olan çeşitlerin bulunması şaşırtıcı değildir (Glazebrook 2005; Panstruga vd. 2009). Farklı yaşam tarzlarına sahip patojenlere karşı savunma tepkilerini optimize etmek için bitkiler büyüme-savunma değişimlerini düzenlemek ve iyi ayarlanmış özel tepkiler için hormonal ağlara bağımlıdır. Karşı tepki olarak, patojenler enfeksiyonu artırmak ve normal şartlardaki hormonal düzenin bozulmasına karşı çeşitli stratejiler geliştirmişlerdir. Birçok patojen bitki hormonlarını sentezlerler. Daha da önemlisi, hormonal düzenin değişmesi için toksin ve efektörleri üretirler. Toplanan veriler, patojenlerin sadece bağışıklık sistemini yenmek için değil, aynı zamanda habitat yapısını değiştirmek, besin alımını optimize etmek ve patojen yayılmasını kolaylaştırmak için bitki hormon pathwayleri üzerinde geniş etkileri olduğunu göstermiştir (Ma ve Ma 2016). Çok çeşitli zararlılar ve patojenler tarafından tehdit edilen bitkiler, gelişmiş bir içsel bağışıklık sistemi geliştirmişlerdir (Spoel ve Dong 2012). Bitki bağışıklığının temel bir tabakası, patojen veya mikrop ilişkili moleküler yapı (PAMPs/MAMPs) olarak adlandırılan koruma altında tutulan moleküler işaretler tarafından aktive edilmektedir (Zipfel 2014). Bu yapı ile başlatılan bağışıklılık (PTI), etkili bir dizi fizyolojik tepkilerle ilişkili ve potansiyel patojenlerin çoğuna karşı geniş spektrumlu savunmada etkili olmaktadır (Bigeard vd. 2015). Patojen algılandıktan kısa bir süre sonra, hormonal işaretlerin oluşumunu içeren genlerin transkripsiyonu geniş ölçüde yeniden programlanmaktadır (De Vos vd. 2005).

Birçok fungus bitkilerle; mikorizal simbiyozisde olduğu gibi faydalı bir şekilde (Sanders 2011) veya fungal hastalıkların durumunda olduğu gibi zararlı bir şekilde (Dean vd. 2012) etkileşime girmektedir. Besinleri elde etmek için hem simbiyotikler hem de çoğu patojenik funguslar bitki hücresinin plazma membranına kırmaksızın nüfuz

etmektedirler. Kitinden oluşan bir hücre duvarıyla korunmakta olan fungal membran, membran reseptörleri aracılığıyla bitkiler tarafından tanınabilmekte ve daha sonra temel bağışıklık aktive edilmektedir (Gust vd. 2012). Funguslar, bitki dokularına saldırmak için uygun koşulları sağlamak veya bitkilerin bağışıklıklarını engellemek için protein reseptörleri veya metabolitleri gibi birtakım araçlar ile evrimleşmiştir (Kamoun 2007).

Fitohormonlar, büyüme ve stres tepkileri sırasında çok çeşitli süreçleri etkileyen küçük moleküllerdir (Depuydt ve Hardtke 2011; Pieterse vd. 2012; Vanstraelen ve Benkova 2012; De Bruyne vd. 2014). Fitohormonlar; sinergistik veya antagonistik olarak bitkilerde hastalıklara dayanıklılık mekanizması, bitki büyümesi, gelişmesi, çoğalması ve çevresel etkilere verdikleri tepki gibi birçok olayı düzenleyen karmaşık bir ağı etkilemektedir (Pieterse vd. 2009; Santner vd. 2009; Jaillais ve Chory 2010; Denance vd. 2013). Çevresel değişim durumlarında bitkilerin gelişimi ve tepkisi çoğunlukla fitohormonlar tarafından yönetilmektedir. Bitki hormonları, içsel gelişimsel programlar yanında çevresel girdilerin iletiminin planlanması ve biyotik ve abiyotik stres tepkilerinin sürdürülmesinde etkili olmaktadır. Enfeksiyon üzerine bitkiler, patojenin yaşam döngüsüne bağlı olarak doğru birleşim olarak görülen savunma hormonlarının çok özel bir karışımını üretmektedirler (De Bruyne vd. 2014). Dikotiledonların model bitkisi olan *Arabidopsis thaliana*'da biyotropik patojenlere karşı dayanıklılık genellikle salisilik asit bağli iken nekrotropik patojenlerde jasmonik asit ve etilen uyarımının kombinasyonu yoluyla dayanıklılık eğilimi bulunmaktadır (Pieterse vd. 2009). Üstelik bu iki yol arasındaki etkileşim çoğu zaman antagonisttir. Birçok araştırmacı, bitki savunmasının salisilik asit ve jasmonik asit / etilen ile karşılıklı etkilere sahip ikili bir model izlediğini öne sürmüştür (Bari ve Jones 2009).

Bir enfeksiyon döngüsünün tamamlanması için, fitopatojenlerin, fiziksel engellerden bitki dokularına girmesi, bitki bağışıklık sistemi tarafından oluşturulan savunma tepkilerinin üstesinden gelmesi, çoğalma için besin elde etmesi ve sonunda da yeni bir konukçuya yayılması gereklidir. Bitkilerle ortak evrimsel silahlanma yarışı sırasında başarılı patojenler, bitki fizyolojisini ayarlamak için toksinler ve salgılanan proteinler (efektörler) gibi virülans faktörlerini geliştirmiştir (Bender vd. 1999; Torto-Alalibo vd. 2009; Dou ve Zhou 2012; Dangl vd. 2013). Geçen zaman içinde, efektörlerin patojen kolonizasyonunu ve hastalık gelişimini nasıl kolaylaştırdığını anlamak için önemli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda fitohormon pathwaylerinin önemli virülans hedefi olduğu ortaya çıkmıştır (Ma ve Ma 2016). Funguslar da standart efektörlerin üretimine ek olarak ayrıca oksinler, sitokinler, gibberellinler, etilen, absisik asit, jasmonik asit ve salisilik asit gibi bitki hormonlarına benzer bileşikler üretmektedirler. Bu hormonlar bitki gelişimini kontrol etmek ve biyotik ve abiyotik stresler boyunca önemli bitki uyarım olaylarını başlatmak için çok iyi şekilde tanımlanmışlardır (De Vleeschauwer vd. 2013; Peleg ve Blumwald 2011; Pozo vd. 2015; Robert-Seilantantz vd. 2011; Spence ve Bais 2015). Çoğu klasik bitki hormonu simbiyotik funguslar ve patojenler tarafından da üretilmektedir (Chanclud ve Morel 2016).

Bitki hormonal pathwaylerini değiştirerek patojenler iki mekanizma yoluyla daha fazla yarar sağlayabilmektedir. Birincisi bitki dokularında kolonileşmeyi gerçekleştirmek için “stres” hormonları tarafından düzenlenen savunma tepkilerini baskılamak ve ikincisi ise sürekli kolonizasyonu ve yayılmayı kolaylaştırmak için

büyüme hormonları tarafından düzenlenen bitki gelişimi ve besin paylaşım süreçlerini ele geçirmektedir (Ma ve Ma 2016).

Savunma baskılarına ilave olarak patojenler bitkilerin normal şartlardaki büyüme hormonlarının karışıklığından ilave yararlar sağlamaktadırlar. Bu yararlardan bir tanesi sürekli patojen çoğalması için enfekte olmuş dokular içerisine besin sağlanmasıdır. Birçok patojen, besinlerin enfekte olmuş bölgeler içinde yer değiştirmesini kolaylaştırmak için sitokinin üretmektedir. Bu alanlar gecikmiş yaşlanma sergiledikleri için “yeşil adalar” olarak bilinirler ve patojen popülasyonunun sürekli gelişmesini desteklemektedirler (Walters ve McRoberts 2006; Walters vd. 2008).

Abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmasını anlamak dayanıklılık çalışmaları için büyük önem taşımaktadır. Bitkilerin hastalıklara dayanıklılığı konusunda üç önemli kavram bulunmaktadır. Bunlardan ilki hipersensitif reaksiyon (HR, hypersensitive reaction) yani aşırı duyarlı olma veya bitkilerde koruyucu hücrelerin ölümüdür. İkincisi SAR (systemic acquired resistance) olarak ifade edilen sonradan kazanılan sistematik dayanıklılıktır. Bir diğeri ise patojenez bağlantılı anlamına gelmektedir (Baktır 2010). Bitkiler, biyotik stres faktörlerini tanıma ve onlara karşı bir savunma mekanizması geliştirmişlerdir. Bitkileri patojene karşı dayanıklılık genleri (R) aracılığıyla patojen saldırısını algılayıp savunma mekanizmalarını oluşturabilmektedir (Parker 2000). Çok sayıda R geni karakterize edilmiş olup bunların bazıları halen bitki ıslahında kullanılmaktadır (Gururani vd. 2012).

Bitkilerin içsel dayanıklılık sistemi; patojen ilişkili moleküler düzen (PAMPs) olarak adlandırılan nispeten patojenin muhafaza edilmiş moleküllerinin bitki protein tanıma reseptörleri (PRRs) vasıtasıyla özel olarak algılanmasına dayanır. Bu dayanıklılık tepkileri patojen ilişkili moleküler düzenle başlatılan dayanıklılık (PTI) olarak bilinir. Etkili bir patojen, salgıladığı efektör proteinler ile bu patojen ilişkili moleküler düzenle başlatılan dayanıklılığı kaldırır. Bu durumda karşı saldırı olarak bitki dayanıklılık proteinleri efektörleri tanır ve efektörle başlatılan dayanıklılığı aktive ederler (ETI) (Dodds ve Rathjen 2010).

Bu bağışıklık tepkilerinin iyi düzenlenmiş olması gereklidir. Çünkü bitki dayanıklılığında metabolitlerin kullanımı diğer bitki özelliklerini negatif etkileyecek fizyolojik işlemlere zararlı olabilir (Walters ve Heil 2007; Kempel vd. 2011). Bu fizyolojik sınırlandırmalar, doğal düşmanlarla bitkilerin bir arada yaşaması gibi diğer faktörlerle birlikte dinamik ve karmaşık bir ağ sisteminin evrimini sürdürür. Dayanıklılık tepkileri, bitki büyümesi, gelişmesi, çoğaltımı ve çevresel durumlara tepki gibi birçok olayı düzenlemek için kompleks bir yapıda sinerjistik veya antagonistik olarak çalışan küçük moleküller olan bitki fitohormonları tarafından düzenlenir (Pieterse vd. 2009; Santner vd. 2009; Jaillais ve Chory 2010). Son zamanlarda, bitkilerin dayanıklılığını kontrol eden karmaşık hormon ağının anlaşılması üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Peng vd. 2009). Bunun yanında patojenler de bitki savunma mekanizmasının üstesinden gelebilmek için hormon metabolik yoluna müdahale etmek ve hormon biyosentezini kısıtlamak için çok yönlü moleküler mekanizmalar geliştirmektedir (Jones ve Dangl 2006; Dodds ve Rathjen 2010).

Bazı patojen protein reseptörlerinin enfeksiyonu desteklemek için hormon düzenlenmesini başlattığını gösteren birçok çalışma mevcuttur (Robert-Seilantiz vd.

2007). Buna karşılık, mikroorganizmalardan elde edilen hormonal bileşiklerin bitki-fungus etkileşimlerindeki ilgisi hakkında az sayıda literatür bulunmaktadır. Fungal kökenli hormonların ilk olarak gal oluşturan patojenlerin virölansı ile ilişkili olduğundan şüphelenilmiştir (Denance vd. 2013; Robert-Seilantantz vd. 2007). Simbiyotik mantarlar için, bu tür hormon üretimi bu etkileşimlerde sıklıkla gerekli olan kök modifikasyonları ile tutarlıdır (Hirsch vd. 1997). Bitki kaynaklı hormonların bitki hastalık dayanıklılığındaki rolü kapsamlı olarak gözden geçirilmiştir (De Vleeschauwer vd. 2014; Robert-Seilantantz vd. 2011).

Savunma tepkilerini düzenleyen başlıca bitkisel hormonları; salisilik asit (SA), jasmonik asit (JA) ve etilen (ET) içermektedir. Genel olarak salisilik asit, canlı dokularda, yani biyotik bir yaşam tarzı ile beslenen patojenlere karşı savunmada anahtar bir rol oynamaktadır. Jasmonik asit veya etilen ise ölü dokularda beslenen patojenlere karşı, yani nekrotrofik bir yaşam tarzına karşı savunmada kritik öneme sahiptir (Glazebrook 2005). Salisilik asit, savunmada oynadığı rol ilk gösterilmiş bitki hormonudur (White 1979) ve o zamandan beri yoğun olarak çalışılmaktadır.

Hormonlar, biyotik ve abiyotik streslere karşı bitki tepkilerinin alıcısıdır. Farklı uyarıcılara karşı tepkileri ayarlamaları nedeniyle çeşitli karmaşık ağlarla ilişkilidirler. Salisilik asit (SA), jasmonik asit (JA), etilen (Et) ve absisik asit (ABA) olmak üzere öncelikle dört hormon bitki savunmasını patojenlere karşı düzenlemektedir (Alazem ve Lin 2015). Bitkisel hormonlardan etilen, jasmonik asit ve salisilik asit, bitkinin dayanıklılığında merkezi rol oynamaktadır. Buna ilaveten bitki gelişim ve büyümesini düzenleme konusunda etkileri tanımlanmış olan oksinler, absisik asit, sitokininler, gibberellinler ve brassinosteroidlerin son zamanlarda bitkilerin dayanıklılıklarında da anahtar düzenleyici oldukları ortaya çıkmıştır (Denance vd. 2013). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, abiyotik stres koşullarına olan tepkinin ve bitki gelişmesinin düzenlenmesinde büyük role sahip olan oksin ve absisik asit gibi hormonların bitki-patojen etkileşiminde önemli role sahip oldukları belirlenmiştir (Kazan ve Manners 2009; Ton vd. 2009; Fu ve Wang 2011). Hareketsiz organizmalar olarak bitkiler, iklimsel ve çevresel değişimlere karşı özellikle savunmasızdır ve bu nedenle etkin adaptasyon mekanizmaları geliştirmek zorunda kalmıştır. Hormonlar, bitkilerin çevresinde bulunan farklı çevresel streslere karşı tepkileri uyaran sinyal molekülleridir. Salisilik asit, jasmonik asit ve etilen gibi bazı hormonlar, bitkilerin biyotik streslere tepkilerini düzenlemedeki rollerinden dolayı uzun zamandır bilinmektedir. Son zamanlarda, oksinler, brassinosteroidler, sitokininler ve absisik asit gibi çoğunlukla bitki büyümesi ve gelişmesinde rolleri ile bilinen diğer hormonların da bitki-patojen etkileşimlerinde rol oynadığı bulunmuştur (Denance vd. 2013; Pieterse vd. 2009; Santner vd. 2009). Hassas bitkilerde, viral enfeksiyonlar hormonal bozulmaya yol açar, bu da birkaç antagonistik hormonun aynı zamanda indüklenmesiyle ortaya çıkmaktadır (Alazem ve Lin 2015).

Hormonlar, belirli hormonların belirli koşullar altında birinin diğerinin üzerinde etkin olabileceği, antagonistik veya sinerjistik karşılıklı ilişkilere sahiptir. Savunma patwayini düzenleyen salisilik asit, jasmonik asit ve etilen antagonistik etkileşimler sergilemektedir. Örneğin, salisilik asit uyarım patwayi indüklenmesi jasmonik asit / etilen veya absisik asit patwayi ile baskı altına alınabilmektedir (Bari ve Jones 2009; Koornneef ve Pieterse 2008; Spoel vd. 2003; Yasuda vd. 2008). Kuraklık ve soğuk tepkileri gibi birkaç abiyotik stres tepkisine öncelikle salisilik asit patwayi (Soosaar

vd. 2005; Yasuda vd. 2008) ve etilen pathwayi de (Cheng vd. 2009; Ghassemian vd. 2000) dahil olmak üzere çoğu hormon pathwayi ile fazlasıyla antagonistik olan absisik asidin aracılık ettiği bildirilmiştir (Alazem ve Lin 2015). Bununla birlikte, absisik asidin nekrotropik enfeksiyon (Adie vd. 2007; Fan vd. 2009) veya stomaların açılıp kapanması (Hossain vd. 2011; Munemasa vd. 2007) sırasında jasmonik asit biyosentezini ve uyarımını pozitif yönde düzenlediği görülmektedir. Sonuç olarak, birkaç gelişimsel süreç esnasında gibberellinler üzerine absisik asit, sitokininler ve etilen antagonistik etkiye sahip iken oksin ise gibberellinler ile pozitif yönde etkileşime girmektedir (Greenboim-Wainberg vd. 2005; Jasinski vd. 2005; Weiss ve Ori 2007).

Büyüme ve gelişmenin hemen hemen tüm evrelerini etkileyen oksin, ilk ve en çok çalışılan bitki hormonudur (Baktır 2010; Chandler ve Werr 2015; Salehin vd. 2015; Schaller vd. 2015). Oksinler, bitki gelişimi, apikal dominansi, kök gravitropizmi, emici kökler, yan kökler, yaprak ve kök oluşumu ve bitki damar dokusunun oluşumu gibi birçok olayı düzenlemektedir (Baktır 2010; Kieffer vd. 2010; Swarup ve Péret 2012). Oksinler, tepe tomurcuğu baskınlığını koruyarak bitki büyümesinde ve gelişmesinde anahtar bir rol oynar (Benjamins ve Scheres 2008). Oksinler; hücre bölünmesi, farklılaşması ve organ oluşumu (Baktır 2010; Benjamins ve Scheres 2008; Oka vd. 1999; Vanneste 2005) ve yaşlılık (Kim vd. 2011) gibi bitki gelişim süreçlerinde yer alan indol türevli hormonlardır. Oksinler ayrıca bitkilerde biyotik ve abiyotik stres tepkilerini de kontrol etmektedir (Peleg ve Blumwald 2011).

Bitkilerin patojenlere dayanıklılık tepkilerinin düzenlenmesi üzerine oksinleri hem direkt hem de indirekt etkileri Kazan ve Manners (2009) tarafından tanımlanmıştır. Genel olarak, oksin bir negatif düzenleyici olarak hareket ederek bitki bağışıklığını etkiler (Ludwig-Muller 2015; Naseem vd. 2015). Böyle bir etki ise salisilik asit pathwayi üzerine oksinin antagonistik etkisine neden olabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, oksin reseptörü olan AFB1'in yapay ekspresyonu, salisilik asit birikimini azaltmış ve PtoDC3000 enfeksiyonu sırasında hassasiyeti artırmaya neden olmuştur (Robert-Seilaniantz vd. 2011). Salisilik asit yetersiz bitkilerde oksin biyosentetik geni YUCCA1'in yapay ekspresyonu enfeksiyonun daha da ilerlemesine yardımcı olduğu bildirilmiştir (Mutka vd. 2013).

Oksin düzeninin bozmak için önemli bir strateji, bitki patojenlerinin veya bitkilerle ilişkili patojen olmayan mikroorganizmaların oksin benzeri moleküller üretmesi oldukça yaygındır (Manulis vd. 1994; Glickmann vd. 1998; Robert-Seilaniantz vd. 2007). Bazı *Pseudomonas syringae* izolatları, patojenite ile ilişkili bir sigma faktörünün kontrolü altında olan IAA-konjugasyon enzimi IAA-Lysine Synthase (IAAL) kodlamaktadır. IAA-konjugasyon enziminin (IAAL) çıkarılması *Pseudomonas syringae* etmeninin enfeksiyonu sırasında IAA sentezinin rolünü destekleyen virülensliğin azalmasına neden olmaktadır (Castillo-Lizardo vd. 2015).

Oksin birikimi ve taşınması, efektörlerin virülans aktiviteleri ile değiştirilebilir. *Pseudomonas syringae* etmeninin tip III efektörü AvrRpt2, oksin biyosentezini arttırmaktadır (Chen vd. 2007). Aynı zamanda oksine duyarlı gen ekspresyonunu artırmakta ve oksin uyarımının negatif düzenleyici anahtarıdır (Cui vd. 2013). Oksin taşınımı *Phytophthora parasitica* etmeni tarafından da bozulabilmektedir (Evangelisti vd. 2013).

Bakterilerde oksinler triptofandan sentezlenir (Zhao 2010). Triptofan, tryptophan- 2-monooxygenase enzimleri vasıtasıyla indol-3-asetamide dönüştürülür ve indol-3-asetamid, indol-3-asetik asit (IAA) oluşturmak için hidrolize edilir. Yukarıda sözü edilen bakteriyel genler, aynı zamanda *Fusarium sp.* gibi mantarlarda da tanımlanmıştır ve fungal oksin üretimi ile ilişkili olduğu kanıtlanmıştır (Tsavkelova vd. 2012). Ancak, funguslarda birkaç oksin sentezi patwayi tanımlanmıştır (Chanclud ve Morel 2016).

Agrobacterium tumefaciens ve *Pseudomonas savastanoi*, konukçularında tümör oluşumuna neden olduğu iyi bilinen bitki patojenik bakterilerdir ve oksinler bu bakterilerin virülansına aktif olarak katkıda bulunmaktadır (Glass ve Kosuge 1988). Organ deformasyonuna neden olmayan fungal patojenlerde, fonksiyonel kanıtlar oksinlerin rolünü düşündürmektedir. Bitki dokularında fungal biyokütle ve oksinlerin ölçülmesi yoluyla *Colletotrichum gloeosporioides f. sp. aeshynomene* bitki kolonizasyonunun erken dönem biyotropik aşamalarında oksin ürettiği ortaya konulmuştur (Maor vd. 2004). Oksinlerin tüm fungal patojenite de gerekli olduğu ve fungal patojenitede rol oynadığı ileri sürülmektedir (Yin vd. 2014; Chanclud ve Morel 2016).

Birçok viral enfeksiyon, oksin biyosentezi veya uyarımının azaldığı mutantlara benzer şekilde bodurlaşma, yaprak kıvrılması veya tepe tomurcuğu baskınlığının kaybolması gibi anormal fenotiplerle sonuçlanmaktadır (Kazan ve Manners 2009). Örneğin hıyar mozaik virüsü (CMV) ve domates mozaik virüsü (ToMV) enfeksiyonları 'WIRY' mutantlarının fenotiplerine benzer domates belirtilerine benzeyen ince yapraklı mozaik hastalığına neden olmaktadır (Andrade vd. 1981; Pratap vd. 2012). Özetle, bazı virüsler, apikal dominansiyi de içeren bazı oksin faktörlerine karışmaktadır. Ayrıca çoğalmaları ve yayılmalarını teşvik etmek anlamında hücrealtı düzeyde yerleşimi ve fonksiyonlarını da idare etmektedir (Alazem ve Lin 2015).

Sitokininler, ATP / ADP / AMP'den veya tRNA'dan indirgeme pathwayinden elde edilmiş bitki hormonlarıdır. Sitokininler, hücre döngüsü ve hücre farklılaşmasının düzenlenmesi yoluyla kök ve sürgün oluşumu gibi bitki gelişim süreçlerindeki rolleri için iyi tanımlanmış hormonlardır (Fosket ve Torrey 1969; Barciszewski vd. 1999; Riou-Khamlichi vd. 1999; Carimi vd. 2003; Baktır 2010). Sitokininler ayrıca yaşlanmayı geciktirmektedir (Baktır 2010; Peleg vd. 2011; Wingler vd. 1998). Bitkilerde sitokinin biyosentezindeki ilk adım izopentenil transferaz enzimlerini içermektedir (Sakakibara 2006; Baktır 2010).

Sitokininler esas olarak sürgünlerin meristematik bölgelerinde üretilir ve aktif olarak büyüyen bölgelere nakledilmektedir. Sitokininler, hücre çoğalmasını ve uzamasını teşvik etmekte ve yaşlanmanın geciktirilmesi gibi çeşitli gelişimsel işlemlerin içerisinde yer alırlar (Aloni vd. 2005; Sakakibara 2006).

Sitokinin savunma tepkilerini doza bağlı olarak düzenlemektedir. Sitokinin uyarımının hafif veya zayıf aktivasyonu büyük olasılıkla salisilik asitten bağımsız şekilde patojen tarafından başlatılan dayanıklılığı (PTI) baskılamasına karşın sitokinin uyarımının güçlü aktivasyonu, salisilik asit seviyelerinin artmasına neden olmakta ve biyotroplara karşı direnç kazandırmaktadır (Hann vd. 2014). Sitokinin birikimi *Pseudomonas spp.*, *Xanthomonas spp.* ve *Ralstonia spp.* içeren çeşitli bakteriyel

patojenler tarafından üretilen korunmuş bir efektör ailesine ait olan tip III efektör HopQ1 tarafından düzenlenebilmektedir (Hann vd. 2014).

Gal oluşturan bakteriler sitokinin üretme yetenekleriyle iyi bilinmektedir. Örneğin, bakteriyel patojen *Rhodococcus fascians*, altı farklı sitokinin benzerinin bir karışımını üretmektedir (Crespi vd. 1992; Radhika vd. 2015). *Rhodococcus fascians* kaynaklı gallerde yüksek seviyelerde şeker ve aminoasitler birikmektedir; Bu besinler muhtemelen bakteri çoğalmasını desteklemek için *R. fascians* tarafından sitokininlerin üretilmesinden kaynaklanmaktadır (Depuydt vd. 2009).

Saprofitik, patojenik veya simbiyotik fungal türlerin birçoğunun sitokinin ürettiği görülmüştür (Murphy vd. 1997; Cooper ve Ashby 1998). Birkaç çalışmada sitokinin özellikle besin alımı ve hifsel (iplikçik) gelişme olmak üzere fungusların kendilerinin çeşitli fizyolojik süreçlerinde rol oynayabileceği ortaya konulmuştur (Le John ve Stevenson 1973). Örneğin sitokininler ektomikorizal misellerin in vitro dallanmasını teşvik etmektedir (Barker ve Tagu 2000).

Bazı bakteriyel ve fungal patojenlerde sitokininleri üretmektedir. Oksinlerde olduğu şekilde *Pseudomonas savastanoi* etmenine karşı savunma tepkilerini baskılamaktadır (Robert-Seilaniantz vd. 2007). Ancak bu durum sitokinin üretmeyen virüsler gibi biotroplar için görülmemektedir. Bu bulgular sitokininlerin virüslere karşı bitki direncinde rol oynayabileceğini ortaya çıkarmıştır (Masuta vd. 1995; Choi vd. 2011). Salisilik asit ile birlikte, bitki kaynaklı sitokininler, biyotroplara karşı savunma tepkilerini uyarmaktadır. Sitokininler, salisilik asit duyarlılık faktörü TGA3 ile etkileşime girerek salisilik asit uyarımını olumlu olarak düzenleyen transkripsiyonal düzenleyici ARR2 (*Arabidopsis* Tepki Düzenleyici 2)'yi aktive etmektedir (Choi vd. 2011). ARR'nin aşırı oluşumu ile biyotrop *Pseudomonas syringae* pv. tomato ile mücadele etmekte olan bitkilerde salisilik asit uyarım ve biyosentezini içeren genlerin transkripsiyonunu artırmaktadır Böylece sitokininler, salisilik asit uyarım pathwayi üzerinde sinerjistik olarak hareket edebilmektedir (Galis vd. 2004),

Argueso vd. (2012), dihidrozeatinin daha yüksek konsantrasyonlarının daha derin ve uzamış antiviral etkilere sahip olabildiğini ve sitokininlerin antibiyotik etkisinin büyük ölçüde salisilik asit biyosentezine bağlı ve muhtemelen de doza bağlı olarak görüldüğünü bildirmişlerdir. Araştırmacılar, sitokininlerin seviyelerinin salisilik asit ilişkili dayanıklılığın genişliğini belirlenmede yardımcı olabilecek bir bitki savunma modeli de önermişlerdir.

Gibberellinler (GA); *Gibberella fujikuroi* tarafından üretilen ve ilk tanımlanan terpenoid hormonal bileşiklerdir. Gibberellinlerin keşfi sonrasında bitki fizyolojisinde gibberellinlerin rolü çok çalışılmıştır. Gibberellinler çimlenme, çiçeklenme, hücre bölünmesi ve boğum arası uzaması olayları ile ilişkilidir (Brian ve Elson 1954; Swain ve Singh 2005; Pimenta Lange ve Lange 2006; Baktır 2010). Gibberellinler, tohum çimlenmesini teşvik etmekte, gövde uzamasını desteklemekte ve çiçeklenmeyi düzenlemektedir (Sun ve Gubler 2004; Baktır 2010). Aynı zamanda gibberellinler, çimlenmeyi, hipokotil uzamasını, kök, yaprak, gövde ve meyve büyümesini, yaprakların yeşillenmesini, çiçeklenme ile çiçek ve tohum gelişimini teşvik etmesiyle bitki yaşam döngüsünün tüm aşamalarında etkili olan tetrasiklik diterpenoid bitki hormonlarıdır (Baktır 2010; Hauvermale vd. 2012). Gibberellinler ile yapılan çalışmaların kökeni 20. yüzyılın başlarında çeltiklerde görülen budala fide hastalığı üzerinde çalışan Japon bilim

adamlarına kadar izlenebilmektedir (Baktır 2010; De Bruyne vd. 2014). Hastalığın belirtileri aşırı bitki boylanması, incelmış yapraklar ve gelişimi engellenmiş köklerdir. 1938 yılında Yabuta ve ortağı Yusuke Sumiki, bu belirtileri fungal patojen *Gibberella fujikuroi* (teleomorph: *Fusarium moniliforme*)’den elde edilen bir maddeye bağlamışlar ve patojenden izole edilen bu bileşiği gibberellin olarak adlandırmışlardır. 1950’lerin ortasına kadar olmasa da araştırmacılar, yüksek bitkilerde doğal olarak ortaya çıkan gibberellinlerin farkına vardılar ve bu durum modern tarımda devrim yaratmıştır. İlk yeşil devrim sonrasında geliştirilen çeşitler GA sentezini etkileyen mutasyonlara dayanmaktadır. Bu mutantlar Asya çapında rekor verim üreten IR8 mucize pirinç hattını içermektedir ve bunların arızalı GA20 oksidaz geni içerdiği bulunmuştur (Monna vd. 2002; Sasaki vd. 2002; Spielmeier vd. 2002).

İlk olarak bir fungal bitki patojeninde keşfedilmiş olmasına rağmen, GA’lar ve onların sinyal bileşenlerinin son zamanlarda patojen saldırısına karşı bitki tepkilerinde rol oynadığı belirlenmiştir. Bitki bağışıklığında GA rolünü ilk önerenler arasında Zhu vd. (2005) yer almaktadır ve araştırmacılar enfekte olmuş bitkilerde GA seviyelerinde önemli azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir.

Bu hormon, bitki gelişimini negatif düzenleyen DELLA proteinlerinin inhibe ederek bitki büyümesini teşvik etmektedir (Robert-Seilantantz vd. 2007). Gibberellik asit genellikle bitki savunmasında negatif bir role sahip olarak görülmektedir. Fonksiyon kaybına uğramış olan DELLA mutantları nekrotroplara karşı aşırı hassasiyet göstermelerine karşın *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 gibi biyotroplara karşı bitki dayanıklılığını artırmaktadır (Robert-Seilantantz vd. 2007).

Bununla birlikte GA ilişkili dayanıklılık araştırmaları, beş DELLA proteininden dördünün olmadığı *Arabidopsis* mutantlarının hemibiotropik patojen *P. syringae* karşısında salisilik aside bağlı dayanıklılığı yüksek seviyelerde görülünceye kadar hız kazanmamıştır. Buna zıt olarak dörtlü DELLA mutantları, nekrotropik fungus *Alternaria brassicola*’ya karşı hassasiyetin artmasıyla ilişkili PDF 1.2 jasmonik asit raportör geninin harekete geçirilmesini zayıflattığı belirlenmiştir. (Navarro vd. 2008). Araştırmacılar, bulgulara dayanarak, DELLA proteinleri bitki bağışıklığı boyunca salisilik asit/jasmonik asit uyarım dengesini düzenlediğini öne sürmüştür. Çeltikte, dışarıdan uygulanan GA’nın hemibiyotik çeltik patojenleri *Magnaporthe oryzae* ve *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*’ye karşı direncini azalttığı yönünde çarpıcı bir şekilde farklı sonuçlar elde edilmiştir (Yang vd. 2008; Qin vd. 2013). GA’nın aynı zamanda nekrotrofik çeltik kök çürüklüğü patojen *Pythium graminicola* için çeltik bağışıklığına olumlu etkide bulunabileceği görülmüştür (De Vleeschauwer vd. 2012). Bu nedenle, *Arabidopsis*, arpa ve buğdaydaki durumun aksine, çeltikte GA uyarımının nekrotroflara karşı direncin ve biyotroplara karşı hassasiyeti arttırdığı görülmektedir.

Bu çalışmalardan ortaya çıkan GA’ların bitkinin doğal bağışıklık uyarım ağında belirsiz rol oynadığı görünümüdür. Bazı durumlarda hastalık belirtilerinin gelişmesine katkıda bulunurken, diğer durumlarda bitki dayanıklılığın başlatılması ve savunma tepkileri için gereklidirler. Brassinosteroidler ve klasik savunma hormonları salisilik asit, jasmonik asit ve etilen gibi gibberellinler bitki bağışıklığında çok yönlü düzenleyiciler olarak davranıyor gibi görülebilmektedir. Bu etki bitki türü ve ilişkili patojenin tipi yanında her bir etkileşimin özelliğine göre farklı olabilmektedir (De Bruyne vd. 2014).

Brassinostereoidler ve gibberellinlerin nasıl algılandığı ve sinyallerinin nasıl aktarıldığı hakkındaki bilgi zenginliğinin aksine, bitki bağışıklık tepkilerinin düzenlenmesi ve entegrasyonundaki rolleri ve önemi uzun zamandır göz ardı edilmiştir. Gözden geçirilen çalışmalardan gibberellin ve brassinosteroidlerin bitki savunmasında bitki dayanıklılığının olumlu veya olumsuz olarak düzenlenmesiyle kararsız bir rol oynamasıyla karmaşık bir resim ortaya çıkmaktadır. Her ne kadar kesin kanıtlar hala eksik olsa da, bazı araştırmacılar patojenlerin, konukçunun gibberellin ve brassinosteroidlerin devamlılığını kendi avantajları için modifiye etmek için spesifik efektörler yerleştirebileceğini ileri sürmüşlerdir (Shan vd. 2008; De Vleeschauwer vd. 2012). İlave olarak bitki patojenleri, içeride uygun olmayan tepkileri aktive etmek ve bitkileri kandırmak için kendileri gibberellin ve brassinosteroidleri üretebilmektedir. Birkaç fungus ve bakteri türü GA veya GA benzeri bileşikler sentezleyebilmektedir (Bottini vd. 2004; Kawaide 2006).

Beta-karotenin parçalanmasından kaynaklanan bir terpen bileşiği olan absisik asit çok sayıda gelişim sürecini ve bitkilerin stres uyarım tepkilerini düzenlemektedir. Absisik asit, tohum çimlenmesi ve meyve olgunlaşması da dahil olmak üzere çeşitli gelişim aşamalarında son derece düzenleyici olup çoğu abiyotik streslere karşı bitki tepkilerinin düzenlenmesinde anahtar hormon olarak kabul edilmektedir (Baktır 2010; Peleg ve Blumwald 2011; Atkinson ve Urwin 2012; Rajjou vd. 2012; Sung ve Luan 2012). Bitkilerde, absisik asidin stoma kapanmasını teşvik ettiği ve dolayısıyla bitki kurak toleransına katkıda bulunduğu iyi bilinmektedir (Beardsell ve Cohen 1975; Baktır 2010). Ayrıca gibberellik asidin amilaz sentezi üzerindeki etkisini azaltarak veya yavaşlatma yolu ile antagonistik olarak hareket ederek tohum dormansisi üzerine de etkilidir (Debeaujon ve Koornneef 2000; Hopkins ve Hüner 2004; Baktır 2010).

Abiyotik streslere karşı bitki tepkilerinde kapsamlı olarak çalışılmış olan absisik asit (ABA) patojenlere karşı bitki savunma tepkilerine de karışmaktadır. Birçok bitki-patojen etkileşiminde, çalışılan konukçu-patojen etkileşimine bağlı olarak, absisik asidin bitki hastalık dayanıklılığını pozitif ya da negatif bir şekilde etkilediği ifade edilmektedir (De Vleeschauwer vd. 2010; Jiang vd. 2010; Xu vd. 2013). Absisik asit, biyotroplara karşı savunmada negatif bir düzenleyici olarak rol oynamaktadır (Cao vd. 2011). Bu durumun salisik asit uyarımındaki antagonistik etkisinden dolayı kaynaklandığı düşünülmektedir (Audenaert vd. 2002; Xu vd. 2013). Bu şekilde çeltikte dıştan uygulanan absisik asidin, salisilik aside bağlı savunma tepkilerinin iki anahtar düzenleyicisinin (WRKY45 ve OsNPR1) ekspresyonunu azalttığı ve fungal enfeksiyona karşı aşırı hassasiyete neden olduğu bildirilmiştir (Jiang vd. 2010).

Arabidopsis bitkisinde bakteriyel patojen *Pseudomonas syringae* tarafından üretilen bir çift tip III efektörün, absisik asit pathwayini aktive ettiği ve absisik asidin birikimini artırdığı ileri sürülmüştür (de Torres-Zabala vd. 2007).

Virülenslik için absisik asit pathwayini doğrudan hedefleyen patojenleri ortaya koyan açık kanıtlar olmamasına rağmen çeşitli patojenik fungusların kendileri de absisik asit üretmektedir (Dorffling vd. 1984; Jiang vd. 2010). Örnek olarak çeltik yanıklığı hastalığı patojeni olan *Magnaporthe grisea* (Jiang vd. 2010) ve *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* ve *Rhizoctonia solani* (Dorffling vd. 1984) hiflerinde absisik asit bulunduğu bildirilmiştir.

Kettner ve Dorffling (1995), domates bitkilerini absisik asit üretimi bakımından farklılık gösteren iki *Botrytis cinerea* ırkı ile inoküle etmişler ve düşük absisik asit üreten ırka göre daha yüksek absisik asit üreten ırk ile inoküle edilmiş yapraklarda absisik asit daha yüksek belirlenmiştir. Bu durum absisik asit birikimin enfeksiyon süresince bu patojenik fungus tarafından kaynaklanabileceğini veya başlatılabileceğini öne sürmüşlerdir.

Absisik asidin, salisik asit ve jasmonik asit/etilen gibi savunma hormonlarının pathwaylerinde antagonistik rolleri yanında enfeksiyon aşamasına bağlı olarak aynı patojene karşı çok yönlü rolleri olduğu görülmektedir. Absisik asit, patojenin ilk savunma hattını geçmesi durumunda kalloz (β -1,3-glukan) birikiminin başlatılması veya enfeksiyon erken aşamalarında patojenlere karşı stomanın kapatılması yoluyla bitki savunmasını olumlu olarak düzenleyebilmektedir. Bununla birlikte absisik asit daha sonraki aşamalarda aktif hale getirilirse reaktif oksijen türlerinin indüksiyonu ve salisilik asit veya jasmonik asit uyarım ve taşınımını baskılayabilmekte ve böylece her iki pathway tarafından kontrol edilen savunmaları olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Asselbergh vd. 2008; Ton vd. 2009).

Absisik asidin biyotik streslerde ilişkisi oldukça yoğun olarak çalışılmıştır. Absisik asit-virüs etkileşimi ilk olarak domates ve tütünde absisik asit birikimi üzerine tütün mozaik virüsünün (TMV) etkileri bağlamında yapılmıştır ve bu çalışma sonucunda absisik asit kalloz birikimini artırdığı ve virüs hareketini sınırlandırdığı ortaya konulmuştur (Whenham vd. 1986; Fraser ve Whenham 1989). Tütün nekroz virüsü (TNV) ile enfekteli fasulye bitkisinde absisik asit, kalloz birikimini başlatarak viral hareketi sınırlandırmıştır. Yapılan çalışmada dıştan absisik asit uygulaması ile virüs yoğunluğunun ve semptomların azaldığı fasulye bitkilerine, bir absisik asit inhibitörü olan nordihidroguaiaretik asit (NDGA) muamelesi sonucunda absisik asidin etkilerinin azaldığı görülmüştür (Iriti ve Faoro 2008). Bununla birlikte, bir başka çalışmada aynı konukçu olan fasulye bitkisinde beyaz yonca mozaik virüsü (WCIMV) enfeksiyonunda absisik asit indüksiyonu görülmemiştir (Clarke vd. 1998). Absisik asidin dıştan uygulamasının Bambu mozaik virüsüne (BaMV) karşı bitki dayanıklılığı artırdığı rapor edilmiştir (Alazem vd. 2014). Enfeksiyonlara karşı absisik asit tepkisi spesifik dayanıklılık genlerini barındıran bitkilerde değişkendir. Yapılan bir çalışmada absisik asit seviyelerinde patates y virüsüne (PVY) karşı enfekte olmuş veya olmamış tolerant patates çeşidinde farklılık görülmemiştir (Kovac vd. 2009), Buna karşılık hassas hatlarla karşılaştırıldığında tütün mozaik virüsüne (TMV) tolerantlık sağlayan Tm-1 geni bulunan bitkilerde yüksek absisik asit seviyeleri içerdiği belirlenmiştir (Fraser ve Whenham 1989).

Absisik asidin salisilik asit ile güçlü antagonistik etkisinin devam etmesi veya etmemesi için belirli koşullar sağlanmalıdır. Salisilik asit pathwayi çoğu viral enfeksiyonlar ile hem uyumlu hem de uyumsuz etkileşimler altında farklı seviyelerde uyarılmasına rağmen absisik asit ise bazı viral enfeksiyonlar sırasında uyarılmaktadır. Bambu mozaik virüsü (BaMV) ve tütün mozaik virüsü (TMV) enfeksiyonları için absisik asit ve salisilik asit pathwaylerinin eş zamanlı olarak artışı da bildirilmiştir (Fraser ve Whenham 1989; Alazem vd. 2014).

Absisik asidin virüs hastalıklarına karşı savunmada rolü kallozun (β -1,3-glukan) indirgenmesinden sorumlu β -1,3-glukanaz enziminin inhibisyonu aracılığı ile olmaktadır (Mauch-Mani ve Mauch 2005).

Absisik asit virüslerle uyumsuz etkileşimde önemli rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada sıcaklığa duyarlı R genlerinin yerleşiminin kontrolünde rolü bildirilmiştir (Mang vd. 2012). Absisik asit eksikliği *Pseudomonas syringae* etmenine karşı işlevsel olan sıcaklığa duyarlı SNC1 ve RPS4 R genlerinin nükleer lokalizasyonu ve aktivitesini teşvik etmektedir. Absisik asit eksikliği iki R dayanıklılık geninin dayanıklılığını artırmaktadır. Absisik asit eksikliğinin etkilediği her iki proteinin nükleer lokalizasyonu üzerine salisilik asidin aracı olmadığı bildirilmiştir (Mang vd. 2012).

Absisik asit tarafından hastalıklara karşı dayanıklılığın düzenlenmesi oldukça karmaşık bir süreçtir ve absisik asidin savunma tepkileri üzerindeki çeşitli düzenleyici etkilerine ilişkin yapılan çalışmalar absisik asidin hastalıklara karşı dayanıklılığı nasıl etkilediğine dair net bir model sunmak için yetersizdir (Alazem ve Lin 2015).

Çevrelerinde potansiyel patojenler tarafından sürekli tehdit altında olmaları nedeniyle etkili savunma tepkilerinin düzenlenmesinde başarısızlığın bitkiler için ölümcül olduğu açıktır. Bitki hormonları, sadece kabul edilmiş savunma hormonları ile değil, aynı zamanda büyüme hormonları yoluyla bağışıklık üzerinde derin bir etkiye sahiptir (Huot vd. 2014). Konukçular ile ortak evrimsel silahlanma yarışında patojenler bitkilerdeki canlılığın en üst düzeyine karşı gelişmiş stratejiler geliştirmiştir (Ma ve Ma 2016).

Doğal enfeksiyonlar sırasında içsel hormon düzeylerinin deneysel uygulamalardan kaynaklı olarak bir düzeye kadar dalgalanma göstermesi olasıdır. Her ne kadar salisilik asit ve jasmonik asidin biyotroplara ve nekrotroflara karşı savunmayı düzenleyici rolleri genel olarak kabul edilmiş olsa da, çelişkili bulgular da bildirilmiştir. Patojenler ve simbiyozlar da dahil olmak üzere birçok bitkilerle ilişkili mikroorganizmanın, doğrudan bitki hormonları ürettiği de görülmektedir (Ma ve Ma 2016).

2.3. Alternaria Kahverengi Leke Hastalığı ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Alternaria kahverengi leke hastalığı ilk olarak 1903 yılında Avustralya'da 'Emperor' mandarininde bulunmuştur (Pegg 1966). Hastalığın daha sonra Güney Afrika (Schutte vd. 1992), İsrail (Solel 1991), Küba (Herrera 1992), Kolombiya (Castro Caicedo vd. 1994), Türkiye (Canıhoş vd. 1997), İspanya (Vicent vd. 2000), İtalya (Bella vd. 2001), Arjantin (Peres vd. 2003) ve Peru (Marin vd. 2006)'da görüldüğü bildirilmiştir. Bu hastalık ülkemizde ilk kez 1992 yılında Türkiye'de ihracat amacıyla geniş alanlarda yetiştiriciliği yapılan *Minneola* tanjelolarda görülmüş ve 1993-1996 yılları arasında bu hastalık epidemi yapmıştır. (Canıhoş vd. 1997).

Alternaria kahverengi leke hastalığı hassas turuncgil genotiplerinde genç yapraklar ve meyveler üzerinde nekrotik lezyonlar, meyve ve yaprak dökümüne sebep olan ciddi bir fungal hastalıktır (Akimitsu vd. 2003). *Alternaria* kahverengi leke hastalığı, mandarin ve melezlerinin yaprak, dal ve olgunlaşmamış meyvelerini etkilemesi nedeniyle önemli bir fungal hastalıktır (Pegg 1966; Canıhoş vd. 1999).

Alternaria kahverengi leke hastalığının mandarin ve melezlerini enfeksiyon koşulları oluştuğunda önemli derecede etkilediği kaydedilmiştir (Kiely 1964; Pegg 1966; Whiteside 1976; Gardner vd. 1986). Mandarin çeşitleri ve melezleri arasında en fazla etkilenen çeşitler; Dancy ve kısmen de Fortune çeşitleridir (Nemsa vd. 2012). Peever vd (2000), Minneola tanjelo, Orlando tanjelo, ‘Sunburst’ and ‘Nova’ mandarin melezlerinin patojene karşı çok hassas olduklarını bildirmiştir.

Hastalık etmeni genç yaprak, sürgün ve genç meyvelerde enfeksiyon yapmaktadır. Genç yapraklarda genellikle yaprağın uç ve kenar kısmından başlayan enfeksiyonlar yaprağın orta kısmına doğru ilerler. Enfeksiyon bölgesinde renk kahverengileşir, ancak etrafı geniş sarı renkli bir hale ile çevrilidir. Enfekteli yapraklar kısa sürede dökülür. Meyveler 3.5-4.0 cm çapa erişinceye kadar hastalığa duyarlıdır ve meyve yüzeyinde 1.0-3.0 mm çapta kahverengi siğil şeklinde mantar dokusu oluşur. *Alternaria alternata* f.sp. *citri* yapraklardaki enfeksiyonları ile ağacı zayıflatmakta ve bir yıl sonraki ürünü doğrudan etkilemektedir.

Hastalığın çevresel koşullara uyum yeteneğinden dolayı hastalık hem nemli hem de yarı kurak alanlarda şiddetli epidemiyi yapabilir (Timmer vd. 2003). Hastalıkla enfekte olmuş dokular üzerindeki patojenin sporları ve konidileri hava akımları ve yağmur vasıtasıyla yayılır. Ağaçlar üzerindeki uzun süren ıslaklık ve ılık sıcaklıklar enfeksiyon için uygun ortamı yaratmaktadır.

Turunçgillerde *Alternaria* hastalığına neden olan *Alternaria alternata* etmeninin mandarin patotipi; ACT-I toksininin biyosentezinden sorumlu olan ve koşullara bağlı olarak zorunlu olmayan küçük bir kromozomda yerleşmiş bir gen kümesine (ACTT) sahiptir (Ajiro vd. 2010). Diğer bir seçilen toksin olan ACT-II toksini de veya ACTG toksini Kono vd. (1986) tarafından tanımlanmıştır. Yine de ACT-I toksini turunçgillerde en azından 10 kat daha toksittir. Bu konukçuya özel toksinler (HST) konidinin çimlenmesi süresince açığa çıkar ve hızlı bir şekilde bitkinin hassas hücrelerinin plazma membranlarının bütünlüğünü etkiler (Kohmoto vd. 1993).

ACT toksininin hareket biçimi hala belirsizdir. Yine de yaprak dokularından elektrolitlerin hızlı kaybı ve toksin tarafından etkilenmiş hücrelerin plazma membranlarının içine girmesi; ilk hareket yerinin plazma membranları olabileceğini belirtmektedir (Akimitsu vd. 2003). Üstelik hassas turunçgil genotiplerinin plazma membranlarında toksin alıcılarının varlığını akla getiren dolaylı kanıtlar vardır (Tsuge vd. 2012). Bu toksinler nedeniyle konukçu bitkinin hücrelerinin zararlanması oldukça hızlıdır ve hücre ölümü için gerekli zaman oldukça kısadır (Kohmoto vd. 1993; Otani vd. 1995). ACT toksininin hızlı etkisinden dolayı inkubasyon periyodu çok kısadır ve lezyonlar, bulaşmadan 1 veya 2 gün sonra görülebilir olmaya başlar (Canlıoğlu vd. 1999). Yine de, konukçuya özel toksinler (HST) konukçu bitki hücreleri ve hücre ölümü için oldukça toksik olmasına rağmen, patojen tarafından enfeksiyonun oluşturulması, hücre ölümünden ziyade bitkinin savunma tepkilerinin genotipe özel bir sınırlandırma nedeniyle olmaktadır (Tsuge vd. 2012). İlave olarak, son yapılan çalışmalar konukçu bitkiler tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin azalmasının patojenite için gerekli olduğunu göstermiştir (Yang ve Chung 2012).

ACT toksinlerinin, çilek patotipi ve Japon armudu tarafından üretilen 9,10-eokxy-8-hydroxy-9-methyl-decatienoic acid esterlerine yapısal olarak benzer metabolitlere sahip olduğu bulunmuştur (Nakashima vd. 1985; Nakatsuka vd. 1986;

Kohmoto vd. 1993). Armut, çilek ve aynı zamanda elma patotipi için tolerantlık tek bir resesif allel gen tarafından kontrol edilmektedir (Kohmoto vd. 1993; Tsuge vd. 2012). Turunçgillerde de *Alternaria* kahverengi leke hastalığına tolerantlık tek bir resesif allel gen tarafından kontrol edilmekte olup monogenik bir kontrol olarak tanımlanmaktadır. Bu yüzden tolerant turunçgil çeşitlerinde bu lokusda resesif homozigot olarak değerlendirilirken hassas çeşitlerde heterozigot veya dominant homozigot olabileceği bildirilmiştir (Dalkılıç vd. 2005; Gülşen vd. 2007).

Günümüzde, *Alternaria* kahverengi leke hastalığının kontrolü fungusitlerin kullanımına dayanmaktadır. Bulaşma için kritik periyot boyunca hassas organları korumak için ilaç uygulaması planlanmış olmalıdır. Hastalıksız, kaliteli meyve üretimi ve pazarlama için, yetiştiricilik yapılan bölgenin iklimine ve çeşidin hassasiyetine bağlı olarak yılda 4-10 defa fungusit uygulamasına ihtiyaç vardır (Swart vd. 1998; Peres ve Timmer 2006; Vicent vd. 2007). *Alternaria* kahverengi leke hastalığının kontrolü için fungusitlerin sistematik olarak uygulanması çevresel problemleri ve halk sağlığı endişelerini de yaratabilmektedir (Vicent vd. 2009). Üstelik yüksek sayıda ilaç uygulamasına rağmen hastalığın kontrolü daima memnun edici değildir ve bu nedenle Fortune, Minneola tangelo ve Nova gibi hassas çeşitlerin üretimi son yıllarda önemli derecede azalmış ve tolerant çeşitler bu çeşitlerin yerine geçmiştir (Navarro vd. 2006).

Dünya üzerinde çoğu alanda turunçgil üretimin artışı ve sürdürülebilirliğinin sağlanması konusunda turunçgil hastalıkları en kısıtlayıcı faktör olarak düşünülmektedir. Turunçgil genotiplerinin *Alternaria* hastalığına hassas veya toleranlığının belirlenmesi konusunda birkaç çalışma yürütülmüştür (Hutton ve Mayers 1988; Goes vd. 2001; Vicent vd. 2004; Dalkılıç vd. 2005; Reis vd. 2007; Souza vd. 2009). Bu çalışmalar arasında bazı çelişkiler bulunmasına rağmen Clementine, Willowleaf ve Satsuma mandarinleri için tolerantlık belirgindir. Ayrıca, Dancy ve Fortune mandarinleri, Orlando, Minneola ve Nova tanjelo ile Murcott tangor hassasiyet keskinleşmiştir. Ellendale tangor ile bazı portakal ve altıntoplar gibi diğer çeşitler için ise literatür bildirişlerine göre hassas veya tolerant olarak değişiklik göstermektedir.

Çukurova'da Minneola tanjelo'da *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeninden kaynaklanan hastalığın yaygınlığını ve şiddetini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma çerçevesinde 35 bahçede ilkbahar sürgünlerinde enfeksiyonlar görülerek hastalık şiddetinin 10 bahçede % 10'un altında, 10 bahçede % 11-20 arasında, 7 bahçede % 21-30 arasında, 5 bahçede % 31-40 arasında, 1 bahçede % 42.5 ve 1 bahçede de % 62.3 olarak tespit edilmiştir (Erkılıç vd. 1999).

Canlıhoş ve Erkılıç (1998), turunçgil çeşitlerinin *Alternaria alternata* f.sp. *citri* ve toksinlerine karşı duyarlılıklarını araştırdıkları çalışmalarında; Dancy ve akrabalarını oldukça hassas bulunurken, altıntop ve bazı mandarin çeşitlerini orta derecede hassasiyet gösterdiklerini kaydetmişlerdir. Hernandina, Okitsu Wase, Satsuma, Ellendale, Marisol mandarinleri ve Washington Navel portakalı, genel olarak patojene karşı tolerant olarak bulunmuştur.

Reis vd. (2007), turunçgil türlerinin patojene duyarlılığı ile ilgili yapılan bir çalışmada, Fairchild, Nova ve Fortune melezlerinin doğal enfeksiyonlara duyarlı oldukları; ancak doğada dayanıklı olan bazı çeşitlerde de yapay inokulasyonların hastalığı neden olabileceğini bildirmiştir.

Canlıhoş vd. (1999), Minneola tangelo'nun genç yapraklarını kullanarak *in vitro* koşullarda izolatların, yaprak ıslaklığının ve sıcaklığının *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeninin enfeksiyonu üzerine olan etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışma neticesinde; enfeksiyonların en iyi 27 °C'de gerçekleştiği ve sıcaklığın aşamalı olarak 24 °C, 20 °C ve 17 °C'ye düşürüldüğünde, enfeksiyonların azaldığını bulmuşlardır. Yaprak ıslaklığının 4-8 saat olduğu durumlarda enfeksiyon seviyesinin düştüğü, yaprak ıslaklığının 36 saate çıktığı durumlarda ise enfeksiyon seviyesinin arttığını gözlemlemişlerdir.

Şire (2011), Çukurova'da yetiştiriciliği yapılan ve bölgeye yeni giren 18 çeşit mandarin (Clausellina, Dobeshi Beni, Dancy, Ellendale, Fortune, Fremont, Hernandina, Clementine, Lee, Marisol, Minneola Tangelo, Napolitana, Nova, Okitsu Wase, Ortanique, Robinson, Satsuma, W. Murcott), 8 portakal (Cara Cara, Fukumoto, Lane Late, Moro, Navelina, Valencia, Midnight Valencia, Washington Navel), 4 limon (Eureka, Interdonato, Kütdiken, Meyer) ve 3 altıntop (Henderson, Rio Red, Star Ruby) olmak üzere toplam 33 turuncgil çeşidinin *Alternaria* kahverengi leke hastalığı etmeni *Alternaria alternata* f.sp. *citri* izolatlarına karşı reaksiyonlarını incelediği çalışma sonucunda Dancy, Fortune, Nova ve Minneola tangelo çeşitlerini çok duyarlı, Robinson mandarin çeşidini orta derecede duyarlı ve Ortanique çeşidini az duyarlı olduğunu belirtmiştir. Çalışmada yer alan diğer çeşitlerde ise herhangi bir enfeksiyon gelişimi olmamıştır.

Bununla birlikte bütün tolerant/hassas değerlendirmeleri diploid genotipler üzerinde yapılmıştır ve triploidlerin farklılıkları üzerine herhangi bir veri henüz bilinmemektedir. Üstelik *Alternaria* kahverengi leke hastalığına tolerantlık lokusunun genetik yerleşimi hakkında veya onunla kuvvetli bir şekilde ilişkili hiçbir bilgi bulunmamaktadır. Bu bilgi hem diploid hem de triploid seviyede bir ıslah programında çok erken aşamada marker destekli seleksiyon (MAS) uygulamak ve aday dayanıklılık genlerinin tanımlanması için çok yararlı olabilir.

Bu çalışmada *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine hassas olduğu bilinen Fortune mandarini çeşidinden mutasyon ıslahı yoluyla yeni mutant bireylerin elde edilmesi, elde edilen mutant bireylerin *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine hassasiyetlerinin belirlenmesi ve sonuçta tolerant ve hassas olarak bulunan genotiplerde hastalık inokulasyonu öncesi ve sonrasında hormonal değişimin (oksin, gibberellin, sitokinin, absisik asit) ortaya konulması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Projede materyal olarak Fortune mandarini kullanılmıştır. Fortune mandarini ülkemiz koşullarında Mart-Nisan aylarında olgunlaşan geççi, yüksek verimli ve albenisi yüksek bir çeşittir. Meyveleri orta irilikte, hafif yassı olup, meyve kabuğu orta kalınlıkta, oldukça sıkı yapıda fakat soyulabilir niteliktedir. Meyve kabuğu hafif pürüzlü ve kırmızıya çalan turuncu renklidir. Meyve eti turuncu renkli olup; sıkı, gevrek ve sulu, aroma ise zengin ve buruktur. Tohumları orta irilikte, pek çok sayıda ve monoembriyoniktir. Ağacı kuvvetli büyür ve yayvan taç yapısına sahip olup dallar sık bir yapıdadır (Reuther vd. 1967). Uzun zaman boyunca bu çeşidin ebeveyni olarak Clementine ve Dancy mandarin çeşitleri kabul edilmiş olmasına rağmen Barry vd. (2015), Fortune mandarininin Clementine mandarini ve Orlando tanjelo melezi olduğunu bildirmişlerdir. Ülkemizde son yıllarda geççi çeşitlere artan eğilime rağmen *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine karşı hassasiyetinden dolayı bu çeşidin üretimi yaygınlaşmamıştır (Şekil 3.1).



(a)



(b)

Şekil 3.1. *Alternaria* kahverengi leke hastalığının simptomlarını gösteren Fortune mandarini a) meyvesi; b) yaprakları

Araştırmada mutant bireylerin yetiştirildiği alan denize 7.62 km uzaklıkta olup denizden yüksekliği 9 metredir. Araştırma alanı 36° 55' 32.40" kuzey ve 35° 00' 35.75" doğu koordinatlarındadır (Şekil 3.2). Aşı gözü kaynağı olarak, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Meyvecilik Bölümünde bulunan iklim kontrollü seraların aşı gözü çoğaltım bloklarında virüs ve virüs benzeri hastalıklardan arındırılmış olarak saksılarda muhafaza edilen Fortune mandarini kullanılmıştır. Fortune mandarinin yıllık sürgünlerine Türkiye Atom Enerjisi Kurumunda ⁶⁰Co kaynağından 50 ve 60 gray dozlarında akut gamma ışın uygulaması sonrasında elde edilen M₁V₁ bireyleri ile aşılama sonucunda elde edilen M₁V₂ ve M₁V₃ bireyleri, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün Kayaburnu-Meyvecilik Bölümünde bulunan iklim kontrollü seralarda yetiştirilmiş olup sulama ve gübreleme işlemleri EC-pH kontrol ünitesi yardımıyla gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Deneme alanının uydu görüntüsü

Alternaria alternata f.sp. *citri* etmeninin izolasyonu ile patojenisite testlemeleri Adana Biyolojik Mücadele Araştırma Enstitüsünde; spor süspansiyonu elde edilmesi ve DAS-ELISA ile absisik asit analizi çalışmaları Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Bitki Sağlığı Laboratuvarlarında, *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda reaksiyonların belirlenmesi çalışmaları Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü doku kültürü laboratuvarında bulunan sıcaklık ve nem kontrollü yetiştirme odalarında gerçekleştirilmiştir. HPLC çalışmaları ise Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nün Aksu yerleşkesinde bulunan Gıda ve Tıbbi Bitkiler Merkezi Laboratuvarında yapılmıştır.

Fortune mandarini aşısı gözlerine fiziksel mutajen uygulanması sonucunda aşısı gözleri ve daha sonrasında aşılama ile elde edilen M_1V_2 ve M_1V_3 aşamalarında anaç olarak ülkemizde de turuncgillerde yoğun bir şekilde tercih edilen Yerli turunc (*Citrus aurantium* L.) anaç kullanılmıştır. Anaç olarak kullanılan Yerli turunc çöğürleri 15x35 cm ebatlarında körüklü fidan torbaları içerisine 3:1 oranında konulan torf-perlit karışımında yetiştirilmiştir.

Çalışmada anaç kullanılan Yerli turunc (*Citrus aurantium* L.) anaç; Ülkemizde, turuncgil üretiminin büyük bir bölümünün sağlandığı Akdeniz Bölgesinde en yaygın kullanılan anaçtır (Tuzcu vd 1999). Dünyada turuncgil yetiştiricilik alanlarında en yaygın anaç olarak kullanılmaya devam edilmesine rağmen, özellikle turunc üzerine aşılı mandarin, altıntop ve portakalların tristeza (*Citrus tristeza virus-CTV*) virüs hastalığına duyarlı olması nedeniyle Avustralya, Arjantin, Brezilya, Kaliforniya, İspanya, Güney Afrika ve Florida'nın büyük bir kısmında yeni kurulan bahçelerde

kullanımı sınırlanmıştır. Ancak, turunc CTV'nin problem olmadığı yerlerde ve orta ağır topraklarda yapılan yetiştiricilik alanlarında sofralık turuncgil üretimi için oldukça iyi bir anaçtır (Davies ve Albrigo 1994).

Anaç olarak kullanılan Yerli turuncun meyve kabuğu koyu portakal renginde, pürüzlü, kalın ve meyve etine sıkı bağlıdır; kalınlığı 7.2 mm'dir. Ortalama meyve genişliği 74.82 mm, uzunluğu 67.18 mm, indeksi 1.124, meyve ağırlığı 158.24 g'dır. Olgunluktan sonra puflaşmaya eğilimi artar. Meyve eti portakal rengindedir. Meyve eti yuvarlak ve stil ucu tarafı hafif basıktır. Meyve başına ortalama 28.93 adet çekirdek bulunmaktadır. Meyve eti sulu, hoş giden bir aromaya sahiptir. Bol kokulu olup, ekşi-acı-tatlı bir tadı vardır. Meyve orta ekseni açıktır. Meyveleri portakaldan daha uzun süre ağaç üzerinde kalır. Genç ağaçlarda taç şekli silindiriktir; fakat ağaç yaşlandıkça yuvarlak şekilli bir taç oluşturur. Tristezya çok hassas, bunun yanında; cüceleşme, gözenek, zamlaşma, kök boğazı çürüklüğü hastalıklarına dayanıklı bir anaçtır. Kireçli topraklara dayanıklı olan bu anaç bazı limonlar ve Satsuma mandarini ve kamkatlar hariç diğer ticari çeşitlerle genellikle iyi bir uyuma göstermektedir. Tohumların ekilmesiyle elde edilen çöğürlerin % 85'i nuseller embriyolardan meydana gelmektedir. Ayrıca, meyve kabuğu, yaprağı, genç sürgünleri ve çiçek taç yaprakları reçel, pasta, şekerleme ve esans sanayinde hammadde olarak kullanılır (Tuzcu 1990).

3.2. Metot

3.2.1. Mutajen uygulamasıyla Fortune mandarin mutant popülasyonlarının oluşturulması

Çalışma kapsamında Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Meyvecilik Bölümü turuncgil 1. kademe aşı gözü bloğunda bulunan üzerinde en az 20 adet göz bulunan Fortune mandarin aşı kalemleri nemli kağıtlara sarılarak buz kutuları içerisinde Mart 2014 tarihinde Türkiye Atom Enerjisi Kurumuna götürülmüş ve burada ⁶⁰Co kaynağından 50 ve 60 gray dozlarında akut gamma ışını uygulanmıştır (Şekil 3.3). Işın uygulanmış gözler bekletilmeden hemen ertesi gün iklim kontrollü seralarda yetiştirilen Yerli turunc (*Citrus aurantium* L.) anacı üzerine toprak seviyesinden 20-25 cm yüksekliğinde 'T' göz aşısı metodu ile aşılanmış ve böylece M₁V₁ aşamasında bireyler elde edilmiştir. Yapılan aşılar aşılamadan hemen sonra aşı bağı ile bağlanmıştır. Aşılamada, Yerli turunc (*Citrus aurantium* L.) anacının en az 1 cm kalınlığında ve 80 cm uzunluğunda olmasına dikkat edilmiştir.

Gelişen ve aşı gözü alınabilecek duruma gelen M₁V₁ bitkilerinin her birinden en dipteki uyur 3 göz ve en üstteki şişkinleşmemiş gözler alınmayacak şekilde bir kesim yapılmış, orta kısımda bulunan gözler (5-7 göz) Eylül 2014 tarihinde Yerli turunc üzerine toprak seviyesinden 20-25 cm yüksekliğinde aşılanmıştır. Aşılamadan 3 hafta sonra aşılar gözlemlenerek aşı tutmuş olduğu belirlenen bireylerin gözlerinin sürmesi sağlamak amacıyla aşının 10-15 cm üzerinden tepe kesimi yapılarak M₁V₂ popülasyonu oluşturulmuştur. Tepe kesiminden 10 gün sonra sürmeye başlayan bireylerin aşı bağları çözülmüştür.



(a)



(b)

Şekil 3.3. Türkiye Atom Enerjisi Kurumunda akut gamma ışını uygulanan
a) Fortune mandarin aşı gözleri; b) ^{60}Co kaynağı

Benzer şekilde 2015 yılı Mart ayında, gelişen ve aşı gözü alınabilecek duruma gelen M_1V_2 bitkilerinin her birinden en dipteki uyur 3 göz ve en üstteki pişkinleşmemiş gözler alınmayacak şekilde ortadaki 5-7 aşı gözü alınarak Yerli turunc anacı üzerine aşılanmış ve M_1V_3 populasyonunu oluşturulmuştur. Aşılamadan 3 hafta sonra aşı tutmuş olduğu belirlenen bireylerin gözlerinin sürmesini sağlamak amacıyla aşının 10-15 cm üzerinden tepe kesimi yapılmış ve 10 gün sonra sürmeye başlayan bireylerin aşı bağları çözülmüştür (Şekil 3.4). Mutajen uygulaması sonrasında her üç aşamada da Fortune mandarini mutant populasyonlarının oluşturulması çalışmaları iklim kontrollü seralarda yapılmış, sulama ve gübreleme işlemleri EC-pH kontrol ünitesi vasıtasıyla yapılmıştır. Patojenlere karşı zirai mücadele çalışmaları da aksatılmadan gerçekleştirilmiştir.



(a)



(b)

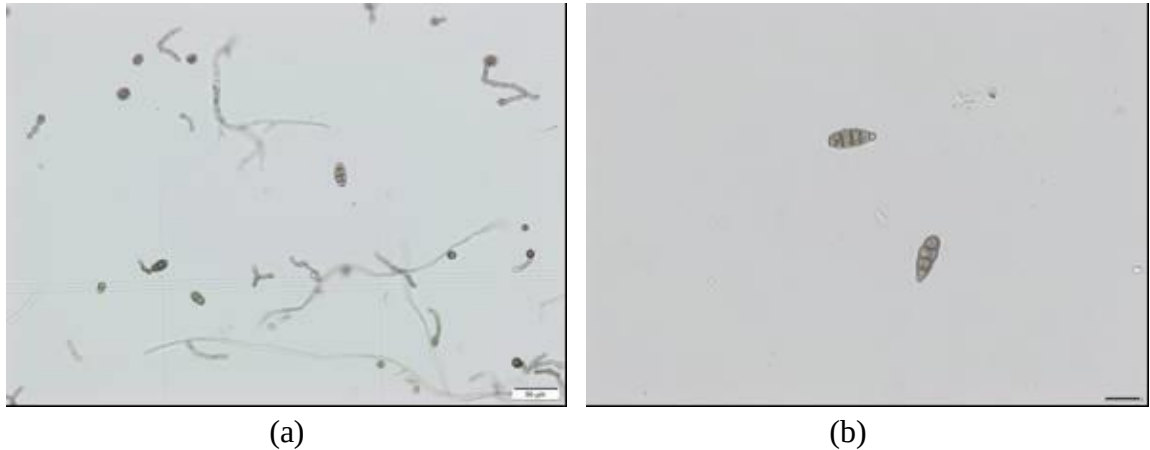
Şekil 3.4. Aşılamalar sonrası a) tepe kesimi yapılan bireyler; b) süren aşı gözleri

3.2.2. *Alternaria alternata* f.sp. *citri* izolatlarının toplanması ve izolasyonu

Alternaria alternata f.sp. *citri* izolatları turunçgil yetiştiriciliği yapılan Adana ilinde bulunan üretici bahçelerinden temin edilmiştir. Bunun için özellikle Minneola tanjelo başta olmak üzere, mandarin bahçelerinde periyodik olmayan arazi çıkışları ile tipik hastalık belirtileri gösteren hastalıklı genç yaprak ve sürgün örnekleri toplanarak buz kutuları içerisinde laboratuvara getirilmiş ve izolasyon çalışmaları yapılmıştır.

Toplanan yaprak örnekleri yaklaşık 2-4 mm² büyüklüğünde kesilerek 1 dakika süre ile % 1'lik sodyum hipoklorit içerisinde bekletildikten sonra steril saf sudan geçirilmiştir. Steril kurutma kağıtlarında üzerlerindeki serbest suyu uzaklaştırılan doku parçaları, içerisinde patates dekstrozu agar (PDA) besi ortamı bulunan petrilere 27 °C'de 3-5 gün süre ile kültüre alınmıştır. PDA besi ortamının hazırlanması için; dehidre besiyeri, 39 g/l olacak şekilde saf su içinde ısıtılarak eritildikten sonra 121 °C'da otoklavda 15 dakika sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besi ortamı steril kabin içerisinde steril petrilere 12.5'er ml olacak şekilde dökülmüştür.

Petri içerisindeki koloniden bistüri yardımıyla yaklaşık 2 mm² büyüklüğünde miselyumlar ayrılmış ve bu küçük parçalar 1 litre saf su içerisinde 30 g CaCO₃, 20 g sakaroz ve 20 g agar içeren spor oluşturma ortamına transfer edilmiştir. Kurumayı engellemek için her bir petriye 2 ml steril saf su ilave edilmiş ve petrilere parafilm ile kaplanarak 3-5 gün süresince 27 °C'de inkübe edilmiştir. Petri içerisinde katı ortamda geliştirilen *Alternaria alternata* f.sp. *citri* kolonileri üzerine yaklaşık 10 ml steril saf su ilave edilerek bir fırça yardımı ile miseliyal kitle kazınmış ve sonra tülbentten geçirilerek hifsel kitle uzaklaştırılmıştır. Spor süspansiyonu 10⁶ spor/ml olacak şekilde ayarlanmış ve tüplere toplam hacmin % 20'si oranında gliserol ilave edilmiştir (Canlıoğlu vd. 1999; Dalkılıç vd. 2005). Spor süspansiyonu uygulamalar öncesinde hazırlanmış ve bekletilmeden kullanılmıştır (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. *Alternaria alternata* f.sp. *citri* sporlarının ışık mikroskobu altında a) 20 µm; b) 50 µm boyutta görünümü

3.2.3. *In vitro*'da *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine karşı reaksiyonların belirlenmesi

Uygulamalar 2015 yılı ilkbahar döneminde gerçekleştirilmiştir. *In vitro*'da spor inokulasyonu testlerinde M₁V₃ aşamasındaki 111 Fortune mandarin mutanı ile hassas Fortune mandarini ve tolerant olduğu bilinen Satsuma Owari ile Clementine Fina mandarin çeşitlerinden alınan genç yapraklar kullanılmıştır. Bitkilerin sürgün ucuna yakın olan taze, yumuşak ve 1-2 cm uzunluktaki yaprakları alınarak laboratuvara götürülmüş (Şekil 3.6) ve nemliliği sağlamak için içerisine steril su ile ıslatılmış olan steril filtre kâğıtları üzerine yerleştirilmiştir.

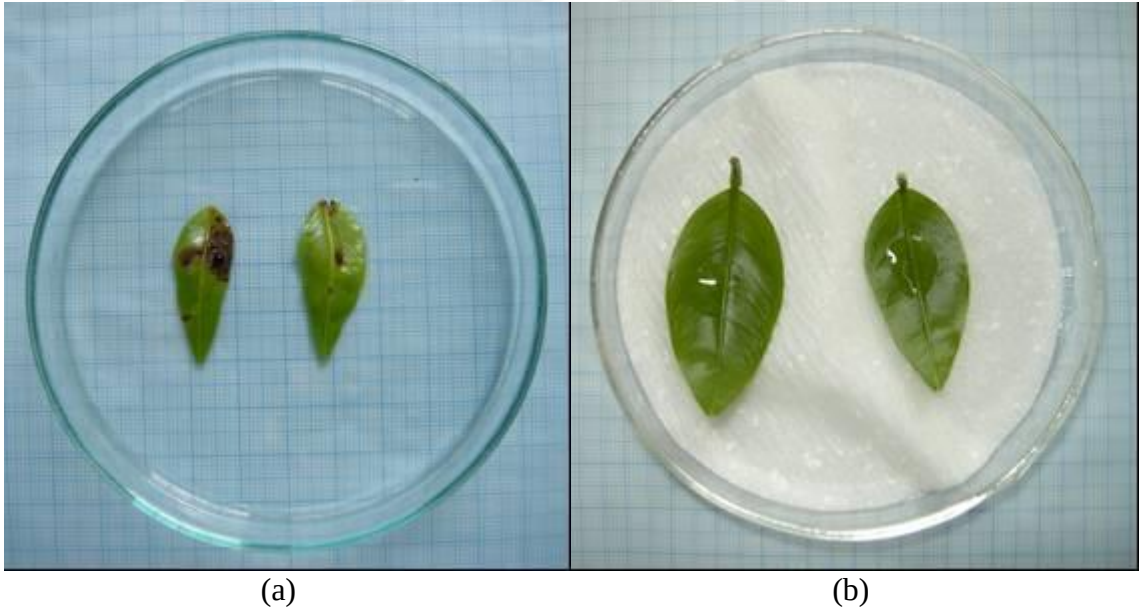


Şekil 3.6. Mutant bireylerin *in vitro*'da yaprak testlemelerinde kullanılan taze yapraklarından bir görünüm

İnokulasyonlar, steril kabinde petri içerisinde steril su ile ıslatılmış olan steril filtre kâğıtları bulunan yaprakların sadece alt yüzeyine 20 µl olacak şekilde mikropipet yardımıyla yapılmıştır (Şekil 3.7). Petri kapları içerisine 2 yaprak konulmuş ve yapraklardan birinde yaralama yapılmış diğerinde yaralama yapılmamıştır. Petriler 27°C'de 60-72 saat boyunca inkübe edildikten sonra, belirti gösteren bireyler hassas, belirti göstermeyenler ise tolerant olarak dikkate alınmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.7. Yaprığın alt yüzeyine mikropipet yardımıyla 20 µl konidi süspansiyonu ilave edilmesi



Şekil 3.8. Alternaria kahverengi leke hastalığına a) hassas; b) tolerant bulunan bireylerden görünüm

3.2.4. *In vitro*'da tolerant ve hassas olarak belirlenen bireylerin fidanlarında *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine karşı reaksiyonlarının belirlenmesi

In vitro değerlendirmeler neticesinde tolerant olarak belirlenen bireyler aşılanarak fidan haline getirilmiş ve *in vivo* koşullarda *Alternaria* kahverengi leke hastalığına karşı değerlendirilmiştir. Hastalığa karşı değerlendirmeler için yeni sürgün ve yaprak oluşumunu teşvik etmek amacıyla genotiplerin yaprakları uygulamadan 1 ay

önce budanmıştır. Budamadan sonra genç yapraklar 2-3 cm uzunluğa eriştiği dönemde (Şekil 3.9) 10^6 spor/ml olarak hazırlanan süspansiyon her yaprak başına yaklaşık 2 ml olacak şekilde spreysel şekilde uygulanmıştır (Azevedo vd. 2010).



Şekil 3.9. İnokulasyon büyüklüğüne gelen yapraklar

İnokulasyon yaprakların her iki yüzü de ıslanacak şekilde yapılmış ve inokulasyondan sonra, yaprakların kurumasını engellemek ve nemi korumak için bitkiler polietilen torbalar içerisine alınmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Hastalık inokulasyonu sonrası nem kaybını azaltmak için polietilen torbalar içerisine alınan yapraklar

Bitkiler, 26 ± 2 °C ve % 80-85 nem oranına ayarlanmış sıcaklık ve nem kontrollü yetiştirme odalarında tutulmuştur. İnokulasyondan 24 saat sonra hastalık belirtileri görülmeye başlaması (Dalkılıç vd. 2005) nedeniyle gözlemler 24-72 saat sonra yapılmıştır (Şekil 3.11; Şekil 3.12). Gözlemler neticesinde; belirti gösteren bireyler hassas, belirti göstermeyenler ise toleran olarak değerlendirilmiştir.



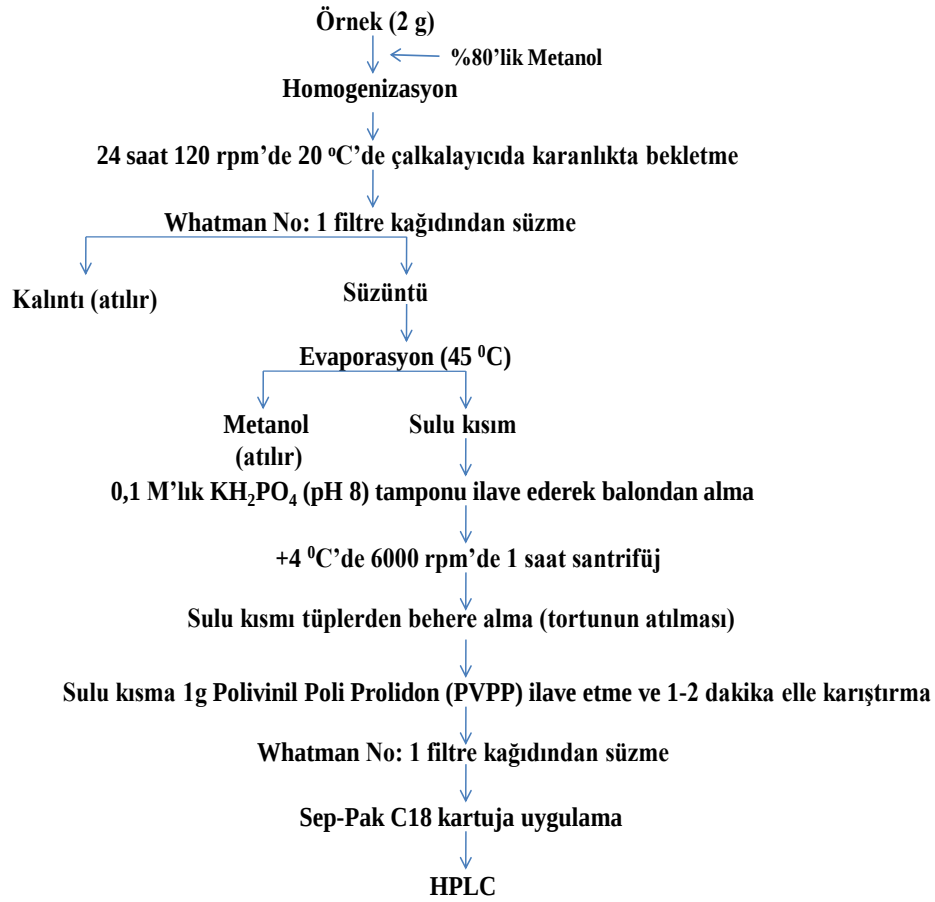
Şekil 3.11. İnokulasyon sonrasında hastalık belirtisi görülen bitkiler



Şekil 3.12. İnokulasyon sonrasında hastalık belirtisi görülmeyen bitkiler

3.2.5. *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine karşı mutantlardaki bazı doğal hormon seviyelerinin saptanması amacıyla HPLC ve DAS-ELISA çalışmaları

Tolerant ve hassas olarak belirlenen mutant bireylerde indol asetik asit (IAA), gibberellik asit (GA_3), zeatin (Z), absisik asit (ABA) seviyelerindeki değişimi belirleyebilmek amacıyla hastalık inokulasyonundan önce ve inokulasyondan 24-72 saat sonra belirtiler görüldüğünde yaprak örnekleri alınarak ekstraksiyon ve kromatografik analizler yapılmıştır. Ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri Kuraishi vd. (1991), Battal ve Tileklioğlu (2001) ve Erez (2009)'un kullandığı metotlara göre yapılmıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Çalışmada izlenen ekstraksiyon ve saflaştırma aşamaları

Çalışmada örneklerin ekstraksiyonu için alınan yaprak örnekleri üzerine 4 °C'de bekletilen % 80'lik metanol ilave edilerek 10 dakika boyunca homojenizatörde parçalanmıştır (Şekil 3.14). Homojenize edilen örnekler 4 °C'de ve karanlıkta 24 saat bekletilmiştir. Örnekler Whatman No:1 filtre kâğıdından süzildükten sonra sulu kısım alınırken filtre üzerinde kalan kalıntı atılmıştır (Şekil 3.15). Sulu kısımdaki metil alkol rotary evaporatörde 45 °C sıcaklıkta uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.16). Metil alkolü uçurulan ekstraktlar balon jodeden 0,1 M'lık KH₂PO₄ (pH 8) tamponunda çözülerek alınmış ve 4 °C'de 6000 rpm'de 1 saat boyunca santrifüje edilmiştir. Tüplerdeki tortu kısım atılarak örnekler behere alınmış ve fenolik bileşikleri ve renk maddelerini ayırmak için üzerine 1 g polivinil poli pirrolidon (PVPP, Sigma) ilave edilerek 1-2 dakika karıştırılmıştır (Erez 2009). Daha sonra Whatman No:1 filtre kâğıdından süzümüştür. Süzüntü Sep-pak C 18 kartuşa uygulanmadan önce kartujdan 2.5 ml metanol (% 80) ve 2.5 ml saf su geçirilerek kartuj şartlandırılmıştır. Daha sonra süzüntü kartujdan geçirilerek hormonlar kartuj içinde tutulmuştur. Kartujda adsorbe edilen hormonlar 5 ml % 80'lik metanol kullanılarak viallere alınmış ve yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC)'ye enjekte edilmiştir.



Şekil 3.14. Örneklerin homojenize edilmesi



Şekil 3.15. Örneklerin homojenize edildikten sonra 4 °C’de karanlıkta 24 saat bekletilmesi



Şekil 3.16. Rotary evaporatörde metil alkolün uzaklaştırılması

HPLC’de ABA, GA₃, IAA ve Z analizleri Morris vd. (1990)’a göre yapılmıştır. Hormon analizleri LC 20 AT model HPLC cihazında (Shimadzu, Kyoto, Japan) yapılmıştır (Şekil 3.17). HPLC analizleri aşağıdaki sistemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

- a) Dedektör: DAD (Diode Array Detector, SPD-M20A)
- b) Kolon: Inertsil C₁₈ (5 µm, 250 × 4.6 mm, GL Science, Tokyo, Japan)
- c) Akış hızı: 1 ml/dakika
- d) Mobil faz: Metanol ve 0.1 M asetik asit (55/45 v/v) (Ülger vd. 1999).
- e) Dalga boyları: GA için 254 nm, IAA için 276 nm, Z için 272 nm ve ABA 234 nm.



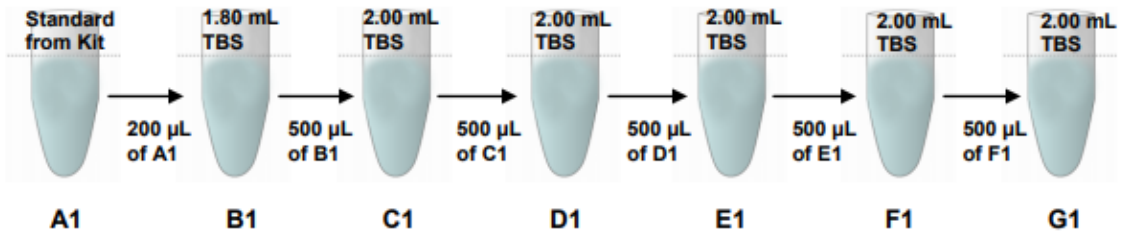
Şekil 3.17. Hormon analizlerinde kullanılan HPLC cihazı

ABA analizleri; Hurng vd. (1994) tarafından belirtilen Karşılaştırmalı ELISA (DAS-ELISA) (Double Antibody Sandwich Indirect Enzyme-Linked Assay) yöntemine göre ve üretici firma önerileri doğrultusunda yapılmıştır. Bu amaçla Agdia firmasının PDK 09347/0096 katalog numaralı Phytodetek ABA Test Kiti içerisinde bulunan kaplanmış olan tabakalar kullanılmıştır. Tris-buffered saline (TBS) ve Phosphate buffered saline with Tween 20 (PBST) buffer çözeltilerinin hazırlanması için ticari kit içerisinde verilmiş olan konsantrasyonlar üretici firma önerileri doğrultusunda distile su ile hazırlanmıştır. Kit içerisinde bulunan ABA tracer solüsyonu hazırlanmıştır. Bunun için TBS bufferin her 1 ml’si için kit içinde bulunan ABA tracer’den 2.5 µl ilave edilmiştir.

Daha sonra standartlar hazırlanmıştır. İlk önce ana stok olarak (A1) 1 ml TBS buffer içerisine ticari kitin içerisinden çıkan ABA standart şeridinde belirtilen yerinden kesilerek 5 dakika boyunca oda koşullarında inkübe edildikten sonra 30 saniye boyunca vorteks yapılarak kullanıma hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan ABA ana stok solüsyonundan TBS buffer ile 6 farklı konsantrasyonda standart solüsyon hazırlanmıştır. Ekstraktlardaki ABA miktarı tayini için 0-1000 pikomol/ml standart aralığı kullanılmıştır (Çizelge 3.1; Şekil 3.18).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan ABA standartlarının TBS Buffer ile seyreltme yoluyla hazırlanması

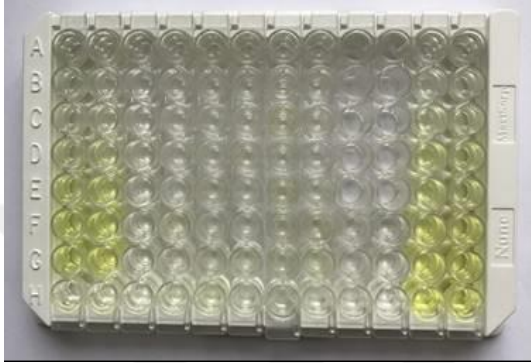
Standart solüsyonlar	ABA Solüsyonu	TBS Buffer miktarı	ABA Konsantrasyonu (picomol/ml)	Seyreltme oranı
A1	1 şerit	1.00 ml	1000	-
B1	A1'den 200 µl	1.80 ml	100	1/10
C1	B1'den 500 µl	2.00 ml	20	1/5
D1	C1'den 500 µl	2.00 ml	4	1/5
E1	D1'den 500 µl	2.00 ml	0.8	1/5
F1	E1'den 500 µl	2.00 ml	0.16	1/5
G1	F1'den 500 µl	2.00 ml	0.032	1/5
H1	0	100 µl	0	



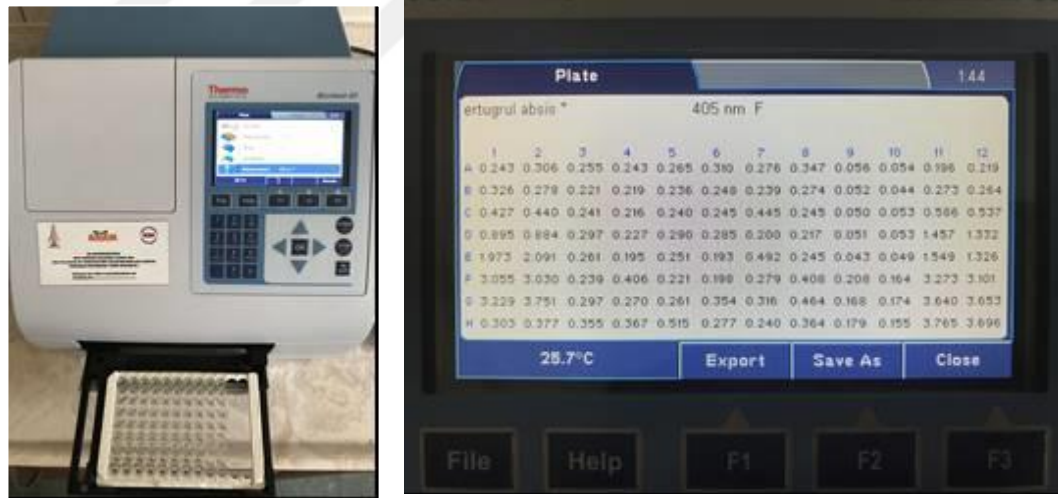
Şekil 3.18. TBS Buffer ile seyreltme yoluyla absisik asit standartlarının hazırlanma şeması

Hastalık uygulanmış ve uygulanmamış olan yaprak örnekleri toplanarak polietilen torbalar içerisinde bekletilmeden laboratuvara getirilmiştir. Üretici beyanları doğrultusunda son ekstraksiyon içerisinde TBS buffer içerisinde % 10'dan fazla organik içerik olmaması gerektiği belirtilmesinden dolayı her bir yaprak örneğinden 0.5 g kullanılmıştır. Tartılan örnekler test tüpleri içerisine konularak içerisine 5 ml TBS buffer ilave edilmiş ve homojenizatör ile bitki öz suyu elde edilmiştir. Daha sonra tabaka kuyucuklarına önce standart solüsyonlar (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1 ve H1) ve sonrasında örnek solüsyonlarından 100'er µl konulmuştur. Firma önerisi doğrultusunda tabaka üzerindeki kuyucuklara 2 tekerrürlü olarak yükleme yapılmıştır. Daha sonra her bir kuyucuğa hazırlanmış olan ABA tracer solüsyonundan 100'er µl eklenerek karıştırılmıştır. Tabaka nemli kutu içerisinde 3 saat boyunca 4°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon bittikten sonra tabaka önceden hazırlanan yıkama solüsyonu ile her çukura 100 µl olacak şekilde 2 defa yıkanmıştır ve kurutma kağıtlarına sertçe vurularak iyice kurulanmıştır. Bu sırada substrate solüsyonu da üretici önerileri

doğrultusunda hazırlanmıştır. 5 ml PNP Substrate Buffer içerisinde kit ile birlikte verilen 1 adet PNP tablet çözündürülerek her kuyucuğa 200 µl eklenmiştir (Şekil 3.19). Tabaka daha önceden ısıtılmış ve 37°C'ye ayarlanmış olan inkübatör içerisine nemli kutu içine konularak yerleştirilmiş ve 60 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tabaka 405 nm dalga boyunda Thermo Scientific firmasının Multi Scan GO markalı spektrofotometrede okutulmuştur (Şekil 3.20). Spektrofotometrede okunan değerler örneklerdeki ABA konsantrasyonları, kullanılan ELISA kitinin üretici beyanları doğrultusunda ABA standartlarından oluşturulan standart eğrisi oluşturularak hesaplanmıştır.



Şekil 3.19. Test kiti içerisinden çıkan kaplanmış tabakaların kuyucuklarına eklenen preparatların görünümü



Şekil 3.20. Preparatların eklendiği test kitine ait tabakaların spektrofotometrede okutulması

3.2.6. İstatistiksel değerlendirme

Çalışma, tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak ve *in vitro* çalışmalarında her tekerrürde 1 yaprak, *in vivo* çalışmalarında ise bir fidan bulunacak şekilde yürütülmüştür (Düzgüneş 1963). Varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar SAS istatistik paket programında LSD çoklu karşılaştırma testi ($p < 0.05$) kullanılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Mutajen uygulamasıyla Fortune mandarin mutant popülasyonlarının oluşturulması

Işın uygulaması sonrasında 50 gray dozunda aşılana 25 adet aşı gözünden 12 adedi ve 60 gray dozundan aşılana 20 adet aşı gözünden 4 adedi sürmüş olup bu bireyler M_1V_2 aşaması için aşı gözü alımında kullanılmıştır (Çizelge 4.1). Hearn (1986), Foster altıntopunda tomurcuklara 30, 50, 70, 90 ve 110 gray dozlarında gamma ışını uyguladığı çalışmada LD_{50} dozunu serada aşılana için 50 gray, fidanlıkta aşılana için 90 gray olarak saptamıştır. Tuzcu vd. (1988), farklı turuncgil çeşitlerine gamma ışını uyguladıkları çalışmada LD_{50} dozunu; Fremont mandarin ve Valencia late portakalında 58 gray, Tuzcu 33-9 turuncunda 72 gray ve Kütdiken limonunda 78 gray olarak bulmuşlardır. Zhou vd. (1995), optimum ışın dozunu portakallar için 5 gray ve mandarin için 30 gray olarak saptadıklarını bildirmişlerdir. Gülşen vd. (2007), 478 adet M_1V_3 birey içerisinde uçkurutan hastalığına tolerant olarak bulunan 4 Kütdiken limonu mutantından 3 adedinin 50 gray ve 1 adedinin 70 gray dozundan elde edildiğini bildirmişlerdir.

Çizelge 4.1. Fortune mandarininde gamma ışın uygulaması yapılan ve süren aşı gözü sayıları

Gamma ışın dozu (gray)	Işınlanan göz sayısı (adet)	Süren göz sayısı (adet)	Canlılık oranı (%)
50	25	12	48.00
60	20	4	20.00

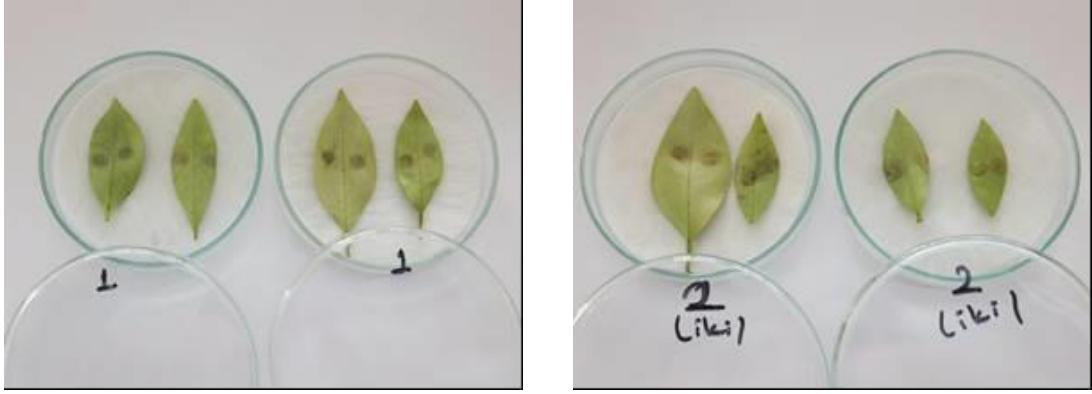
Aşılamalar neticesinde 50 gray dozunda 45 adet M_1V_2 bireyi ve 107 adet M_1V_3 bireyi elde edilmiştir. 60 gray dozunda ise M_1V_2 ve M_1V_3 aşamasında yapılan aşılamalar sonucu süren birey elde edilememesi nedeniyle M_1V_1 aşamasındaki elde edilen bireyler, tepe kesimi ile M_1V_3 aşamasına getirilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Mutant bireyler ile oluşturulan M_1V_2 ve M_1V_3 popülasyonu sayıları

Gamma ışın dozu (gray)	M_1V_2 aşamasında süren göz sayısı (adet)	M_1V_3 aşamasında süren göz sayısı (adet)
50	45	107
60	4	4

4.2. *Alternaria alternata* f.sp. *citri* izolatlarının toplanması ve izolasyonu

İzolatlar, *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeninin neden olduğu ilk enfeksiyonların görülmeye başladığı 2014 yılı Şubat-Mart aylarında Adana ilinde 2 farklı ticari Minneola tanjelo elde edilmiştir. Elde edilen izolatların patojenisite testlemeleri neticesinde izolatlardan sadece bir tanesinin kuvvetli bir izolat (2 numaralı izolat) olduğu belirlenmiş ve sekans analizine gönderilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen izolatın ITS1 primerine göre % 99 oranında AHS-467-6 izolatı ile eşleşme sağladığı görülmüştür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Patojenisite testlemesine alınan iki farklı hastalık izolatu görünümü

4.3. *In vitro*'da *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine karşı reaksiyonların belirlenmesi

Çalışmada, 111 mutant birey ve 3 ticari çeşit (Fortune, Clementine Fina, Okitsu Wase) olmak üzere toplam 114 genotip testlenmiştir. *In vitro* değerlendirmeler neticesinde 111 mutant birey arasında 102 mutant birey (% 91.89) oldukça hassas bulunmuştur. Ticari çeşitlerden ise Clementine Fina ve Okitsu Wase mandarinleri, *Alternaria* kahverengi leke hastalığına tolerant olarak bulunurken Fortune mandarini oldukça hassas olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Turunçgil genotiplerinin *in vitro* değerlendirmeleri sonucu *Alternaria* kahverengi leke hastalığına hassasiyetleri

Işın dozu (gray)	Birey	Lezyon çapı (mm)	Lezyon varlığı	Işın dozu (gray)	Genotip	Lezyon çapı (mm)	Lezyon varlığı
50	7-5-5	1.00 yz	+	50	2-3-4	4.50 nw	+
50	7-2-4	1.00 yz	+	50	1-3-4	6.50 fp	+
50	7-5-4	1.00 yz	+	50	4-2-2	4.00 px	+
50	6-5-1	5.50 js	+	50	2-2-4	5.25 kt	+
50	1-5-3	7.75 bk	+	50	3-3-5	3.25 sy	+
50	1-2-1	2.25 vz	+	50	4-5-2	2.50 uz	+
50	1C	2.75 ty	+	50	4-3-1	5.00 lu	+
50	7-5-6	3.25 sy	+	50	5-3-6	4.00 px	+
50	1-4-1	1.00 yz	+	50	3C	3.25 sy	+
50	1-4-2	1.50 xz	+	50	1	5.00 lu	+
50	7-1-1	3.75 qx	+	50	5-3-4	5.50 js	+
50	2-5-1	4.75 mv	+	50	4-5-1	3.50 ry	+
50	1-2-2	6.50 fp	+	50	4-2-1	7.50 cl	+
50	7-5-2	4.00 px	+	50	4-3-3	8.00 bj	+
50	1-2-3	3.25 sy	+	50	4-5-3	9.75 ac	+
50	2-3-2	3.75 qx	+	50	3-3-4	4.75 mv	+
50	7-2-1	5.00 lu	+	50	3-3-3	5.00 lu	+
50	5-4-2	7.50 cl	+	50	5-2-1	7.00 dn	+
50	4-4-2	5.50 js	+	50	4-4-1	5.50 js	+

Çizelge 4.3'ün devamı.

Işın dozu (gray)	Birey	Lezyon çapı (mm)	Lezyon varlığı	Işın dozu (gray)	Genotip	Lezyon çapı (mm)	Lezyon varlığı
50	1-5-2	3.75 qx	+	50	3-3-1	6.00 hr	+
50	7-5-3	5.00 lu	+	50	1-3-2	8.25 b1	+
50	4	9.00 bf	+	50	5-2-3	5.25 kt	+
50	3	1.00 yz	+	50	5-3-1	5.50 js	+
50	2	3.75 qx	+	50	6-2-3	3.25 sy	+
50	6-4-3	10.25 ab	+	50	5-1-4	3.50 ry	+
50	1B	5.25 kt	+	50	4-3-4	4.00 px	+
50	5-4-3	5.00 lu	+	50	6-2-1	4.25 ow	+
50	5	6.25 gq	+	50	6-2-4	5.00 lu	+
50	5-4-1	5.50 js	+	50	6-4-1	6.00 hr	+
50	3A	1.00 yz	+	50	5-3-3	11.75 a	+
50	2D	5.50 js	+	50	6-2-5	5.00 lu	+
60	6C	2.00 wz	+	50	4-4-3	5.75 1s	+
50	2C	4.50 nw	+	50	5-3-5	10.25 ab	+
60	6A	2.75 ty	+	50	5-1-3	4.00 px	+
50	2-2-2	7.75 bk	+	50	6-2-6	5.25 kt	+
50	7A	2.75 ty	+	50	6-2-2	6.25 gq	+
50	3B	2.50 uz	+	50	5-1-2	6.25 gq	+
50	4-4-5	8.00 bj	+	50	1-3-1	9.25 ae	+
50	4-3-2	3.50 ry	+	50	3-4-1	5.75 1s	+
50	5-1-1	6.00 hr	+	50	5-2-2	9.50 ad	+
50	4-3-7	2.00 wz	+	50	3-3-2	7.25 cm	+
50	6-4-2	4.75 mv	+	50	3-4-2	8.25 b1	+
50	4-3-5	7.50 cl	+	50	4-5-4	8.50 bh	+
50	2-2-3	6.00 hr	+	50	1-3-5	7.50 cl	+
50	4-4-4	7.25 cm	+	50	2-2-1	8.75 bg	+
50	7-2-3	6.25 gq	+	50	7-5-1	10.25 ab	+
50	7-4-2	9.50 ad	+	50	7-3-1	8.75 bg	+
50	2-3-1	8.50 bh	+	50	7-1-3	5.25 kt	+
50	7-2-2	9.00 bf	+	50	1-3-3	4.50 nw	+
50	7-1-2	1.00 yz	+	50	2-3-3	6.75 eo	+
50	2-5-2	7.25 cm	+	50	4-2-3	5.25 kt	+
50	1-5-1	0.00 z	-	60	6B	0.00 z	-
50	5-3-2	0.00 z	-	60	6D	0.00 z	-
50	2B	0.00 z	-	50	2A	0.00 z	-
50	1A	0.00 z	-	50	4-3-6	0.00 z	-
Clementine Fina		0.00 z	-	50	7-4-1	0.00 z	-
Okitsu Wase		0.00 z	-	Fortune		4.75 mv	+

* Farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir ($p < 0.05$).

Fortune mandarininden mutasyon yoluyla elde edilmiş; 1-5-1; 5-3-2; 2B; 1A; 6B; 6D; 2A; 4-3-6 ve 7-4-1 genotipleri ile Clementine Fina mandarin çeşidi ve Satsuma

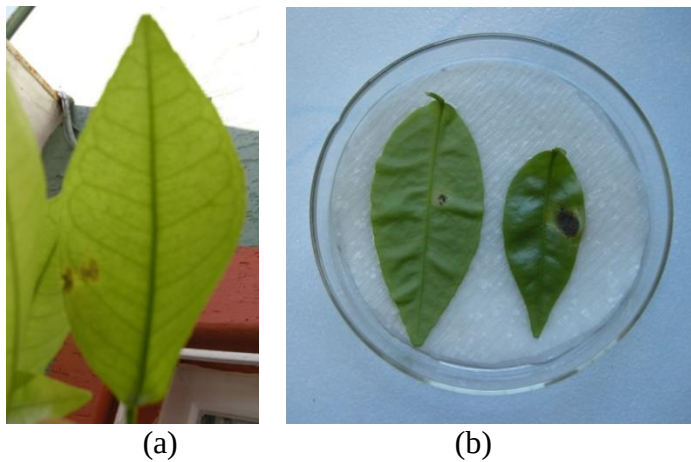
grubu mandarinlerden olan Okitsu Wase mandarin çeşidi patojene karşı tolerant olarak bulunmuştur. Fortune mandarini ise hassas olarak belirlenmiştir.

Alternaria alternata etmeni tarafından kısmen konukçuluk oranını belirleyen ve aynı zamanda bazı mandarin ve mandarin melezlerinin hassasiyetlerini tanımlayan özel bir toksin (ACT) üretilmektedir. Turunçgillerde ACT toksinine karşı hassasiyet veya dayanıklılık üzerine farklı çalışmalar ve farklı sonuçlar bulunmaktadır. Kohmoto vd. (1991), mandarin patotipine hassas olarak turunçgiller içerisinde tangerine, tanjelo ve tangorlar olmak üzere 28 çeşit bulunduğunu bildirmiştir. Solel ve Kimchi (1997), Minneola tanjelo, Dancy, Ellendale, Murcott, Nova, Satsuma, Orlando tanjelo, and Page çeşitlerinin oldukça hassas oldukları bulunmuştur. Daisy, Temple × Dancy ve Satsuma × Murcott genotiplerinin patojene hassasiyetleri bildirilmiştir (Stuart vd. 2009). Solel ve Kimchi (1997), araştırma sonuçlarına uygun olarak Minneola tanjelo çeşidinin *Alternaria* kahverengi leke hastalığına hassas, farklı olarak ise Satsuma mandarinini patojene karşı hassas olarak bulmuşlardır.

Turunçgillerde, *Alternaria* kahverengi leke hastalığına tolerantlık tek bir resesif allel gen tarafından kontrol edilmekte olup monogenik bir kontrol olarak tanımlanmaktadır (Dalkılıç vd. 2005; Gülşen vd. 2007). Bu yüzden *Alternaria* kahverengi leke hastalığına tolerant birey elde etmek amacıyla melezleme ıslahı yerine mutasyon ıslahının daha faydalı bir ıslah yöntemi olduğu söylenebilir. Testleme çalışmalarımız sonuçlarıyla uyumlu olarak Japonya'da Sanada vd. (1993), armutta; Akira vd. (2001) ve Yoshioka vd. (2001), ise elmada yapılan çalışmalarda mutasyon ıslahı yöntemi kullanılarak elde edilen bireyler arasında *Alternaria* hastalığına karşı tolerant bireyler bulunduğunu bildirmişlerdir.

4.4. *In vitro*'da tolerant ve hassas olarak belirlenen bireylerin fidanlarında *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine karşı reaksiyonlarının belirlenmesi

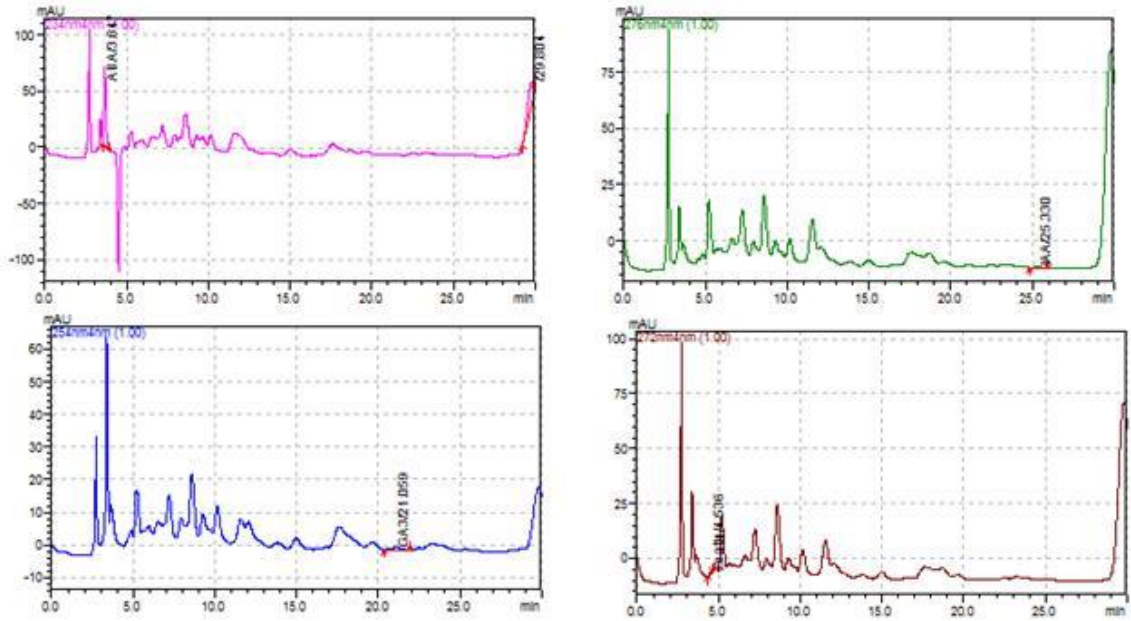
In vitro değerlendirmeler neticesinde tolerant olarak belirlenen bireyler aşılansarak fidan haline getirilmiş ve *in vivo* koşullarda *Alternaria* kahverengi leke hastalığına karşı değerlendirilmiştir. *In vitro* değerlendirmeler sonucunda tolerant olarak bulunan bireylerin *in vivo* değerlendirme sonuçları birbirini desteklemiştir. Sonuçlar, Souza vd. (2009) ile benzerlik göstermiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Hastalık testlemelerinde (a) *in vivo*; (b) *in vitro* görülen hastalık şiddetlerinin görünümü

4.5. *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmenine karşı mutantlardaki bazı doğal hormon seviyelerinin saptanması amacıyla HPLC ve DAS-ELISA çalışmaları

In vitro değerlendirmeler neticesinde tolerant ve hassas olarak belirlenen mutant bireyler ve çeşitlerden *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeninin inokulasyonu öncesi ve sonrasında alınan yaprak örneklerinde yapılan ekstraksiyon sonrasında bekletilmeden içsel GA₃, IAA ve zeatin (Z) seviyelerindeki değişim HPLC ile ppm olarak belirlenmiştir. ABA seviyelerindeki değişim ise DAS-ELISA yöntemi ile pikomol/ml olarak belirlenmiştir. HPLC’de elde edilen kromatogramlara ait örnek görüntü Şekil 4.3’te verilmiştir.



Şekil 4.3. HPLC cihazından elde edilen örnek kromatogramlar

Fortune mutantları ve ticari mandarin çeşitlerinde içsel hormon seviyelerindeki değişimi belirlemek için yapılan analiz sonucunda hem genotiplerin birbiri arasında hem de hastalık inokulasyonu uygulaması ile genotip x uygulama interaksiyonunun istatistiki olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$).

Genel olarak Fortune mandarin mutantlarında hastalık inokulasyonu sonrasında saptanan içsel GA₃ seviyeleri, inokulasyon öncesine göre 2B, 6B ve 5-3-2 genotipleri haricinde bir düşüş göstermiştir. Ancak ticari çeşitlerde ise durum tersine olmuş ve Okitsu Wase mandarini haricinde Clementine Fina, Minneola tanjelo ve Fortune çeşitlerinde inokulasyon sonrasında GA₃ seviyesi daha fazla bulunmuştur. Bu durumun genotiplerin genetik yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Fortune mandarin mutantları içerisinde GA₃ seviyesi en yüksek 3.57 ppm ile hassas olarak belirlenen 5-3-2 genotipinde inokulasyon öncesi bulunurken en düşük GA₃ seviyesi 0.10 ppm ile 6D genotipinde inokulasyon sonrasında elde edilmiştir. Ticari çeşitler içerisinde ise GA₃ seviyesi en yüksek 2.12 ppm ile Okitsu Wase çeşidinde inokulasyon öncesinde, en düşük 0.07 ppm ile Clementine Fina çeşidinde hastalık inokulasyonu öncesinde belirlenmiştir. Fortune mutantlarında genel olarak en yüksek içsel GA₃ seviyesine

patojene hassas olduğu bilinen 3A ve 5-3-5 genotiplerinin sahip olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.4, Çizelge 4.5).

Çizelge 4.4. Fortune mandarin mutantlarının *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel GA₃ seviyelerindeki değişim (ppm)

Genotip	GA ₃ seviyeleri (ppm)		Genotip ortalama	Tolerans durumu
	İnokulasyon öncesi	İnokulasyon sonrası		
7-4-1	0.65 ı*	0.19 m	0.42 ± 0.088 h	Tolerant
1A	3.05 c	0.24 m	1.65 ± 0.531 e	Tolerant
2A	3.20 b	0.50 jk	1.85 ± 0.510 c	Tolerant
1-4-1	0.43 l	0.19 m	0.31 ± 0.048 ı	Tolerant
2B	0.24 m	0.56 j	0.40 ± 0.062 h	Tolerant
6B	0.69 ı	2.70 d	1.70 ± 0.380 d	Tolerant
4-3-6	1.34 g	0.44 kl	0.89 ± 0.171 f	Tolerant
5-3-2	1.21 h	2.69 d	1.95 ± 0.280 b	Tolerant
6D	1.37 g	0.10 n	0.74 ± 0.241 g	Tolerant
3A	3.06 c	1.93 e	2.50 ± 0.214 a	Hassas
5-3-5	3.57 a	1.45 f	2.51 ± 0.401 a	Hassas
Uyg. Ortalama	1.71 ± 0.183 A	1.00 ± 0.147 B		

*Çizelgede farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

LSD (0.05), Genotip: 0.0475, Uygulama: 0.0203, Genotip x Uygulama: 0.0672.

Çizelge 4.5. Ticari çeşitlerin *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel GA₃ seviyelerindeki değişim (ppm)

Genotip	GA ₃ seviyeleri (ppm)		Genotip ortalama	Tolerans durumu
	İnokulasyon öncesi	İnokulasyon sonrası		
Okitsu Wase	2.12 a*	0.27 e	1.20 ± 0.350 a	Tolerant
Clementine Fina	0.07 f	0.64 c	0.36 ± 0.109 c	Tolerant
Minneola tanjelo	0.11 f	0.41 d	0.26 ± 0.059 d	Hassas
Fortune	0.70 c	0.99 b	0.85 ± 0.057 b	Hassas
Uyg. Ortalama	0.75 ± 0.215 A	0.58 ± 0.077 B		

*Çizelgede farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

LSD (0.05), Genotip: 0.0491, Uygulama: 0.0347, Genotip x Uygulama: 0.0695.

Mutasyon sonucu elde edilen genotiplerin genotiplerin beşinde (7-4-1, 2A, 1-4-1, 2B ve 6B) hastalık inokulasyonu sonrasında IAA seviyesi inokulasyon öncesine göre azalış göstermiştir. Buna karşın 1A, 4-3-6, 5-3-2, 6D ve 5-3-5 genotiplerinde inokulasyon sonrası IAA artış göstermiştir. Ticari çeşitlerden de Okitsu Wase, Minneola tanjelo ve Fortune çeşitlerinde inokulasyon sonrası artış görülmüştür. Clementine Fina ve 3A genotiplerinde ise içsel IAA seviyesinde önemli bir değişim olmamıştır. Genotipler arasında en yüksek IAA seviyesi; mutantlar arasında 2.12 ppm ile 5-3-2 genotipinde, ticari çeşitler arasında ise 2.48 ppm ile Minneola tanjelo çeşidinde

inokulasyon sonrasında saptanmıştır. En düşük IAA seviyesi ise 0.04 ppm ile 7-4-1 genotipinde inokulasyon sonrasında ve ticari çeşitler arasında da 0.23 ppm ile Okitsu Wase mandarin çeşidinde belirlenmiştir (Çizelge 4.6, Çizelge 4.7).

Çizelge 4.6. Fortune mandarin mutantlarının *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel IAA seviyelerindeki değişim (ppm)

Genotip	IAA seviyeleri (ppm)		Genotip ortalama	Tolerans durumu
	İnokulasyon öncesi	İnokulasyon sonrası		
7-4-1	0.63 k*	0.04 q	0.34 ± 0.112 ı	Tolerant
1A	0.25 o	0.54 l	0.40 ± 0.056 h	Tolerant
2A	2.05 b	1.50 e	1.78 ± 0.105 a	Tolerant
1-4-1	0.38 n	0.05 q	0.22 ± 0.063 j	Tolerant
2B	1.04 g	0.89 h	0.97 ± 0.031 e	Tolerant
6B	1.99 c	0.21 o	1.10 ± 0.337 d	Tolerant
4-3-6	0.48 m	0.72 j	0.60 ± 0.047 g	Tolerant
5-3-2	1.23 f	2.12 a	1.68 ± 0.169 b	Tolerant
6D	0.14 p	1.48 e	0.81 ± 0.254 f	Tolerant
3A	0.84 hı	0.80 ı	0.82 ± 0.014 f	Hassas
5-3-5	0.56 l	1.85 d	1.21 ± 0.244 c	Hassas
Uyg. Ortalama	0.87 ± 0.095 B	0.93 ± 0.105 A		

*Çizelgede farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).
LSD (0.05), Genotip: 0.0355, Uygulama: 0.0151, Genotip x Uygulama: 0.0502.

Çizelge 4.7. Ticari çeşitlerin *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel IAA seviyelerindeki değişim (ppm)

Genotip	IAA seviyeleri (ppm)		Genotip ortalama	Tolerans durumu
	İnokulasyon öncesi	İnokulasyon sonrası		
Okitsu Wase	0.23 h*	0.60 e	0.42 ± 0.071 c	Tolerant
Clementine Fina	0.48 f	0.40 g	0.44 ± 0.019 c	Tolerant
Minneola tanjelo	0.72 d	2.48 a	1.60 ± 0.333 a	Hassas
Fortune	0.83 c	1.68 b	1.26 ± 0.161 b	Hassas
Uyg. Ortalama	0.57 ± 0.060 B	1.29 ± 0.218 A		

*Çizelgede farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).
LSD (0.05), Genotip: 0.0367, Uygulama: 0.026, Genotip x Uygulama: 0.0519.

Mutant bireylerde zeatin seviyesi 3A genotipi haricinde hastalık inokulasyonu sonrasında, inokulasyon öncesine göre düşüş göstermiştir. Ticari çeşitler içerisinde inokulasyon sonrasında zeatin seviyesi Okitsu Wase ve Clementine Fina çeşitlerinde artarken Minneola tanjelo ve Fortune mandarininde azalmıştır. Mutant bireyler arasında en yüksek zeatin seviyesi inokulasyon öncesi (3.48 ppm) ve inokulasyon sonrası (2.71 ppm) 6D genotipinde; ticari çeşitler içerisinde de Okitsu Wase çeşidinde inokulasyon sonrasında saptanmıştır. En düşük zeatin seviyesi 0.58 ppm ile tolerant olarak belirlenen

4-3-6 genotipinde ve Minneola tanjelo çeşidinde hastalık inokulasyonu sonrasında belirlenmiştir. Genel olarak mutant bireylerde hastalık inokulasyonu sonrasında, hastalık inokulasyonu öncesine göre düşmesine karşın ticari çeşitlerde artış görülmüştür (Çizelge 4.8, Çizelge 4.9).

Çizelge 4.8. Fortune mandarin mutantlarının *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel zeatin (Z) seviyelerindeki değişim (ppm)

Genotip	Zeatin (Z) seviyeleri (ppm)		Genotip ortalama	Tolerans durumu
	İnokulasyon öncesi	İnokulasyon sonrası		
7-4-1	1.06 ı*	0.60 no	0.98 ± 0.144 g	Tolerant
1A	1.36 ı	0.42 p	0.89 ± 0.178 h	Tolerant
2A	1.92 f	0.64 n	1.28 ± 0.242 f	Tolerant
1-4-1	1.10 k	0.22 q	0.66 ± 0.167 ı	Tolerant
2B	1.99 e	1.50 h	1.75 ± 0.093 d	Tolerant
6B	1.85 g	0.99 l	1.42 ± 0.163 e	Tolerant
4-3-6	3.06 b	0.58 o	1.82 ± 0.469 c	Tolerant
5-3-2	1.06 k	0.88 m	0.97 ± 0.036 g	Tolerant
6D	3.48 a	2.71 c	3.10 ± 0.146 a	Tolerant
3A	1.17 j	2.36 d	1.77 ± 0.225 d	Hassas
5-3-5	2.71 c	1.33 ı	2.02 ± 0.261 b	Hassas
Uyg. ortalama	1.91 ± 0.121 A	1.11 ± 0.117 B		

*Çizelgede farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).
LSD (0.05), Genotip: 0.0355, Uygulama: 0.0151, Genotip x Uygulama: 0.0502.

Çizelge 4.9. Ticari çeşitlerin *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel zeatin (Z) seviyelerindeki değişim (ppm)

Genotip	Zeatin (Z) seviyeleri (ppm)		Genotip ortalama	Tolerans durumu
	İnokulasyon öncesi	İnokulasyon sonrası		
Okitsu Wase	2.03 c*	2.63 a	2.33 ± 0.114 a	Tolerant
Clementine Fina	1.68 d	2.30 b	1.99 ± 0.118 b	Tolerant
Minneola tanjelo	0.84 g	0.58 h	0.71 ± 0.050 d	Hassas
Fortune	1.24 e	1.03 f	1.14 ± 0.041 c	Hassas
Uyg. ortalama	1.45 ± 0.116 B	1.64 ± 0.220 A		

*Çizelgede farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$).
LSD (0.05), Genotip: 0.0367, Uygulama: 0.026, Genotip x Uygulama: 0.0519.

Hastalık inokulasyonu öncesi ve sonrasında saptanan ABA seviyeleri arasında diğer hormonlarda olduğu gibi çok değişim göstermemiştir. ABA seviyeleri çoğunlukla 800-900 pikomol/ml arasında değişmiştir. Mutant bireyler bakımından en yüksek ABA seviyesi 910.00 pikomol/ml ile 3A genotipinde hastalık inokulasyonu öncesinde bulunurken en düşük ABA konsantrasyonu ise 792.00 pikomol/ml ile 2B genotipinde hastalık inokulasyonu sonrasında belirlenmiştir. Ticari çeşitler içerisinde ise

en yüksek ABA seviyesi Okitsu Wase ve Minneola tanjelo çeşitlerinde hem hastalık inokulasyonu öncesinde hem de sonrasında belirlenirken en düşük olarak Clementine Fina çeşidinde hastalık inokulasyonu sonrasında belirlenmiştir (Çizelge 4.10, Çizelge 4.11).

Çizelge 4.10. Fortune mandarin mutantlarının *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel ABA seviyelerindeki değişim (pikomol/ml)

Genotip	ABA seviyeleri (pikomol/ml)		Genotip ortalama	Tolerans Durumu
	İnokulasyon öncesi	İnokulasyon sonrası		
7-4-1	901.50 ac	873.50 cg	887.50 ± 6.144 ab	Tolerant
1A	896.00 ad	890.00 ad	893.00 ± 1.494 a	Tolerant
2A	859.00 eh	853.00 fh	856.00 ± 4.328 ce	Tolerant
1-4-1	879.50 bf	896.50 ad	888.00 ± 3.546 ab	Tolerant
2B	904.50 ab	792.00 k	848.25 ± 22.631 e	Tolerant
6B	822.50 ij	883.50 ae	853.00 ± 15.330 de	Tolerant
4-3-6	869.00 dh	870.50 dg	869.75 ± 4.114 bd	Tolerant
5-3-2	891.00 ad	856.00 eh	873.50 ± 9.188 ac	Tolerant
6D	878.00 bf	890.00 ad	884.00 ± 3.677 ab	Tolerant
3A	910.00 a	809.50 jk	859.75 ± 23.310 ce	Hassas
5-3-5	841.50 hi	848.00 gi	844.75 ± 5.032 e	Hassas
Uyg. ortalama	877.50 ± 4.48 A	860.23 ± 5.82 B		

*Çizelgede farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

LSD (0.05), Genotip: 19.828, Uygulama: 8.4548, Genotip x Uygulama: 28.041.

Çizelge 4.11. Ticari çeşitlerin *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni ile inokulasyon öncesi ve sonrasında içsel ABA seviyelerindeki değişim (pikomol/ml)

Genotip	ABA seviyeleri (pikomol/ml)		Genotip ortalama	Tolerans durumu
	İnokulasyon öncesi	İnokulasyon sonrası		
Okitsu Wase	887.00 a	903.00 a	889.00 ± 4.234 a	Tolerant
Clementine Fina	868.00 c	787.50 d	827.75 ± 17.270 b	Tolerant
Minneola tanjelo	897.50 a	880.50 ac	889.00 ± 4.234 a	Hassas
Fortune	890.00 ab	870.00 bc	880.00 ± 5.132 a	Hassas
Uyg. ortalama	888.25 ± 3.39 A	854.63 ± 11.03 B		

*Çizelgede farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

LSD (0.05), Genotip: 15.290, Uygulama: 10.811, Genotip x Uygulama: 21.623.

Genotiplerin içsel hormon seviyelerindeki değişimi belirlemek amacıyla yapılan HPLC ve ELISA çalışmaları sonucunda; çoğu genotiplerde hastalık inokulasyonu sonrasında saptanan GA₃ seviyesi, inokulasyon öncesine göre düşüş gösterirken, çeşitlerde artmıştır. IAA seviyesi bazı genotiplerde inokulasyon sonrası azalırken, bazı genotipler ve çeşitlerde ise artmıştır. Genotiplerdeki zeatin seviyesi hastalık

inokulasyonu sonrasında düşüş göstermiştir. Ancak, çeşitlerde zeatin seviyesi bazılarında artmış, bazılarında ise azalmıştır. İnokulasyondan sonra ve önce saptanan ABA seviyelerinde ise çok fazla değişme olmamıştır. Genel olarak; ABA, GA₃ ve zeatin seviyelerinin inokulasyon öncesi daha yüksek iken inokulasyondan sonra azaldığı ve IAA seviyesinin ise inokulasyon sonrasında, inokulasyon öncesine göre artış gösterdiği belirlenmiştir. *Arabidopsis* bitkisinde *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ile inokulasyondan 48-96 saat sonra kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında IAA seviyesinde artış görülmüştür (Schmelz vd. 2004). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* saldırısına karşı bir salisilik asit yoksunu NahG hattı ve etilene karşı etkisiz *etr1* ve *etr2* mutantlarında fitohormon interaksiyonunun araştırıldığı çalışmada; test edilen her üç materyalde de hem salisilik asit hem de etilenden bağımsız olarak indol asetik asit birikimi ortaya çıkmıştır (O'Donnell vd. 2003). Farklı patojenlerle enfeksiyon süresince tolerant bitkilere göre hassas çeltik bitkilerinde daha fazla IAA biriktirdiği bildirilmiştir (Ding vd. 2008; Fu vd. 2011). Bu durum Fu ve Wang (2011) tarafından da bildirildiği üzere patojen mikroorganizmaların da IAA üretebilmeleri ile açıklanabilir.

Gibberellik asit genellikle bitki savunmasında negatif bir role sahip olarak görülmektedir (Robert-Seilaniantz vd. 2007). Hastalıklarla enfekte olmuş bitkilerde gibberellin seviyelerinde azalma olduğu bulunmuştur (Zhu vd. 2005). Çeltikte, dışarıdan uygulanan GA'nın hemibiyotik çeltik patojenleri *Magnaporthe oryzae* ve *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*'ye karşı direnci azalttığı yönünde sonuçlar elde edilmiştir (Yang vd. 2008; Qin vd. 2013). GA'nın aynı zamanda nekrotrofik çeltik kök çürüklüğü patojeni *Pythium graminicola* için çeltik bağışıklığına olumlu etkide bulunabileceği ve bu nedenle, *Arabidopsis*, arpa ve buğdaydaki durumun aksine, çeltikte GA uyarımının nekrotroflara karşı direnci ve biyotroplara karşı hassasiyeti arttırdığı bildirilmiştir (De Vleeschauwer vd. 2012).

Saprofitik, patojenik veya simbiyotik fungal türlerin birçoğunun sitokinin ürettiği (Cooper ve Ashby 1998; Murphy vd. 1997), özellikle besin alımı ve hifsel gelişme olmak üzere çeşitli fizyolojik süreçlerde sitokininin önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Le John ve Stevenson 1973). Sitokininlerin virüslere karşı bitki direncinde rol oynayabileceğini öne süren çalışmalar bulunmaktadır (Choi vd. 2011; Masuta vd. 1995). Sitokininlerin bitkilerde salisilik asit uyarım ve biyosentezini içeren genlerin transkripsiyonunu artırdığı ve salisilik asit uyarım pathwayi üzerinde sinerjistik olarak hareket ettiği gösterilmiştir (Galis vd. 2004). Argueso vd. (2012), salisilik asit ile ilişkili olarak sitokininlerin farklı seviyelerinde dayanıklılığın belirlenmesinde yardımcı olabilecek bir bitki savunma modeli önermişlerdir.

Uzun zamandır bilinmekte olan ABA'nın fungal hastalıklara karşı toleranslıkta negatif role sahip olduğu bildirilmiş (Ward vd. 1989) olmasına karşın hastalıklara karşı toleranslıkta pozitif etkileri konusunda da çalışmalar bulunmaktadır. ABA'nın fungal enfeksiyonlara karşı düzenleyici rolü için ilk bulgulardan birisi ABA yoksunu domates mutantlarının nekrotropik fungus *Botrytis cinerea* etmenine karşı dayanıklılığı ile bildirilmiştir (Audenaert vd. 2002). *Phytophthora* etmeni ile inokule edilen soya fasulyesinde ABA konsantrasyonunda azalma meydana gelirken (Cahill ve Ward 1989) tütünde viral enfeksiyonlar ABA konsantrasyonunda artış meydana geldiği saptanmıştır (Whenham vd. 1986). Çeltik bitkilerinin *Magnaporthe grisea* etmenine karşı hassasiyetlerinin ABA uygulaması ve takip eden soğuk stresi ile arttığı bildirilmesine

(Koga vd. 2004) karşılık viral enfeksiyon görülen bitkilerde ABA konsantrasyonunda artış ve ABA uygulamaları ile virüs toleransının arttığına (Whenham vd. 1986; Fraser 1982) ve *Arabidopsis* bitkisinde *Leptosphaeria maculans* etmenine karşı savunma mekanizmasında pozitif role sahip olduğuna dair bulgular bulunmaktadır (Kaliff vd. 2007).

Çalışmada, genotipler incelendiğinde de bazı genotiplerde *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeninin inokulasyonu sonucu içsel hormon seviyelerinde bir yükseliş olduğu belirlenmiştir. Bu şekilde içsel hormon seviyelerinde düşüş ve yükseliş görülen genotiplerin hem tolerant hem de hassas genotiplerden oluştuğu görülmüş ve bu nedenle tolerantlık durumu ile *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni arasındaki içsel hormon seviyelerinin ilişkisi tam olarak ortaya konulamamıştır. Kohmoto vd. (1993) ve Otani vd. (1995), *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeninin neden olduğu Alternaria kahverengi leke hastalığının mandarin patotipi; ACT-I toksini nedeniyle konukçu bitkinin hücrelerinin zararlanması oldukça hızlıdır ve hücre ölümü için gerekli zaman oldukça kısadır. ACT-I toksininin bu hızlı etkisinden ve genotiplerin genetik özelliklerindeki farklılıktan kaynaklı olarak içsel hormon seviyelerindeki değişime ilişkin farklı sonuçlar alındığı tahmin edilmektedir.

5. SONUÇLAR

Alternaria kahverengi leke hastalığına karşı tolerant genotiplerin elde edilmesi amacıyla Fortune mandarin çeşidine Türkiye Atom Enerjisi Kurumunda ⁶⁰Co kaynağından 50 ve 60 gray dozlarında akut gamma ışını uygulaması yapılmıştır. Işın uygulaması neticesinde aşılama ile M₁V₃ generasyonuna getirilen 111 adet mutant birey ile ticari bazı mandarin çeşitlerinin *Alternaria* kahverengi leke hastalığına hassasiyetleri ortaya konmuştur. Qi vd. (2008), mutasyon çalışmalarında M₁V₃ aşamasında mutasyonun ve çekirdeksizliğin kalıcı duruma geldiğini bildirmişlerdir. Mutant bireyler içerisinde % 91,89'u bu hastalığa karşı hassas olarak belirlenmiştir. Hem *in vitro* hem de *in vivo* testlemeler sonucunda, patojenik fungus olan *Alternaria alternata* pv. *citri* etmenine karşı 111 mutant birey arasından 9 adet mutant bireyin toleran olduğu saptanmıştır. Testlemeler neticesinde literatür ile uyumlu olarak Clementine Fina ve Okitsu Wase mandarin çeşitleri etmene karşı toleran olarak bulunurken Minneola tanjelo ve Fortune mandarin çeşitleri ise hassas olarak bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan *Alternaria alternata* pv. *citri* etmenine ait izolat Adana ili ticari Minneola tanjelo bahçelerinden elde edilmiş olup *Alternaria* kahverengi leke hastalığı etmeni olup olmadığını belirlemek amacıyla sekans analizine gönderilmiş ve sekans analizi sonucunda ITS1 primerine göre % 99 oranında AHS-467-6 izolatı ile eşleşme sağladığı belirlenerek izolatın *Alternaria alternata* f.sp. *citri* etmeni ile eşleştiği belirlenmiştir.

Alternaria alternata f.sp. *citri* etmene karşı genotiplerin hassasiyetlerinin belirlenmesi çalışmalarında *in vitro* testlemelerinde *in vivo* değerlendirmelerine göre hastalık şiddetinin daha fazla olduğu görülmüştür. Hastalık şiddeti daha az olarak görülmesine rağmen *in vivo* değerlendirmelerde de hastalık belirtileri net bir şekilde görülmüştür.

Hem Fortune mutantlarının hem de ticari mandarin çeşitlerinin hastalık inokulasyonu öncesinde ve sonrasında içsel GA₃, IAA, Z ve ABA seviyelerindeki değişimi belirlemek amacıyla HPLC ve DAS-ELISA çalışmaları yapılmıştır. Genel olarak mutant bireylerin GA₃, Z ve ABA seviyelerinin hastalık inokulasyonu sonrasında, öncesine göre düşüş göstermesine karşın IAA seviyesinin ise artış gösterdiği saptanmıştır. Ticari mandarin çeşitleri arasında ise hastalık inokulasyonu öncesine göre hastalık inokulasyonu sonrasında IAA ve Z seviyelerinin daha yüksek olduğu, buna karşın GA₃ ve ABA seviyeleri ise daha düşük olarak saptanmıştır.

Projede planlandığı şekilde, *Alternaria* kahverengi leke hastalığına karşı mutasyon yoluyla toleran genotipler elde edilmiştir. Bu doğrultuda turunçgillerde *Alternaria* kahverengi leke hastalığına toleranlık tek bir resesif allel gen tarafından kontrol edilmesi nedeniyle mutasyon ıslahının melezleme ıslahına göre bu hastalığa karşı toleran birey elde edilmesi konusunda daha etkin bir yöntem olduğu söylenebilir. Çalışma sonucunda, elde edilen toleran genotiplerin her biri çeşit adayı olup bahçe performanslarının değerlendirilmesi sonucunda ümitvar bulunanların yeni çeşit olarak tescilleri söz konusu olabilecektir.

Toleran ve hassas olduğu belirlenen genotiplerde *Alternaria alternata* f.sp. *citri* izolatının inokulasyonu öncesi ve sonrasında içsel hormon seviyelerindeki değişim ise

net olarak ortaya konulamamıştır. Bu duruma genotiplerin genetik özelliklerindeki farklılıktan kaynaklı olarak içsel hormon seviyelerindeki değişime ilişkin farklı sonuçlar alındığı tahmin edilmektedir. Bu kapsamda *Alternaria* kahverengi leke hastalığına karşı dayanıklılıkta içsel hormonların değişimini net olarak belirleyebilmek amacıyla daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği söylenebilir.



6. KAYNAKLAR

- Adie, B.A. Perez-Perez, J. Perez-Perez, M.M. Godoy, M. Sanchez-Serrano, J.J. Schmelz, E.A. and Solano, R. 2007. ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 1665–1681.
- Ajiro, N. Miyamoto, Y. Masunaka, A. Tsuge, T. Yamamoto, M. Ohtani, K. et al. 2010. Role of the host-selective ACT-toxins synthesis gene ACTTS2 encoding anenoyl-reductase in pathogenicity of the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. *Phytopathology*, 100:120–126.
- Akimitsu, K. Peever, T.L. and Timmer, L.W. 2003. Molecular, ecological and evolutionary approaches to understanding *Alternaria* diseases of citrus. *Mol. Plant Pathol.* 4:435–446.
- Akira, S. Nakazawa, N. and Suzukia, M. 2001. Selection of mutants resistant to *Alternaria* blotch from in vitro-cultured apple shoots irradiated with X- and γ -rays. *Journal of Plant Physiology*, 158 (3): 391-400.
- Alazem, M. Lin, K.Y. and Lin, N.S. 2014. The abscisic acid pathway has multifaceted effects on the accumulation of bamboo mosaic virus. *Mol. Plant–Microbe Interact.* 27: 177–189.
- Alazem, M. and Lin, K.Y. 2015. Roles of plant hormones in the regulation of host–virus interactions. *Molecular Plant Pathology*, 16 (5): 529–540.
- Aleza, P. Juárez, J. Ollitrault, P. and Navarro, L. 2009. Production of tetraploid plants of non apomictic citrus genotypes. *Plant Cell Rep.* 28(12):1837-1846.
- Aloni, R. Langhans, M. Aloni, E. Dreieicher, E. and Ullrich, C.I. 2005. Root-synthesized cytokinin in *Arabidopsis* is distributed in the shoot by the transpiration stream. *J. Exp. Bot.* 56: 1535–1544.
- Andrade, O. Latorre, B.A. and Escaffi, O. 1981. Tomato mosaic-virus associated with shoestring symptom in Chilean tomatoes. *Plant Dis.* 65: 761–762.
- Anonim 1: Bitkisel üretim istatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr> [Son erişim tarihi: 10.01.2019].
- Anonim 2: Yaş meyve ve sebze araştırma raporları. <http://www.akib.org.tr> [Son erişim tarihi: 10.01.2019].
- Anonymous 1: Food and agriculture data. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Son erişim tarihi: 10.01.2019].
- Anonymous 2: Mutant variety database. <http://www.mvd.iaea.org> [Son erişim tarihi: 10.01.2019].
- Argueso, C.T. Ferreira, F.J. Eppe, P. To, J.P. Hutchison, C.E. Schaller, G.E. et al. 2012. Two-component elements mediate interactions between cytokinin and salicylic acid in plant immunity. *PLOS Genet.* 8: e1002448.
- Asselbergh, B. De Vleeschauwer, D. and Höfte, M. 2008. Global switches and fine-tuning-ABA modulates plant pathogen defense. *Mol. Plant–Microbe Interact.* 21: 709–719.

- Atkinson, N.J. and Urwin, P.E. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Exp. Bot.* 63: 3523–3543.
- Audenaert, K. DeMeyer, G.B. and Hofte, M.M. 2002. Abscissic acid determines basal susceptibility of tomato to *Botrytis cinerea* and suppresses salicylic acid-dependent signaling mechanisms. *Plant Physiol.* 128: 491–501.
- Azevedo, F.A. Polydoro, D.A. Bastianel, M. Kupper, K.C. Stuart, R.M. Costa, F.P. and Pio, R.M. 2010. Response of different tangerine varieties and hybrids to in vitro and in vivo inoculation of *Alternaria alternata*. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32: 1–8 (abstract).
- Baktır, İ. 2010. Bitki Büyüme Düzenleyicileri, Özellikleri ve Tarımda Kullanımları. Hasat Yayıncılık. 110 s.
- Barciszewski, J. Rattan, S.I.S. Siboska, G. and Clark, B.F.C. 1999. Kinetin - 45 years on. *Plant Sci.* 148: 37–45.
- Bari, R. and Jones, J. 2009. Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Mol. Biol.* 69: 473–488.
- Barker, S. and Tagu, D. 2000. The roles of auxins and cytokinins in mycorrhizal symbioses. *Journal of Plant Growth Regul.* 19: 144–154.
- Barrett, H.C. 1974. Colchicine-induced polyploidy in citrus. *Botanical Gazette*, 135(1): 29–41.
- Barry, G.H. Gmitter, F.G.Jr. Chen, C. Roose, M.L. Federici, C.T. McCollum, G.T. 2015. Investigating the parentage of Orri and Fortune mandarin hybrids. *Acta Hort.* 1065:449–456.
- Battal, P. and Tileklioğlu, B. 2001. The Effects of Different Mineral Nutrients on the levels of Cytokinins in Maize (*Zea mays* L.). *Turkish Journal of Botany*, 25:123–130.
- Beardsell, M.F. and Cohen, D. 1975. Relationships between leaf water status, abscissic acid levels, and stomatal resistance in maize and sorghum. *Plant Physiol.* 56: 207–212.
- Belasque Jr, J. Latado, R.R. and Tulmann Neto, A. 2009. Resistance of mutants sweet orange induced by gamma-rays to citrus canker (*X. citri subsp. citri*) under artificial inoculation. In: Shu, Q.Y. (Ed). *Induced Mutations in the Genomics Era*, FAO/IAEA, pp: 321–324.
- Bella, P. Guarino, C.R. and Catara, A. 2001. Severe infections of *Alternaria* spp. on a mandarin hybrid. *Journal of Plant Pathology*, 83: 231.
- Bender, C.L. Alarcon-Chaidez, F. and Gross, D.C. 1999. *Pseudomonas syringae* phytotoxins: mode of action, regulation, and biosynthesis by peptide and polyketide synthetases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63: 266.
- Benjamins, R. and Scheres, B. 2008. Auxin: the looping star in plant development. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 443–465.
- Bermejo, A. Pardo, J. and Cano, A. 2012. Murcott seedless: influence of gamma irradiation on citrus production and fruit quality. *Span. Journal of Agric. Res.* 3:768–777.

- Bigeard, J. Colcombet, J. and Hirt, H. 2015. Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). *Mol. Plant*, 8: 521–539.
- Bottini, R. Cassán, F. and Piccoli, P. 2004. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65: 497–503.
- Breto, M.P. Ruiz, C., Pina, J.A. and Asins, M.J. 2001. The diversification of *Citrus clementina* Hort. ex Tan. a vegetatively propagated crop species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 21: 285–293.
- Brian, P. and Elson, G. 1954. The plant-growth-promoting properties of gibberellic acid, a metabolic product of the fungus *Gibberella fujikuroi*. *Journal of Sci. Food Agric.* 5: 602–612.
- Broertjes, C. and Van Harten, A.M. 1988. Applied mutation breeding for vegetatively propagated crops. Elsevier, Volume 12, 1st Edition.
- Cahill, D.M. and Ward, E.W.B. 1989. Rapid localized changes in abscisic acid concentrations in soybean in interactions with *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* or after treatment with elicitors. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 35: 4583–4593.
- Calabrese, F. De Michele, A. and Barone, F. 2000. New Seedless Lemon Cultivars for Sicily. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, IX. Congress, Vol.1, p.130.
- Cameron, J.W. and Frost, N.B. 1968. Genetic, Breeding and Nucellar Embryony. In.:W.Reuther, L.D. Batchelor And H.J. Webber. *The Citrus Industry*. Revised Ed., Vol:II, Chapter: 5, University California Pres. Berkeley. p:325-379.
- Cameron, J.W. and Soost, P.K. 1969. Citrus. *Outlines Perennial Crop Breeding in the Tropics*. In: Ferwed, E.P. and Wilt, F. (Eds). p:129-162.
- Canıhoş, Y. Erkıılıç, A. and Timmer, L.W. 1997. First report of *Alternaria* brown spot of Minneola tangelo in Turkey. *Plant Disease*, 81: 1214.
- Canıhoş, Y. ve Erkıılıç, A., 1998. Turunçgil Çeşitlerinin Kahverengi Leke Hastalığı Etmeni *Alternaria alternata* f.sp. *citri* ve Toksinlerine Karşı Duyarlılıkları. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 13(4): 59-68.
- Canıhoş, Y. Peever, T.L. and Timmer, L.W. 1999. Temperature, leaf wetness, and isolate effects on infection of Minneola tangelo leaves by *Alternaria* sp. *Plant Disease*, 83: 429–433.
- Cao, F.Y. Yoshioka, K. and Desveaux, D. 2011. The roles of ABA in plant-pathogen interactions. *Journal of Plant Res.* 124:489–499.
- Carimi, F. Zottini, M. Formentin, E. Terzi, M. and Lo Schiavo, F. 2003. Cytokinins: new apoptotic inducers in plants. *Planta*, 216: 413–421.
- Castillo-Lizardo, M.G. Aragon, I.M. Carvajal, V. Matas, I.M. Perez-Bueno, M.L. Gallegos, M.T. Baron, M. and Ramos, C. 2015. Contribution of the non-effector members of the HrpL regulon, *iaaL* and *matE*, to the virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 in tomato plants. *BMC Microbiol.* 15: 165.

- Castro Caicedo, B.L. Leguizamon, J.E. and Lopez, J.A. 1994. La mancha foliar de los cítricos em la zona cafetera. Avances Técnicos Cenicafe, 198: 1–8.
- Chanclud, E. and Morel, J.B. 2016. Plant hormones: a fungal point of view. Molecular Plant Pathology, 17(8) :1289–1297.
- Chandler, J.W. and Werr, W. 2015. Cytokinin-auxin crosstalk in cell type specification. Trends Plant Sci. 20: 291–300.
- Chapot, H. 1975. The *Citrus* plant. In: Hafliger, E. (ed) Citrus, CIBA-GEIGY agrochemicals, technical monograph, No 4. Basle, Switzerland, pp 6–13.
- Chen, L.G. Hu, Y.Q. Chen, K.L. Zhou, J.X. and Zhou, Y.B. 1991. A New, Late Maturing Mandarin Cultivar "Wanmi". Journal of Fruit Science. (Horticultural Abstracts 1992), Volume:62:5.
- Chen, Z. Agnew, J.L. Cohen, J.D. He, P. Shan, L. Sheen, J. and Kunkel, B.N. 2007. *Pseudomonas syringae* type III effector AvrRpt2 alters *Arabidopsis thaliana* auxin physiology. Proc. Natl. Acad. Sci. 104:20131–20136.
- Cheng, W.H. Chiang, M.H. Hwang, S.G. and Lin, P.C. 2009. Antagonism between abscisic acid and ethylene in *Arabidopsis* acts in parallel with the reciprocal regulation of their metabolism and signaling pathways. Plant Mol. Biol. 71: 61–80.
- Choi, J. Choi, D. Lee, S. Ryu, C.M. and Hwang, I. 2011. Cytokinins and plant immunity: old foes or new friends? Trends Plant Sci. 16: 388–394.
- Clarke, S.F. Burritt, D.J. and Guy, P.L. 1998. Influence of plant hormones on virüs replication and pathogenesis-related proteins in *Phaseolus vulgaris* L. infected with white clover mosaic potexvirus. Physiol. Mol. Plant Pathol. 53: 195–207.
- Cooper, S.J. and Ashby, A.M. 1998. Comparison of cytokinin and cytokinin-O-glucoside cleaving beta-glucosidase production in vitro by *Venturia inaequalis* and other phytopathogenic fungi with differing modes of nutrition in planta. Physiol. Mol. Plant Pathol. 53: 61–72.
- Crespi, M. Messens, E. Caplan, A.B. van Montagu, M. and Desomer, J. 1992. Fasciation induction by the phytopathogen *Rhodococcus fascians* depends upon a linear plasmid encoding a cytokinin synthase gene. The EMBO Journal, 11: 795–804.
- Crowley, J.R. 2011. A Molecular Genetic Approach to Evaluate a Novel Seedless Phenotype Found in Tango, a New Variety of Mandarin Developed From Gamma-Irradiated W. Murcott. Doctor of Philosophy Thesis in Genetics, Genomics and Bioinformatics, University of California, Riverside, 179p.
- Cui, F. Wu, S. Sun, W. Coaker, G. Kunkel, B. He, P. and Shan, L. 2013. The *Pseudomonas syringae* type III effector AvrRpt2 promotes pathogen virulence via stimulating *Arabidopsis* auxin/indole acetic acid protein turnover. Plant Physiol. 162:1018–1029.
- Dalkılıç, Z. Timmer, L.W. and Gmitter Jr, F.G. 2005. Linkage of an *Alternaria* disease resistance gene in mandarin hybrids with RAPD fragments. Journal of Amer. Soc. Hort. Sci. 130 (2): 191–195.

- Dangl, J.L. Horvath, D.M. and Staskawicz, B.J. 2013. Pivoting the plant immune system from dissection to deployment. *Science*, 341:746–751.
- Davies, F.S. and Albrigo, L.G. 1994. *Citrus*. CAB International, Crop Production Science in Horticulture 2, 254 p.
- De Bruyne, L. Höfte, M. and De Vleeschauwer, D. 2014. Connecting Growth and Defense: The Emerging Roles of Brassinosteroids and Gibberellins in Plant Innate Immunity. *Molecular Plant*, 7: 943–959.
- de Torres-Zabala, M. Truman, W. Bennett, M.H. Lafforgue, G. Mansfield, J.W. Rodriguez Egea, P. Bogre, L. and Grant, M. 2007. *Pseudomonas syringae* pv. tomato hijacks the *Arabidopsis* abscisic acid signalling pathway to cause disease. *The EMBO Journal*, 26: 1434–1443.
- De Vleeschauwer, D. Yang, Y. Cruz, C.V. and Höfte, M. 2010. Absciscic acid induced resistance against the brown spot pathogen *Cochliobolus miyabeanus* in rice involves MAP kinase-mediated repression of ethylene signaling. *Plant Physiol.* 152: 2036–2052.
- De Vleeschauwer, D. Van Buyten, E. Satoh, K. Balidion, J. Mauleon, R. Choi, I.R. Vera-Cruz, C. Kikuchi, S. and Höfte, M. 2012. Brassinosteroids antagonize gibberellin- and salicylatemediated root immunity in rice. *Plant Physiol.* 158: 1833–1846.
- De Vleeschauwer, D. Gheysen, G. and Höfte, M. 2013. Hormone defense networking in rice: tales from a different world. *Trends Plant Sci.* 18: 555–565.
- De Vleeschauwer, D. Xu, J. and Höfte, M. 2014. Making sense of hormone mediated defense networking: from rice to *Arabidopsis*. *Front. Plant Sci.* 5: 1–15.
- De Vos, M. Van Oosten, V.R. Van Poecke, R.M. Van Pelt, J.A. Pozo, M.J. Mueller, M.J. Buchala, A.J. Metraux, J.P. Van Loon, L.C. Dicke, M. and Pieterse, C.M. 2005. Signal signature and transcriptome changes of *Arabidopsis* during pathogen and insect attack. *Mol. Plant-Microbe Int.* 18: 923–937.
- Dean, R. Van Kan, J.A.L. Pretorius, Z.A. Hammond-Kosack, K.E. Di Pietro, A. Spanu, P.D. Rudd, J.J. Dickman, M. Kahmann, R. Ellis, J. and Foster, G.D. 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13: 414–430.
- Debeaujon, I. and Koornneef, M. 2000. Gibberellin requirement for *Arabidopsis* seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid. *Plant Physiol.* 122: 415–424.
- Denance, N. Sanchez-Vallet, A. Goffner, D. and Molina, A. 2013. Disease resistance or growth: the role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs. *Front. Plant Sci.* 4: 1–12.
- Deng, Z.N. Gentile, A. Nicolosi, E. Domina, F. Vardi, A. and Tribulato, E. 1995. Identification of in vivo and in vitro lemon mutants by RAPD markers. *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 70:117–126.
- Depuydt, S. Trenkamp, S. Fernie, A.R. Elftieh, S. Renou, J.P. Vuylsteke, M. Holsters, M. and Vereecke, D. 2009. An integrated genomics approach to define niche establishment by *Rhodococcus fascians*. *Plant Physiol.* 149:1366–1386.

- Depuydt, S. and Hardtke, C.S. 2011. Hormone signalling crosstalk in plant growth regulation. *Curr. Biol.* 21:R365–R373.
- Ding, X. Cao, Y. Huang, L. Zhao, J. Xu, C. Li, X. et al. 2008. Activation of the indole-3-acetic acid amido synthetase GH3-8 suppresses expansin expression and promotes salicylate- and jasmonate-independent basal immunity in rice. *Plant Cell*, (20); 228–240.
- Dodds, P.N. and Rathjen, J.P. 2010. Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nat. Rev. Genet.* 11: 539–548.
- Donini, B. 1982. Mutagenesis applied to improve fruit trees: techniques, methods and evaluation or radiation induced mutations. *Induced mutations in vegetatively propagated plants*. IAEA, Vienna, pp. 29–36.
- Donini, B. 1992. *Mutagenesis Applied for the Improvement of Vegetatively Propagated Plants*. IAEA. Joint FAO/IAEA Programme IAEA Laboratories-Serbersdorf, Austria. Plant Breeding Unit.
- Dorffling, K. Petersen, W. Sprecher, E. Urbasch, I. Hanssen, H.P. 1984. Absciscic-acid in phytopathogenic fungi of the genera botrytis, ceratocystis, fusarium, and rhizoctonia. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 39: 683–684.
- Dou, D. and Zhou, J.M. 2012. Phytopathogen effectors subverting host immunity: different foes, similar battleground. *Cell Host Microbe*, 12:484–495.
- Du Plooy, C.P. Steenekamp. P.J. Vincent, A.P. Human, C.F. and Koekemoer, P.J.J. 1992. Mutation breeding strategy for citrus in South Africa. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 1: 110 – 112.
- Dutt, M. Vasconcellos, M. Song, K.J. Gmitter Jr, F.G. and Grosser, J.W. 2010. In vitro production of autotetraploid Ponkan mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) using cell suspension cultures. *Euphytica*, 173 (2): 235-242.
- Düzgüneş, O. 1963. İstatistik Prensipleri ve Metodları. E.Ü. Matbaası, İzmir, 378s.
- Ellis, M.B. 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew.
- Ellis, E.B. 1976. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute: 507.
- Erez, M.E. 2009. *Lepidium draba* L., *Acroptilon repens* (L.) DC., *Thymus kotchyanus* Boiss&Hohen. var. *kotchyanus*, *Inula peacockiana* (Aitch.&Hemsl.) Koravin, *Salvia kronenburgei* Rech. f. ve *Phlomis armeniaca* Wild. Bitkilerinin Allelopatik Potansiyellerinin Araştırılması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Tezi, 150 s.
- Erkılıç, A. Canihoş, Y. Biçici, M. Pala, H. ve Canihoş, E. 1999. Çukurova’da *Minneola Tangelolarda Alternaria Kahverengi Leke (Alternaria alternata f.sp. citri)* Hastalığının Şiddetinin Belirlenmesi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(3): 643-647.
- Evangelisti, E. Govetto, B. Minet-Kebdani, N. Kuhn, M.L. Attard, A. Ponchet, M. Panabieres, F. and Gourgues, M. 2013. The *Phytophthora parasitica* RXLR

- effector penetration-specific effector 1 favours *Arabidopsis thaliana* infection by interfering with auxin physiology. *New Phytol.* 199:476–489.
- Fan, J. Hill, L. Crooks, C. Doerner, P. and Lamb, C. 2009. Absciscic acid has a key role in modulating diverse plant–pathogen interactions. *Plant Physiol.* 150: 1750–1761.
- Fosket, D.E. and Torrey, J.G. 1969. Hormonal control of cell proliferation and xylem differentiation in cultured tissues of *Glycine max* var. Biloxi. *Plant Physiol.* 44: 871–880.
- Fraser, R.S.S. 1982. Are ‘pathogenesis-related’ proteins involved in acquired systemic resistance of tobacco plants to tobacco mosaic virus? *Journal of Gen. Virol.* 58: 305–313.
- Fraser, R.S.S. and Whenham, R.J. 1989. Absciscic-acid metabolism in tomato plants infected with tobacco mosaic-virus—relationships with growth, symptoms and the Tm-1 gene for TMV resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 34: 215–226.
- Froneman, I. Breedts, J. Koekemoer, H.J. and Van Rensburg, P.J.J. 1996. Producing Seedless Citrus Cultivars with Gamma Irradiation. *Proc. Int. Citriculture*, 159–163.
- Fu, J. and Wang, S. 2011. Insights into auxin signaling in plant–pathogen interactions. *Front. Plant Sci.* 2:74.
- Fu, Z.Q. Yan, S. Saleh, A. Wang, W. Ruble, J. Oka, N. Mohan, R. Spoel, S.H. Tada, Y. Zheng, N. and Dong, X. 2012. NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants, *Nature*, 486: 228–232.
- Galis, I. Smith, J.L. and Jameson, P.E. 2004. Salicylic acid-, but not cytokinin-induced, resistance to WCLMV is associated with increased expression of SA-dependent resistance genes in *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Plant Physiol.* 161: 459–466.
- Gardner, J.M. Kono, Y. and Chandler, J.L. 1986. Biosay and host-selectivity of *Alternaria citri* toxins affecting rouge lemon and mandarins. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 29: 293–304.
- Ghassemian, M. Nambara, E. Cutler, S. Kawaide, H. Kamiya, Y. and McCourt, P. 2000. Regulation of absciscic acid signaling by the ethylene response pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 12: 1117–1126.
- Glass, N.L. and Kosuge, T. 1988. Role of indoleacetic acid lysine synthetase in regulation of indoleacetic-acid pool size and virulence of *Pseudomonas-syringae subsp savastanoi*. *Journal of Bacteriol.* 170: 2367–2373.
- Glazebrook, J. 2005. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43:205–27.
- Glickmann, E. Gardan, L. Jacquet, S. Hussain, S. Elasri, M. Petit, A. and Dessaux, Y. 1998. Auxin production is a common feature of most pathovars of *Pseudomonas syringae*. *Mol. Plant-Microbe Int.* 11: 156–162.
- Gmitter, F.G. and Ling, X.B. 1991. Embryogenesis *in vitro* and nonchimeric tetraploid plant recovery from undeveloped *Citrus* ovules treated with colchicine. *Journal of Amer. Soc. Hort. Sci.* 116: 317–321.

- Goes, A. de, Montes de Ocu, A.G. and Reis, R.F. 2001. Ocorrência de las mancha de *Alternaria* en mandarina ‘Dancy’ en el estado de Rio de Janeiro. Fitopatologia Brasileira, 26:386.
- Goldenberg, L. Yaniv, Y. Porat, R. and Carmi, N. 2014. Effects of gamma-irradiation mutagenesis for induction of seedlessness, on the quality of mandarin fruit. Food Nutr. Sci. 5:943–952.
- Gonzaga, D.L. Latado, L.L. Tulmann Neto, A. and Pio, R.M. 2011. Radiossensibilidade de dois tipos de propagulos de citros. Bragantia, 70 (1): 13-18.
- Greenboim-Wainberg, Y. Maymon, I. Borochoy, R. Alvarez, J. Olszewski, N. Ori, N. et al. 2005. Cross talk between gibberellin and cytokinin: the *Arabidopsis* GA response inhibitor SPINDLY plays a positive role in cytokinin signaling. Plant Cell, 17:92–102.
- Gururani, M.A. Venkatesh, J. Upadhyaya, C. Nookaraju, A. Pandey, S.K. and Park, S.W. 2012. Plant disease resistance genes: Current status and future directions. Physiological and Molecular Plant Pathology, 78: 51-65.
- Gust, A.A. Willmann, R. Desaki, Y. Grabherr, H.M. and Nürnberger, T. 2012. Plant LysM proteins: modules mediating symbiosis and immunity. Trends Plant Sci. 17: 495–502.
- Gülşen, O. Uzun, A. Pala, H. Caniçoş, E. and Kafa, G. 2007. Development of seedless and Mal Secco tolerant mutant lemons through budwood irradiation, Scientia Horticulturae, 112: 184–190.
- Hann, D.R. Dominguez-Ferreras, A. Motyka, V. Dobrev, P.I. Schornack, S. Jehle, A. and Felix, G. 2014. Chinchilla D, Rathjen JP, Boller T. The Pseudomonas type III effector HopQ1 activates cytokinin signaling and interferes with plant innate immunity. New Phytol. 201:585–598.
- Hauvermale, A.L. Ariizumi, T. and Steber, C.M. 2012. Gibberellin signaling: a theme and variations on DELLA repression. Plant Physiol. 160: 83–92.
- Hearn, C.J. 1984. Development of seedless orange and grapefruit cultivars through seed irradiation. Journal of the American Society for Horticulture Sci. 109:270-273.
- Hearn, C.J. 1986. Development of seedless grapefruit cultivars through budwood irradiation. Journal of the American Society for Horticulture Sci. 111:304-306.
- Hensz, R.A. 1960. Effects of X-rays and thermal neutrons on citrus propagating material. Journal of the Rio Grande Valley Horticultural Society, 14: 21-25.
- Hensz, R.A. 1971. ‘Star Ruby’, a new deep-red fleshed grapefruit variety with distinct tree characteristics. Journal of the Rio Grande Valley Horticulture Society, 25:54-58.
- Hensz, R.A. 1977. Mutation breeding and the development of the ‘Star Ruby’ grapefruit. Proc. Int. Soc. Citriculture, 2: 582-585.
- Hensz, R.A. 1985. “Rio Red” A New Grapefruit With A Deep-Red Color. Journal of Rio Grande Valley Hort. Soc. 38:75.
- Herrera, L. 1992. La mancha parda de los cítricos en Cuba. Levante Agrícola, 31: 49–50.

- Hirsch, A.M. Fang, Y. Asad, S. and Kapulnik, Y. 1997. The role of phytohormones in plant-microbe symbioses. *Plant Soil*, 194: 171–184.
- Hopkins, W.G. and Hüner, N.P.A. 2004. *Introduction of Plant Physiology*, 3.rd Edition. John Wiley and Sons. Inc.
- Hossain, M.A. Munemasa, S. Uraji, M. Nakamura, Y. Mori, I.C. and Murata, Y. 2011. Involvement of endogenous abscisic acid in methyl jasmonate-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 156: 430–438.
- Huang, J.C. Xiao, Y. Zhao, C.X. et al. 2003. Induction of superior seedless mutation of *C. grandis* Osbeck cv. Sshatianyou by irradiation. *Acta Agric. Nucleatae Sin.* 17: 171–174.
- Huot, B. Yao, J. Montgomery, B.L. and He, S.Y. 2014. Growth-defense tradeoffs in plants: a balancing act to optimize fitness. *Mol. Plant.* 7: 1267–1287.
- Hurng, W.P. Lur, H.S. Liao, C.K. and Rao, C.H. 1994. Role of abscisic acid, ethylene and polyamines in flooding promoted senescence of tobacco leaves. *Plant Physiology*, 143:102-105.
- Hutton, D. G. and Mayers, P.E. 1988. Brown spot of Murcott tangor caused by *Alternaria alternata* in Queensland. *Australa. Plant Pathol.* 17(3):69-73.
- Iriti, M. and Faoro, F. 2008. Abscisic acid is involved in chitosan-induced resistance to tobacco necrosis virus (TNV). *Plant Physiol. Biochem.* 46: 1106–1111.
- Jaillais, Y. and Chory, J. 2010. Unraveling the paradoxes of plant hormone signaling integration. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 17: 642–645.
- Jasinski, S. Piazza, P. Craft, J. Hay, A. Woolley, L. Rieu, I. et al. 2005. KNOX action in *Arabidopsis* is mediated by coordinate regulation of cytokinin and gibberellin activities. *Curr. Biol.* 15: 1560–1565.
- Jiang, C.J. Shimono, M. Sugano, S. Kojima, M. Yazawa, K. Yoshida, R. Inoue, H. Hayashi, N. Sakakibara, H. and Takatsuji, H. 2010. Abscisic acid interacts antagonistically with salicylic acid signaling pathway in rice-magnaporthe grisea interaction. *Mol. Plant-Microbe Int.* 23:791–798.
- Joly, P. 1964. *Le Genre Alternaria*. (Encyclopedie Mycologique) P. Lechevalier, Paris.
- Jones, J.D.G. and Dangl, J.L. 2006. The plant immune system. *Nature*, 444:323-329.
- Kaliff, M. et al. 2007. ABA is required for *Leptosphaeria maculans* resistance via ABI1 and ABI4 dependent signalling. *Mol. Plant Microbe Interact.* 20: 335–345.
- Kamoun, S. 2007. Groovy times: filamentous pathogen effectors revealed. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10: 358–365.,
- Kara, C. 2014. Hagami kamkatı aşı kalemlerinin kobalt-60 ışınlamasına dayanımının belirlenmesi ve farklı genotiplerin RAPD belirteçleri ile tanımlanması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Aydın.47 s.
- Kawaide, H. 2006. Biochemical and molecular analyses of gibberellin biosynthesis in fungi. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70: 583–590.
- Kazan, K. and Manners, J.M. 2009. Linking development to defense: auxin in plant pathogen interactions. *Trends Plant Sci.* 7: 373–382.

- Kempel, A., Schädler, M., Chrobok, T., Fischer, M. and van Kleunen, M. 2011. Tradeoffs associated with constitutive and induced plant resistance against herbivory. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108: 5685–5689.
- Kettner, J. and Dorffling, K. 1995. Biosynthesis and metabolism of abscisic-acid in tomato leaves infected with *Botrytis cinerea*. *Planta*, 196: 627–634.
- Khalil S.A. Sattar, A. and Zamir, R. 2011. Development of sparse-seeded mutant kinnow (*Citrus reticulata* Blanco) through budwood irradiation. *African Journal of Biotechnology*, 10(65): 14562-14565
- Kieffer, M., Neve, J. and Kepinski, S. 2010. Defining auxin response contexts in plant development. *Curr. Opin. Plant Biol.* (13); 12–20
- Kiely, T.B. 1964. Brown spot of Emperor mandarin. *Agriculture Gazetta N.S.W.* vol. 75. pp. 854–856.
- Kim, J.I. Murphy, A.S. Baek, D. Lee, S.W. Yun, D.J. Bressan, R.A. and Narasimhan, M.L. 2011. YUCCA6 over-expression demonstrates auxin function in delaying leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Exp. Bot.* 62: 3981–3992.
- Koga, H. Dohi, K. and Mori, M. 2004. Absciscic acid and low temperatures suppress the whole plant-specific resistance reaction of rice plants to the infection with *Magnaporthe grisea*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 65(1): 3-9.
- Kohmoto, K. Akimitsu, K. and Otani, H. 1991. Correlation of resistance and susceptibility of citrus to *Alternaria alternata* with sensitivity to host-specific toxins. *Phytopathology*, 81: 719–722.
- Kohmoto, K., Itoh, Y., Shimomura, N., Kondoh, Y., Otani, H., Kodama, M., et al. 1993. Isolation and biological-activities of 2 host-specific toxins from the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. *Phytopathology*, 83, 495–502.
- Kono, Y. Gardner, J.M. and Takeuchi, S. 1986. Structure of the host selective toxins produced by a pathotype of *Alternaria citri* causing brown spot disease of mandarins. *Agric. Biol. Chem.* 50:801-804.
- Koornneef, A. and Pieterse, C.M.J. 2008. Cross talk in defense signaling. *Plant Physiol.* 146:839–844.
- Kovac, M. Muller, A. Milovanovic Jarah, D. Milavec, M. Duchting, P. and Ravnika, M. 2009. Multiple hormone analysis indicates involvement of jasmonate signaling in the early defense of potato to potato virus Y^{NTN}. *Biol. Plant*, 53: 195–199.
- Kunter B. Kantoğlu Y. Baş M. Burak M. 2009. Mutasyon ıslahıyla kirazda yeni tiplerin geliştirilmesi. X. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, Muğla. 321-332 s.
- Kuraishi, S. Tasaki, K. Sakurai, N. and Sadatoku, K. 1991. Changes in levels of cytokinins in etiolated squash seedlings after illumination. *Plant Cell Physiol.* 32 (5): 585-591.
- Latado, R.R. Neto, A.T. Ando, A. Iemma, A.F. Junior, J.P. Figueiredo, J.O. Pio, R.M. Machado, M.A. Namekata, T. Ceravolo, L. and Rossi, A.C. 2001. Mutantes de laranja-‘Pera’ com numero reduzido de sementes, obtidos através de mutações

- induzidas. [Sweet orange ‘Pera’ mutants with low number of seeds obtained through mutation induction] Rev. Bras. Jaboticabal, 23(2): 339-344.
- Latado, R.R. Bueno Filho, J.S.S. Pompeu Junior, J. and Tulmann Neto, A. 2004. Correlações entre viabilidade de polen e características de frutos em mutantes de laranja ‘Pêra’. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 39 (10): 961-965.
- Latado, R.R. Cristofani-Yaly, M. Carvalho, C.R. and Machado, M.A. 2007. Plantas autotetraplóides de citros sob tratamento *in vitro* com colchicina. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 42 (10): 1429 – 1435.
- LeJohn, H.B. and Stevenson, R.M. 1973. Cytokinins and magnesium ions may control the flow of metabolites and calcium ions through fungal cell membranes. Biochim. Biophys. Res. Commun. 54: 1061–1066.
- Liu, Q. Zhou, A.D. Chai, L.J. Zhou, W.J. Yu, K.Q. Ding, J. Xu, J. and Deng, X.X. 2009. Transcriptome analysis of a spontaneous mutant in sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] during fruit development. Journal of Experimental Botany, 60:801–813.
- Ludwig-Muller, J. 2015. Bacteria and fungi controlling plant growth by manipulating auxin: balance between development and defense. Journal of Plant Physiol. 172:4–12.
- Ma, K.W. and Ma, W. 2016. Phytohormone pathways as targets of pathogens to facilitate infection. Plant Mol. Biol. 91: 713–725.
- Mang, H.G. Qian, W. Zhu, Y. Qian, J. Kang, H.G. Klessig, D.F. et al. 2012. Absciscic acid deficiency antagonizes high-temperature inhibition of disease resistance through enhancing nuclear accumulation of resistance proteins SNC1 and RPS4 in *Arabidopsis*. Plant Cell, 24: 1271–1284.
- Manulis, S. Shafrir, H. Epstein, E. Lichter, A. and Barash, I. 1994. Biosynthesis of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in *Streptomyces* spp. Microbiology, 140:1045–1050.
- Maor, R. Haskin, S. Levi-kedmi, H. and Sharon, A. 2004. In planta production of indole-3-acetic acid by *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*. Appl. Environ. Microbiol. 70: 3–6.
- Marin, J.E. Fernandez, H.S. Peres, N.A. Andrew, M. Peever, T.L. and Timmer, L.W. 2006. First report of *Alternaria* Brown spot of citrus caused by *Alternaria alternata* in Peru. Phytopathology, 90: 686.
- Masuta, C. Tanaka, H. Uehara, K. Kuwata, S. Koiwai, A. and Noma, I. 1995. Broad resistance to plant-viruses in transgenic plants conferred by antisense inhibition of a host gene essential in S-adenosylmethionine-dependent transmethylation reactions. Proc. Natl. Acad. Sci. 92: 6117–6121.
- Mauch-Mani, B. and Mauch, F. 2005. The role of abscisic acid in plant–pathogen interactions. Curr. Opin. Plant Biol. 8: 409–414.
- Monna, L. Kitazawa, N. Yoshino, R. Suzuki, J. Masuda, H. Maehara, Y. Tanji, M. Sato, M. Nasu, S. and Minobe, Y. 2002. Positional cloning of rice semidwarfing gene, *sd-1*: rice ‘Green revolution gene’ encodes a mutant enzyme involved in gibberellin synthesis. DNA Research, 9: 11–17.

- Montañola, M.J. Galaz, A. Gambardella, M. and Mártiz, J. 2015. New low seeded mandarin (*Citrus reticulata*) and lemon (*C. limon*) selections obtained by gamma irradiation. In: Sabater-Muñoz, B. Moreno, P. Peña, L. and Navarro, L. (eds) Proceedings of XIIth international citrus congress, Acta Hort. 1065:543–548.
- Morris, J. W. Doumas, P. Morris, R. O. and Zaer, J. B. 1990. Cytokinins in vegetative and reproductive buds of *Pseudotsuga menziesii*. Plant Physiol. 9: 67-71.
- Munemasa, S. Oda, K. Watanabe-Sugimoto, M. Nakamura, Y. Shimoishi, Y. and Murata, Y. 2007. The coronatine-insensitive 1 mutation reveals the hormonal signaling interaction between abscisic acid and methyl jasmonate in *Arabidopsis* guard cells. Specific impairment of ion channel activation and second messenger production. Plant Physiol. 143: 1398–1407.
- Murphy, A.M. Pryce-Jones, E. Johnstone, K. and Ashby, A.M. 1997. Comparison of cytokinin production in vitro by *Pyrenopeziza brassicae* with other plant pathogens. Physiol. Mol. Plant Pathol. 50: 53–65.
- Mutka, A.M. Fawley, S. Tsao, T. and Kunkel, B.N. 2013. Auxin promotes susceptibility to *Pseudomonas syringae* via a mechanism independent of suppression of salicylic acid-mediated defenses. The Plant Journal, 74: 746–754.
- Nakashima, Y. Ueno, T. Fukami, H. Taga, T. Masuda, H. Osaki, K. Otani, H. Kohmoto K. and Nishimura, S. 1985. Isolation and structures of AK-toxin I and II, host-specific metabolites produced by *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype. Agricultural and Biological Chemistry, 49: 807–815.
- Nakatsuka, S. Ueda, K. Goto, T. Yamamoto, M. Nishimura S. and Kohmoto, K. 1986. Structure of AF-toxin II, one of the host-specific toxins, produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype. Tetrahedron Letters, 27: 2753–2756.
- Naseem, M. Kaltdorf, M. and Dandekar, T. 2015. The nexus between growth and defence signalling: auxin and cytokinin modulate plant immune response pathways. Journal of Exp. Bot. 66: 4885–4896.
- Navarro, L. Dunoyer, P. Jay, F. Arnold, B. Dharmasiri, N. Estelle, M. Voinnet, O. and Jones, J.D. 2006. A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing auxin signaling. Science, 312:436-439.
- Navarro, L. Bari, R. Achard, P. Lison, P. Nemri, A. Harberd, N.P. and Jones, J.D.G. 2008. DELLAs control plant immune responses by modulating the balance and salicylic acid signaling. Curr. Biol. 18: 650–655.
- Nemsa, I. Hernandez, M.A. Lacasa, A. Porras, I. Garcia-Lidon, A. Cifuentes, D. Bouzid, S. Ortuno, A. and Del Rio, J.A. 2012. Pathogenicity of *Alternaria alternata* on fruits and leaves of ‘Fortune’ mandarin (*Citrus clementina* x *Citrus tangerina*). Canadian Journal of Plant Pathology, 34 (2): 195-202.
- Nito, N. Ling, J.T. Iwamasa, M. and Katayama, Y. 1989. Effect of gamma irradiation on growth and embryogenesis of citrus callus. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 58(2) : 283-287.
- O'Donnell, P.J. Schmelz, E.A. Moussatche, P. Lund, S.T. Jones, J.B. and Klee, H.J. 2003. Susceptible to intolerance a range of hormonal actions in a susceptible *Arabidopsis* pathogen response. The Plant Journal, 33:245-257.

- Oka, M. Miyamoto, K. Okada, K. and Ueda, J. 1999. Auxin polar transport and flower formation in *Arabidopsis thaliana* transformed with indoleacetamide hydrolase (iaaH) gene. *Plant Cell Physiol.* 40: 231–237.
- Ollitrault P. 1992. Research of seedless ‘Willowleaf’ mandarin (*Citrus deliciosa*) by *in vitro* gamma irradiation of nucellar calli. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1:113-116.
- Otani, H. Kohmoto, K. and Kodama, M. 1995. *Alternaria* toxins and their effects on host plants. *Canadian Journal of Botany*, 73(1):S453-S458.
- Panstruga, R. Parker, J.E. and Schulze-Lefert, P. 2009. SnapShot: plant immune response pathways. *Cell*, 136(5): 978.
- Parker, J.E. 2000. Signalling in plant disease. *Annu. Plant Reviews, Mol. Plant Path.* 4: 143-174.
- Peever, T.L, Olsen, L. Ibáñez, A. and Timmer, L.W. 2000. Genetic differentiation and host specificity among populations of *Alternaria* spp. causing brown spot of grapefruit and tangerine × grapefruit hybrids in Florida. *Phytopathology*, 90: 407–414.
- Pegg, K.G. 1966. Studies of a strain of *Alternaria citri* Pierce, the causal organism of brown spot of Emperor mandarin. *Queensland Journal of Agricultural Animal Science*, 23: 14–18.
- Peleg, Z. and Blumwald, E. 2011. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 14: 290–295.
- Peleg, Z. Reguera, M. Tumimbang, E. Walia, H. and Blumwald, E. 2011. Cytokinin-mediated source/sink modifications improve drought tolerance and increase grain yield in rice under water-stress. *Plant Biotechnol. Journal*, 9: 747–758.
- Peng, Z.Y. Zhou, X. Li, L. Yu, X. Li, H. Jiang, Z. et al. 2009. *Arabidopsis* hormone database: a comprehensive genetic and phenotypic information database for plant hormone research in *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Res.* 37; D975–D982.
- Peres, N.A.R. Agostini, J.P. and Timmer, L.W. 2003. Outbreaks of *Alternaria* brown spot of citrus in Brazil and Argentina. *Plant Disease*, 87:750.
- Peres, N.A. and Timmer, L.W. 2006. *Alternaria* brown spot of citrus in Brazil: evaluation of the Alter-Rater for spray timing and effects on yield of Murcott tangor. *Crop Prot.* 25: 454–460.
- Pieterse, C.M.J. Leon-Reyes, A. Van Der Ent, S. and Van Wees S.C.M. 2009. Networking by small molecule hormones in plant immunity. *Nat. Chem. Biol.* 5:308–316.
- Pieterse, C.M.J. Van der Does, D. Zamioudis, C. Leon-Reyes, A. and Van Wees, S.C.M. 2012. Hormonal modulation of plant immunity. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 28: 489–521.
- Pimenta Lange, M.J. and Lange, T. 2006. Gibberellin biosynthesis and the regulation of plant development. *Plant Biol.* 8: 281–290.
- Predieri, S. 2001. Mutation induction and tissue culture in improving fruits. *Plant Cell Tissue Organ*, 64: 185-210.

- Polat, I. Turgutoglu, E. and Kurt, S. 2015. Determination of genomic diversity within mutant lemon (*Citrus limon* L.) and mandarin (*Citrus reticulata*) using molecular markers. Pakistan Journal of Botany, 47(3): 1095-1102.
- Ponnuswami, V. Irulappan, I. and Arumugam, R. 1991. Sensitivity of Muscat grape cuttings to gamma irradiation. South Indian Horticulture, 39(5) : 317-318.
- Pozo, M.J. Lopez-Raez, J.A. Azcon-Aguilar, C. and Garcia-Garrido, J.M. 2015. Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. New Phytol. 205: 1431–1436.
- Pratap, D. Kumar, S. Snehi, S.K. and Raj, S.K. 2012. Biological and molecular characterization of cucumber mosaic virus isolate causing shoestring disease of tomato in India which has closer affinity to European or East Asian isolates of CMV. Indian Journal of Virol. 23: 57–63.
- Qi, J. Liu, Z. Huang, L. Chen, H. Liu, J. and Dai, Z. 2008. Effect of ^{60}Co ray treatment on seedless mutation in budwood of Jincheng orange. Proceedings of the International Society of Citriculture. 1:146-148.
- Qin, X. Liu, J.H. Zhao, W.S. Chen, X.J. Guo, Z.J. and Peng, Y.L. 2013. Gibberellin 20-oxidase gene OsGA20ox3 regulates plant stature and disease development in rice. Mol. Plant Microbe Interact. 26: 227–239.
- Radhika, V. Ueda, N. Tsuboi, Y. Kojima, M. Kikuchi, J. Kudo, T. and Sakakibara, H. 2015. Methylated cytokinins from the phytopathogen *Rhodococcus fascians* mimic plant hormone activity. Plant Physiol. 169:1118–1126.
- Rajjou, L. Duval, M. Gallardo, K. Catusse, J. Bally, J. Job, C. et al. 2012. Seed germination and vigor. Annu. Rev. Plant Biol. 63: 507–533.
- Reis, R.F. Almeida, T.F. Stuchi, E.S. and Goes, A. 2007. Susceptibility Of Citrus Species To *Alternaria Alternata*, The Causal Agent Of The Alternaria Brown Spot. Scientia Horticulturae, 113: 336-342.
- Reuther, W. Webber, H.J. and Batchelor, L.D. 1967. The Citrus Industry. University of California Division of Agricultural Sciences, 1 : 431-539.
- Riou-Khamlichi, C. Huntley, R. Jacqumard, A. and Murray, J.A.H. 1999. Cytokinin activation of *Arabidopsis* cell division through a D-type cyclin. Science, 283: 1541–1545.
- Robert-Seilanianz, A. Navarro, L. Bari, R. and Jones, J.D. 2007. Pathological hormone imbalances. Curr. Opin. Plant Biol. 10: 372–379.
- Robert-Seilanianz, A. Grant, M. and Jones, J.D.G. 2011. Hormone crosstalk in plant disease and defense: more than just jasmonate–salicylate antagonism. Annu. Rev. Phytopathol. 49: 317–343.
- Rotem, J. 1994. The Genus *Alternaria* American Phytopathological Society Press, St Paul, M.N.
- Russo, F. Donini, B. and Sarrantino, A. 1981. Mutagenesis Applied for Citrus Improvement. Proc. Int. Soc. Citriculture, 1:68-70.
- Sakakibara, H. 2006. Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. Annu. Rev. Plant Biol. 57: 431–449.

- Salehin, M. Bagchi, R. and Estelle, M. 2015. SCFTIR1/AFB-based auxin perception: mechanism and role in plant growth and development. *Plant Cell*, 27: 9–19.
- Sanada, T. Kotobuki, K. Nishida, M. Fujita, H. and Ikeda, T. 1993. A new Japanese pear cultivar ‘Gold Nijisseiki’, resistant to black spot disease of Japanese pear. *Japan Journal of Breed.* 43: 455-461.
- Sanders, I.R. 2011. Mycorrhizal symbioses: how to be seen as a good fungus. *Curr. Biol.* 21:R550–R552.
- Santner, A. Calderon-Villalobos, L.I.A. and Estelle, M. 2009. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nat. Chem. Biol.* 5: 301–307.
- Sasaki, A. Ashikari, M. Ueguchi-Tanaka, M. Itoh, H. Nishimura, A. Swapan, D. Ishiyama, K. Saito, T. Kobayashi, M. Khush, G.S. et al. 2002. Green revolution: a mutant gibberellin-synthesis gene in rice: new insight into the rice variant that helped to avert famine over thirty years ago. *Nature*, 416: 701–702.
- Schaller, G.E. Bishopp, A. and Kieber, J.J. 2015. The yin-yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development. *Plant Cell*, 27: 44–63.
- Schmelz, E.A. Engelberth, J. Alborn, H.T. O'Donnell, P. Sammons, M. Toshima, H. and Tumlinson, J.H. 2003. Simultaneous analysis of phytohormones, phytotoxins, and volatile organic compounds in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100:10552-10557.
- Schutte G.C. Lesar, K.H. du T. Pelsler, P. and Swart, S.H. 1992. The use of tebuconazole for the control of *Alternaria alternata* on ‘Minneola’ tangelos and its potential to control post-harvest decay when applied as a pre-harvest spray. *Proceedings of the International Society of Citriculture*, 7: 1070–1074.
- Shan, L. He, P. Li, J. Heese, A. Peck, S.C. Nürnberger, T. Martin, G.B. and Sheen, J. 2008. Bacterial effectors target the common signaling partner BAK1 to disrupt multiple MAMP receptor-signaling complexes and impede plant immunity. *Cell Host Microbe*, 4: 17–27.
- Simmons, E.G. 1992. *Alternaria* taxonomy: current status, view point, challenge. In *Alternaria: biology, plant diseases and metabolites* (Chelkowski, J. and Visconti, A. eds):1-35.
- Singh, A. Singh, I. P. and Singh, S. 2000. Variability in Nagpur Mandarin seedlings induced by gamma rays. *Proc. Intl. Symp. on Citriculture*, pp.66-69.
- Smykov, A.V. 1989. Use of gamma irradiation in the clonal selection of peach for low growth vigour. *Sbornik Nauchnykh Trudov Gosudarstvennyi Nikitskii Botanicheskii Sad*, 107: 36-47.
- Solel, Z. 1991. *Alternaria* brown spot on Minneola tangelos in Israel. *Plant Pathology*, 40:145–147.
- Solel, Z. and Kimchi, M. 1997. Susceptibility and resistance of citrus genotypes to *Alternaria alternata* pv. *citri*. *Journal of Phytopathology*, 145: 389–391.
- Soosaar, J.L. Burch-Smith, T.M. and Dinesh-Kumar, S.P. 2005. Mechanisms of plant resistance to viruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 789–798.

- Souza, M.C. Stuchi, E.S. and Goes, A. 2009. Evaluation of tangerine hybrid resistance to *Alternaria alternata*. *Scientia Horticulturae*, 123: 01–04.
- Spence, C. and Bais, H. 2015. Role of plant growth regulators as chemical signals in plant–microbe interactions: a double edged sword. *Curr. Opin. Plant Biol.* 27: 52–58.
- Spiegel-Roy, P. and Kochba, J. 1973. Mutation breeding in citrus. Induced mutations in vegetatively Propagated Plants. *Proc. IAEA Panel, Vienna*. p:91-103.
- Spiegel-Roy, P. and Padova, R. 1973. Radiosensitivity of Shamouti orange (*Citrus sinensis*) seeds and buds. *Radiation Bot.* 13: 105-110.
- Spiegel-Roy, P. Vardi, A. and Elhanati, A. 1985. Seedless induced mutant in lemon (*Citrus limon*). *Mutat. Breed. Newsl.* 26:1.
- Spiegel-Roy, P. 1990. Economic and agricultural impact of mutation breeding in fruit trees. In: *Mutation Breeding Review*, 5: 1 - 25.
- Spiegel-Roy, P. Vardi, A. Yaniv, Y. et al. 2007. ‘Ayelet’ and ‘Galya’: new seedless lemon cultivars. *HortScience*, 42(7):1723–1724.
- Spielmeyer, W. Ellis, M.H. and Chandler, P.M. 2002. Semidwarf (sd-1), ‘green revolution’ rice, contains a defective gibberellin 20-oxidase gene. *Proc. Natl Acad. Sci.* 99:9043–9048.
- Spina, P. Mannino, P. Reforgiato Recupero, G. and Starrantino, A. 1991. Use of mutagenesis at the Istituto Sperimentale per l’Agrumicoltura Acireale: results and prospects for the future. In: *International Symposium on the Contribution of Plant Mutation Breeding to Crop Improvement, Vienna, IAEA Proceedings*, pp. 257-261.
- Spoel, S.H. Koornneef, A. Claessens, S.M.C. Korzelius, J.P. Van Pelt, J.A. Mueller, M.J. et al. 2003. NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol. *Plant Cell*, 15: 760–770.
- Spoel, S.H. and Dong, X. 2008. Making sense of hormone crosstalk during plant immune responses. *Cell Host Microbe*. 3: 348–351.
- Starrantino, A. and Russo, F. 1976. Coltura ‘in vitro’ di nucelle isolate da frutticini di limone irraggiati con ⁶⁰Co. Tentativi per ottenere semenzali nucellari resistenti al “mal secco”. *Annali Istituto sperimentale per l’Agrumicoltura*, 10 : 209-221.
- Starrantino, A. Mannino P. and Russo, F. 1988a. The genetic stability of three seedless clonal selection obtained by gamma rays of the seedy ‘Monreal ‘clemantine. *Proceeding of the Sixth International Citrus Congress*. p:175-182.
- Starrantino, A. Russo, F. Donini, B. and Spina, P. 1988b. Lemon mutations obtained by gamma irradiation of the nucellus cultured in vitro. In: *6th International Citrus Congress Proceedings*, pp 231–235.
- Strandberg, J. O. 1992. *Alternaria* species that attack vegetable crops. Biology and options for disease management. In *Alternaria Biology, Plant Diseases and Metabolites* (Chelkowski, J. and Visconti, A. eds.), Elsevier: 175–208.

- Stuart, R.M. Bastianel, M. Azevedo, F.A. and Machado, M.A. 2009. *Alternaria* brown spot. *Laranja*, 30: 29–44.
- Sun, T.P. and Gubler, F. 2004. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 197–223.
- Sung, C.L. and Luan, S. 2012. ABA signal transduction at the crossroad of biotic and abiotic stress responses. *Plant Cell Environ.* 35: 53–60.
- Sutarto, I. Agisimanto, D. and Supriyanto A (2009) Development of promising seedless citrus mutants through gamma irradiation. *Induced plant mutations in the genomics era*. FAO, Rome, pp 306–308.
- Swain, S.M. and Singh, D.P. 2005. Tall tales from sly dwarves: novel functions of gibberellins in plant development. *Trends Plant Sci.* 10: 123–129.
- Swart, S.H. Wingfield, M.J. and Schutte, G.C. 1998. Chemical Control of *Alternaria* Brown Spot on *Minneola* Tangelo in South Africa. *Annals of Applied Biology*, 133(1):17-30.
- Swarup, R. and Péret, B. 2012. AUX/LAX family of auxin influx carriers – an overview. *Front. Plant Sci.* 3: 225.
- Şire, İ. 2011. Turunçgillerde Kahverengi Yaprak Leke Hastalığı Etmeni *Alternaria alternata* f.sp. *citri* İzolatlarına Karşı Turunçgil Tür ve Çeşitlerinin Reaksiyonlarının Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 68 s.
- Tanaka, T. 1925. Further Data on Bud-Variation in Citrus. *Jap. Jour. Genetics*, 3(3): 131-143.
- Tang, X.L. Li, Z.Q. Wu, S.Y. Peng, C.J. Zeng, S.R. and Yi, G.J. 1993. Breeding of seedless Hongjiangcheng by repeated budwood irradiation. *China-Citrus*, 22 (4) : 18-19.
- Tang, X.L. Wu, S.T. Peng, C.L. and Li, Z.O. 1994. Development of seedless citrus cultivars through gamma ray re-irradiation. In: XXIV International Horticultural Congress. Program and Abstracts Supplement. Japan, pp: 646–649.
- Taşdemir, H.A. ve Akkaya, F. 2001. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı Bitkisel Üretim Özel İhtisas Komisyonu Meyvecilik Alt Komisyon Raporu Turunçgiller Raporu. 612-661 (<http://ekutup.dpt.gov.tr/bitkiure/meyve/oik657.pdf>).
- Timmer, L.W. Peever, T.L. Solel, Z. and Akimitsu, K. 2003. *Alternaria* diseases of citrus-novel Pathosystems. *Phytopathol.Mediterr.* 42, 99–112.
- Ton, J. Ent, V.D.S. Hulten, V.M. Pozo, M. Oosten, V.V. Loon, L.C.V. Mauch-Mani, B. Turlings, T.C.J. and Pieterse, C.M.J. 2009. Priming as a mechanism behind induced resistance against pathogens; insects and abiotic stress. *IOBC/WPRS Bull.* 44: 3–13.
- Torto-Alalibo, T. Collmer, C.W. Lindeberg, M. Bird, D. Collmer, A. and Tyler, B.M. 2009. Common and contrasting themes in host cell-targeted effectors from bacterial, fungal, oomycete and nematode plant symbionts described using the Gene Ontology. *BMC Microbiol.* 9:S3.

- Tsavkelova, E. Oeser, B. Oren-Young, L. Israeli, M. Sasson, Y. Tudzynski, B. and Sharon, A. 2012. Identification and functional characterization of indole-3-acetamide-mediated IAA biosynthesis in plant-associated *Fusarium* species. *Fungal Genet. Biol.* 49: 48–57.
- Tsuge, T. Harimoto, Y. Akimitsu, K. Ohtani, K. Kodama, M. Akagi, Y. et al. 2012. Host-selective toxins produced by the plant pathogenic fungus *Alternaria alternata*. *FEMS Microbiol. Rev.* 37: 44–66.
- Tulmann-Neto, A. Menten, J.O.M. Ando, A. Pompeu Junior, J. Figueiredo, J.O. Ceravolo, L. Namekata, T. and Rossi, A.C. 1996. Induction and selection of mutants in the orange Pera using gamma radiation, *Technisch-Document - Staring-Centrum,-Instituut-voor Onderzoek-van-het-Landelijk-Gebied.* 31: 743-752.
- Tuzcu, Ö. Kaplankıran, M. ve Yeşiloğlu, T. 1988. Turunçgillerde radyasyon uygulaması ile yeni çeşitlerin ıslahı. *Ç.Ü. Araştırma Fonu 1. Bilim Kongresi (Ziraat-Fen-Mühendislik-İdari Bilimler).* 1: 25-34.
- Tuzcu, Ö. 1990. Türkiye’de Yetiştirilen Başlıca Turunçgil Çeşitleri. *Akdeniz İhracatçı Birlikleri Yayınları, Mersin,* 71 s.
- Tuzcu, Ö. Yıldırım, B. Düzenoğlu, S. ve Bahçeci, I. 1999. Değişik turunçgil anaçlarının Washington Navel ve Moro kan portakal çeşitlerinin verim ve kalitesi üzerine etkileri. *Journal of Agriculture and Forestry,* 23: 213-222.
- Uzun, A. Gulsen, O. Kafa, G. and Seday, U. 2008. ‘Alata’, ‘Gulsen’, and ‘Uzun’ seedless lemons and ‘Eylul’ early-maturing lemon. *HortScience,* 43(6):1920–1921.
- Ülger, S. Baktır, İ. Kaynak, L. 1999. Zeytinlerde periodisite ve çiçek tomurcuğu oluşumu üzerine içsel büyüme hormonlarının etkilerinin saptanması. *Turkish Journal Agriculture and Forestry,* 23: 619–623.
- Vanneste, S. 2005. Auxin coordinates cell division and cell fate specification during lateral root initiation. *Physiol. Plant.* 123: 139–146.
- Vanstraelen, M. and Benkova, E. 2012. Hormonal interactions in the regulation of plant development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 28: 463–487.
- Vardi, A. and Spiegel-Roy, P. 1978. Taxonomy Breeding Aand Genetics. *Proc. Int. Soc. Citriculture,* 2 : 51-57.
- Vardi A. Levin I. and Carmi N. 2008. Induction of seedlessness in citrus: from classical techniques to emerging biotechnological approaches. *Journal of Amer. Soc. Hort. Sci.* 133(1):117-126.
- Vicent A. Armengol, J. Sales R. and Garcia-Jimenez, J. 2000. First report of *Alternaria* brown spot of citrus in Spain. *Plant Disease,* 84: 1044.
- Vicent, A. Badal, J. Asensi, M.J. Sanz, N. Armengol, J. and Garcia-Jimenez, J. 2004. Laboratory evaluation of citrus cultivars susceptibility and influence of fruit size on Fortune mandarin to infection by *Alternaria alternata* pv. *citri*. *Eur. Journal of Plant Pathol.* 110: 245–251.

- Vicent, A. Armengol, J. and García-Jimenez, J. 2007. Rain fastness and persistence of fungicides for control of *Alternaria* Brown Spot of citrus. *Plant Dis.* 91:393–399.
- Vicent, A. Armengol, J. and García-Jiménez, J. 2009. Protectant activity of reduced concentration copper sprays against *Alternaria* brown spot on ‘Fortune’ mandarin fruit in Spain. *Crop Prot.* 28:1–6.
- Wakana, A. Hanada, N. Park, S. Fukudome, I. and Kajiwar, K. 2005. Production of tetraploid forms of acid citrus cultivars by top grafting of shoots with sprouting axially buds treated with colchicine. *Journal of Fac. Agric.* 50(1): 93–102.
- Walters, D.R. and McRoberts, N. 2006. Plants and biotrophs: a pivotal role for cytokinins? *Trends Plant Sci.* 11: 581–586.
- Walters, D. and Heil, M. 2007. Costs and trade-off associated with induced resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* (71); 3–17.
- Walters, D.R. McRoberts, N. and Fitt, B.D.L. 2008. Are green islands red herrings? Significance of green islands in plant interactions with pathogens and pests. *Biol. Rev.* 83: 79–102.
- Ward, E.W. et al. 1989. Absciscic acid suppression of phenylalanine ammonia-lyase activity and mRNA, and resistance of soybeans to *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea*. *Plant Physiol.* 91: 23–27.
- Weiss, D. and Ori, N. 2007. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones. *Plant Physiol.* 144: 1240–1246.
- Whenham, R.J. Fraser, R.S.S. Brown, L.P. and Payne, J.A. 1986. Tobacco-Mosaic-Virus-induced increase in abscisic-acid concentration in Tobacco-leaves intracellular location in light and dark-green areas, and relationship to symptom development. *Planta*, 168: 592–598.
- White, R.F. 1979. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology*, 99: 410–412.
- Whiteside, J.O. 1976. A newly recorded *Alternaria*-induced brown spot disease on Dancy tangerines in Florida. *Plant Disease Reporter*, 60, 326–329.
- Williams, T.E. and Roose, M.L. 2008. 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, T.E. and Roose, M.L. 2010. Tango-a new, very low-seeded, late-season irradiated selection of ‘W. Murcott’ mandarin from the University of California Riverside. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1:202.
- Wingler, A. Leegood, R.C. Lea, P.J. and Quick, W.P. 1998 Regulation of leaf senescence by cytokinin, sugars, and light. *Plant Physiol.* 116: 329–335.
- Wu, J.H. and Mooney, P. 2002. Autotetraploid tangor plant regeneration from *in vitro* *Citrus* somatic embryogenic callus treated with colchicine. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 70 (1): 99-104.

- Xu, J. Audenaert, K. Hofte, M. and de Vleeschauwer, D. 2013. Absciscic acid promotes susceptibility to the rice leaf blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* by suppressing salicylic acid-mediated defenses. *PLOS One*, 8: e67413.
- Yang, D.L. Li, Q. Deng, Y.W. Lou, Y.G. Wang, M.Y. Zhou, G.X. Zhang, Y.Y. and He, Z.H. 2008. Altered disease development in the Eui mutants and Eui overexpressors indicates that gibberellins negatively regulate rice basal disease resistance. *Mol. Plant*. 1: 528–537.
- Yang, S.L. and Chung, K.R. 2012. The NADPH oxidase-mediated production of H₂O₂ and resistance to oxidative stress in the necrotrophic pathogen *Alternaria alternata* of citrus. *Mol. Plant Pathol*. 13, 900–914.
- Yasuda, M. Ishikawa, A. Jikumaru, Y. Seki, M. Umezawa, T. Asami, T. et al. 2008. Antagonistic interaction between systemic acquired resistance and the abscisic acid-mediated abiotic stress response in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20: 1678–1692.
- Yin, C. Park, J.J. Gang, D.R. and Hulbert, S.H. 2014. Characterization of a tryptophan 2-monooxygenase gene from *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* involved in auxin biosynthesis and rust pathogenicity. *Mol. Plant–Microbe Interact*. 27: 227–235.
- Yoshioka, T. Ito, Y. and Masuda, T. 2001. Induction of mutant resistant to alternaria blotch of apple by gamma ray irradiation. *Gamma Field Symposia*, 39: 69-79.
- Zhang, Z. Li, Q. Li, Z. Staswick, P.E. Wang, M. Zhu, Y. and He, Z. 2007. Dual regulation role of GH3.5 in salicylic acid and auxin signaling during *Arabidopsis–Pseudomonas syringae* interaction, *Plant Physiol*. 145: 450–464.
- Zhao, Y. 2010. Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annu. Rev. Plant Biol*. 61: 49–64.
- 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.
- Zhu, S. Gao, F. Cao, X. Chen, M. Ye, G. Wei, C. and Li, Y. 2005. The rice dwarf virus P2 protein interacts with ent-kaurene oxidases in vivo, leading to reduced biosynthesis of gibberellins and rice dwarf symptoms. *Plant Physiol*. 139: 1935–1945.
- Zipfel, C. 2014. Plant pattern-recognition receptors. *Trends Immunol*. 35: 345–351.

ÖZGEÇMİŞ

Ertuğrul TURGUTOĞLU
ertugrulturgutoglu@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2005-2008	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri ABD, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
1993-1997	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Mühendis	Tarım ve Orman bakanlığı
2004-Devam Ediyor	Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Antalya
Mühendis	Tarım ve Köyişleri Bakanlığı
2002-2004	Narenciye ve Seracılık Araştırma Enstitüsü, Antalya
Mühendis	Tarım ve Köyişleri Bakanlığı
1998-2002	Gümüşhacıköy İlçe Tarım Müdürlüğü, Amasya

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

Polat, I. Turgutoglu, E. and Kurt, S. 2015. Determination of genomic diversity within mutant lemon (*Citrus limon* L.) and mandarin (*Citrus reticulata*) using molecular markers. Pak. Journal of Bot. 47(3): 1095-1102.

- Turgutoglu, E. Kurt, S. and Demir, G. 2015. Effect of GA3 concentrations in basal medium on embryos germination of Cleopatra mandarin x Carrizo citrange and Cleopatra mandarin x Flying Dragon, Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics, 1(1): 17-19.
- Polat, I. Aka Kaçar, Y. Yeşiloğlu, T. Uzun, A. Tuzcu, Ö. İncesu, M. Kafa, G. Turgutoğlu, E. and Anıl, Ş. 2012. Molecular characterization of sour orange (*Citrus aurantium*) accessions and their relatives using SSR and SRAP markers. Genetics and Molecular Research, 11: 3267-3276.
- Bayram, S. Arslan, M.A. Turgutoğlu, E. and Erkan, M. 2012. The performance of some avocado cultivars under Mediterranean coastal conditions in Turkey. Journal of Food, Agriculture and Environment, 10(2): 588-592.
- Demir, G. Turgutoglu, E. and Kurt, S. 2015. Assessment of pollen viability and germination in seven varieties of lemon, Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics, 1(1) : 47-49.
- Kurt, S. Turgutoglu, E. and Demir, G. 2015. “BATEM Göral”; New mandarin cultivar, Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics, 1(1): 33-35.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- Turgutoğlu, E. Kurt, Ş. Demir, G. 2009. Turunçgil bahçe tesisinde yer, çeşit ve anaç seçimi. Tarım Türk, (20): 70-72.
- Turgutoğlu, E. Kurt, Ş. Demir, G. 2009. Yerli turunç anacında ekim öncesi bazı uygulamaların çimlenme üzerine etkileri, Derim, 26(2): 11-19.
- Bayram, S. Arslan, M.A. Turgutoğlu, E. 2006. Türkiye’de avokado yetiştiriciliğinin gelişimi, önemi ve önerilen bazı çeşitler. Derim, 23(2):1-13.
- Kurt, Ş. Turgutoğlu, E. Demir, G. 2009. Bazı portakal çeşitlerinde *in vitro* sürgün ucu aşılama tekniğinde farklı anaçların aşılama başarısına etkileri. Derim, 26(2): 57-66.
- Polat, İ. Turgutoğlu, E. 2012. Bazı altıntop (*Citrus paradisi*) ve şadoklarda (*Citrus maxima*) genetik akrabalık ve farklılıklarının SSR markırlarıyla tanımlanması. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25(1): 1-7.
- Kurt, Ş. Turgutoğlu, E. 2012. Virüsten ari turunçgil fidanı yetiştiriciliği, Tarım Türk, Fidancılık Eki, 36: 88-90.
- Kurt, S. Turgutoğlu, E. ve Demir, G. 2014. Farklı anaçlar üzerine aşılı bazı virüsten ari altıntop çeşitlerinin meyve kalite özellikleri, Derim, 31(2): 51-62.
- Turgutoğlu, E. Tuncay, M. Demirel, H. Apaydın, Y. Kurt, Ş. Demir, G. 2011. Batı Akdeniz bölgesine uygun satsuma mandarini çeşit seleksiyonu, Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Meyvecilik, Cilt 1: 18-24.

- Turgutoğlu, E. Tuncay, M. Demirel, H. Apaydın, Y. Kurt, Ş. Demir, G. 2011. Batı Akdeniz bölgesine uygun Klemantin mandarinini çeşit seleksiyonu, Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Meyvecilik, Cilt 1: 25-30.
- Turgutoglu, E. Kurt, S. and Demir, G. 2013. Bazı virüsten ari Klemantin mandarin çeşit ve tiplerinin meyve kalitesi üzerine Yerli turunç ve Troyer sitranjı anaçlarının etkisi. Ulusal Tarım Kongresi. s:22.
- Turgutoglu, E. Kurt, S. ve Demir, G. 2015. Yerli turunç ve Troyer sitranjı anaçlarının bazı mandarin çeşitlerinde meyve kalite özellikleri üzerine etkileri. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı:157.
- Turgutoglu, E. Kurt, S. ve Demir, G. 2015. BATEM’de mandarin melezleme çalışmaları. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı: 476.
- 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.
- Kurt, Ş. Turgutoğlu, E. Demir, G. Tepe, S. Çelik, N. 2011. Türkiye turunçgil çeşit geliştirme programı. Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Meyvecilik, Cilt 1:1-6.
- Kurt, Ş. Tuncay, M. Demirel, H. Apaydın, Y. Turgutoğlu, E. Demir, G. 2011. Batı Akdeniz bölgesine uygun Valencia late portakalı seleksiyonu, Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Meyvecilik, Cilt 1:12-17.
- Kurt, S. Turgutoglu, E. ve Demir, G. 2013. Yerli turunç ve Troyer sitranjı anaçları üzerine aşılı bazı virüsten ari altıntop çeşitlerinin meyve kalite özelliklerinin belirlenmesi. Ulusal Tarım Kongresi, s:22.
- Demir, G. Kurt, S. ve Turgutoglu, E. 2013. Bazı limon çeşitlerinin farklı tozlanma kombinasyonlarında meyve tutum oranları. Ulusal Tarım Kongresi, s:23.
- Kurt, S. Turgutoglu, E. ve Demir, G. 2015. Bazı Valencia late portakal klonlarında meyve kalite özellikleri üzerine Yerli turunç ve Troyer sitranjı anaçlarının etkisi. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı:158.
- Demir, G. Turgutoglu, E. ve Kurt, S. 2015. BATEM Sarısı ve BATEM Pınarı limon çeşitlerinin farklı tozlanma koşullarında meyve kalite kriterlerinin değişimi. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı:158.
- Topkaya Kütük, B. Çevik, B. Çelik, N. Polat, İ. Kurt, Ş. ve Turgutoğlu, E. 2015. Turunçgillerde sorun olan bazı virüs hastalık etmenlerinin mütipleks RT-PCR ile tanınması. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı:149.
- Demir, G. Turgutoglu, E. ve Kurt, S., 2015. BATEM’de turunçgil mutasyon çalışmaları. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı: 477.

Kurt, S. Turgutoglu, E. ve Demir, G. 2015. BATEM’de turunçgil ıslahında embriyo kurtarma alışmaları. İç Anadolu Bölgesi 2. Tarım ve Gıda Kongresi, Bildiri Özetleri Kitabı: 478.

