

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burcu GÖKSU

**BAZI TURUNÇGİL MELEZLERİNDE TURUNÇGİL
TRİSTEZA VİRÜSÜ (*CITRUS TRISTEZA VIRUS (CTV)*)'NE
DAYANIKLILIĞIN MOLEKÜLER MARKÖRLERLE
BELİRLENMESİ**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2017

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI TURUNÇGİL MELEZLERİNDE TURUNÇGİL TRİSTEZA
VİRÜSÜ (*CITRUS TRISTEZA VIRUS* (CTV))'NE DAYANIKLILIĞIN
MOLEKÜLER MARKÖRLERLE BELİRLENMESİ**

Burcu GÖKSU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 21/08/2017 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Selim ÇETİNER
ÜYE

.....
Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2014-2794**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI TURUNÇGİL MELEZLERİNDE TURUNÇGİL TRİSTEZA VİRÜSÜ (*CITRUS TRISTEZA VIRUS* (CTV))'NE DAYANIKLILIĞIN MOLEKÜLER MARKÖRLERLE BELİRLENMESİ

Burcu GÖKSU

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
II. Danışman : Yrd. Doç. Dr. Muharrem KAMBEROĞLU
Yıl: 2017, Sayfa: 116
Jüri : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. Selim ÇETİNER
: Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU

Türkiye coğrafik konumundan dolayı gen merkezi olmayan birçok bitkinin ekolojik isteklerini karşılamaktadır. Turunçgiller, Ülkemizin sahip olduğu ekolojik koşullarda rahatlıkla yetişebilen, besleyici özelliğe sahip ve geniş alanlarda üretimi yapılan bir bitki grubudur. Ancak, diğer bitkisel ürünlerimizde olduğu gibi yetiştiriciliği sınırlayan biyotik ve abiyotik etmenler mevcuttur. Dünyada salgın yapan tristeza virüsü, turunçgil bahçelerini zarara uğratmış, üretim miktarını azaltıp kaliteyi düşürmüştür. Bu virüs Türkiye'ye enfekteli aşı materyalleri ile giriş yapmıştır ancak etkili vektörü ülkemizde bulunmamaktadır. Ülkemiz genelinde, özellikle üretimin yoğun bir şekilde yapıldığı Akdeniz bölgesinde kullanılan turunç anacı bu virüse karşı duyarlıdır.

Bu çalışmada, turunca alternatif olabilecek Tristeza'ya dayanıklı anaç geliştirmek amacı ile dayanıklı ebeveynler kullanılarak oluşturulan üç farklı melezleme kombinasyonlarından elde edilen melez bitkiler, haritalama sonucu dayanıklılık geninin varlığını gösteren 35 RAPD markörü ile taranmıştır. Bu çalışma ile Turunçgil anaç ıslahında Tristeza'ya dayanıklılık için erken seleksiyon markörlerinin farklı populasyonlarda kullanılabilirliği ortaya koyulmuştur.

Anahtar kelimeler: Turunçgil, anaç, Tristeza virüsü, dayanıklılık, markörler

ABSTRACT

MSc THESIS

DETECTION OF RESISTANCE TO *CITRUS TRISTEZA VIRUS* (CTV) WITH MOLECULAR MARKER IN SOME CITRUS HYBRIDS

Burcu GÖKSU

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

Supervisor : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Supervisor II : Yrd. Doç. Dr. Muharrem KAMBEROĞLU
Yıl: 2017, Sayfa: 116
Jury : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. Selim ÇETİNER
: Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU

Turkey meets ecological desires of many plants that are not gene center, because of geographical location. Citrus that have nutritive properties and produced in large areas is a group of plants that can grow easily on the ecological conditions in our country. However, citrus cultivation is limited by biotic and abiotic factors like other herbal products. Tristeza virus which affects the citrus orchards around the world, has damaged citrus orchards, reducing the amount of production and decreasing the quality. This virus has been entered with infected graft materials in Turkey, but effective vector is not available in our country. Sour orange that used as citrus rootstock especially Mediterranean Region where production is performed intensively in our country, is susceptible to tristeza virus.

In this study, hybrid plants that obtained from three different hybridization combinations formed by using Tristeza-resistant parent, were screened with 35 RAPD markers indicating the presence of the resistance gene. This study demonstrated utility of early selection markers for citrus rootstock breeding for resistance to tristeza virus in different population.

Key words: Citrus, rootstock, Tristeza virus, resistance, markers

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Turunçgiller Dünyada ve Ülkemizde geniş üretim alanlarına sahip, ekonomiye önemli derecede katkı sağlayan, besin değeri yüksek olan meyve grupları arasında yer almaktadır. Dünyada en yoğun bir şekilde turunçgil üretimi yapan ülke Çin olup onu sırasıyla Brezilya, Hindistan ve Meksika izlemektedir. Türkiye ise turunçgil üretiminde 3.783.517 milyon ton üretim ile dokuzuncu sırada yer almaktadır. Ülkemiz, Akdeniz ülkeleri içerisinde İspanya ve Mısır'dan sonra 3. sırada yer almaktadır. Ülke içerisinde ise en fazla yetiştiriciliğin yapıldığı bölgeler Akdeniz bölgesi ve Ege bölgesi gelmektedir.

Dünyada ve Türkiye'de bitkisel üretimin miktar ve kalitesini düşüren, ürün kalitesinde kayıplar meydana getiren virüs, bakteri ve fungus kaynaklı hastalıklar mevcuttur. Dünyada turunçgil yetiştiriciliği yapılan birçok alanda kayıplar meydana getiren *Citrus Tristeza Virüsü* (CTV)'nün neden olduğu hastalık Ülkemize dışarıdan getirilen virüs enfekteli materyaller ile giriş yapmıştır. Ancak virüsün yayılmasına neden olan etkili vektörün Türkiye'de bulunmaması hastalığın yayılmaması bakımından Ülkemizin şanslı konumda olduğunu göstermektedir. Ancak virüsün turunç anaçlarını etkilemesi ve bahçelerimizde büyük oranda turunç anacı üzerinde yetiştiricilik yapılması, küresel ısınma ve iklim değişikliklerinin etkisi ile etkili vektörün üretim potansiyelimizi etkilemesi beklenmektedir.

Meyve yetiştiriciliğinde, üretilen meyvelerden ekonomik olarak kazanç sağlanabilmesi amacı ile meyve ağaçlarının verim, meyvelerinin ise kalite yönünden pazarlanabilir olması istenir. Verim ve kaliteyi etkileyen faktörler arasında ekolojik koşullar, yetiştiricilik sırasında yapılan kültürel

uygulamalar, çeşit seçimi, anaç seçimi, çeşit ve anacın uyumu, hastalık ve zararlılar yer almaktadır. Bu nedenle günümüz meyve yetiştiriciliğinde meyve bahçeleri kurulumunda anaç kullanımı ön plana çıkmaktadır. Üzerine aşılı meyvelerin verim ve kalitesini uzun yıllar boyunca etkileyeceğinden anaç seçimine dikkat edilmesi gerekir.

Farklı özellikteki bitkiler arasında yapılan melezleme çalışmalarında istenilen genin aktarıldığı bitkinin seçimi hem ıslah süresini kısaltmak hem de ıslahın etkinliğini artırmak açısından önem arz etmektedir. Bu seçimde ise yol gösterici belirteçler olarak ‘‘**markör**’’ler kullanılmaktadır. Özellikleri tanımlanan bu markırlar, konu ile ilgili yapılacak olan diğer ıslah çalışmalarında araştırmacılara kolaylık sağlayacaktır.

Bu tez çalışmasında, turunçgillerde anaç ıslahı projesi kapsamında CTV’ye karşı dayanıklı anaç elde etmek amacıyla anaç olarak kullanılan farklı ebeveynlerle yapılan melezleme çalışmaları sonucu elde edilen melez bitkilerde Tristeza’ya dayanıklılık geninin olup olmadığını moleküler markörler yardımı ile belirlenmiştir.

Çalışmada bitkisel materyal olarak Çin turuncu, Gou Tou turuncu, Sunki mandarini, Yerli üç yapraklı ve Rubidoux üç yapraklısı kullanılmış ve melezleme kombinasyonları oluşturulmuştur. Tristeza’ya dayanıklılığı belirleyen 35 adet erken seleksiyon markörlerinin Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) yöntemi ile Polimeraz Zincir Reaksiyonları çalışmaları yapılmış ve sonraki aşama olan agaroz jel elektroforezinden sonra dayanıklı bireylerin erken dönemde seçilebilmesi mümkün olmuştur.

Bu araştırma ile turunçgil anaç ıslahında dayanıklılığı belirleyen erken seleksiyon markırlarının turunçgil melezlerinde kullanılabilirliği açıklanmış ve melezler arasından dayanıklı bireylerin seçilmesi mümkün olmuştur.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca beni destekleyen, tez konumun belirlenmesinden sonuçlanmasına kadar geçen her aşamada görüş ve önerilerini esirgemeyen, akademik alanda gelişimime katkı sağlayan ve her açıdan örnek aldığım değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunmayı borç bilirim.

Tezimin değerlendirilmesine emek harcayan Sayın Prof. Dr. Selim ÇETİNER'e çok teşekkür ederim.

Bitkisel materyalin sağlanmasında ve tezimin değerlendirilmesinde emeği olan Sayın Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında laboratuvar tecrübelerinden yararlandığım ve bana yardım eden arkadaşlarım Dr. Özhan ŞİMŞEK'e, Biyolog Taner BOZKURT'a, Dr. Dicle DÖNMEZ'e, Biyolog Emine AÇAR'a, Ziraat Mühendisi Murat BATMAZ'a ve Ziraat Mühendisi Ahmet MAKARACI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasına mali destek sağlayan Üniversitemiz BAP birimine teşekkür ederim (FYL-2014-2794 nolu proje).

Tez çalışmalarımın bir kısmını görev yaptığım Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi'nde yürüttüğüm sırada çalışmalarına destek olan ve laboratuvarını kullanmama izin veren danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Keziban YAZICI'ya ve Fakültede çalışmalarına destek veren dekanımız Sayın Prof. Dr. Fatih SEYİS'e ve değerli bölüm başkanım Sayın Doç. Dr. Mustafa AKBULUT'a çok teşekkür ederim.

İlkokul eğitimimden bu yana bana fikirleri, emekleri ve kararları ile yanımda olduğunu hissettiren ve her zaman destekleyen Annem Sultan GÖKSU'ya, Babam Bektaş GÖKSU'ya, Ağabeyim Mustafa Cem GÖKSU'ya en derin duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Turunçgil Tristeza Virüsü.....	3
1.2. Anaç Kullanımı ve Turunçgil Anaçları	8
1.3. Markörler.....	10
1.4. Markör Destekli Seleksiyon	13
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	17
2.1. Turunçgillerde Markırlar Yardımı ile Erken Seleksiyon.....	17
2.1.1. Tristeza Dayanıklılığı ile ilgili Erken Seleksiyon Çalışmaları	17
2.1.2. Turunçgillerde Uygulanan Diğer MAS Çalışmaları.....	22
2.1.3. Bahçe Bitkileri Türlerinde Yapılan MAS Çalışmalarına Örnekler	25
3. MATERYAL VE METOD	27
3.1. Materyal.....	27
3.1.1. Bitkisel Materyal	27
3.1.1.1. Yerli Üç Yapraklı (Poncirus trifoliata var. Yerli).....	27
3.1.1.2. Rubidoux Üç yapraklısı (Poncirus trifoliata var. Rubidoux)...	27
3.1.1.3. Gou Tou Turuncu (Citrus aurantium var. “Gou Tou”).....	28
3.1.1.4. Sunki Mandarinini (Citrus sunki (Hayata) hort. ex Tanaka)	28
3.1.1.5. Çin Turuncu (Citrus myrtifolia Rafinesque).....	28
3.2. Metot	29

3.2.1. Klasik Melezlemelerin Yapılması	29
3.2.2. DNA izolasyonu	30
3.2.3. DNA Kalite ve Kantitesinin Belirlenmesi	32
3.2.4. Kullanılan primerler, RAPD Reaksiyon Koşulları ve Agaroz Jel Elektroforezi	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	39
4.1. DNA İzolasyonu.....	39
4.2. PCR Reaksiyon Sonuçları.....	40
4.3. Kullanılan Primerlerin Başarı Oranları.....	66
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR.....	75
ÖZGEÇMİŞ.....	91
EKLER	92

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1. Dünyada en fazla turunçgil üretimi yapılan ülkeler.....	2
Çizelge 1.2. Bölgelere göre turunçgil alan ve üretim miktarı	2
Çizelge 1.3. Turunçgiller ve diğer meyvelerin ihracat miktarları	3
Çizelge 2.1. Mandarinlerde ıslah amaçlı haritalanan özellikler	23
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan ebeveynler ve melez bitki sayıları	27
Çizelge 3.2. CTAB çözeltisi bileşen miktarları ve konsantrasyonları.....	30
Çizelge 3.3. PCR bileşenleri ve miktarları.....	33
Çizelge 3.4. Kullanılan primerler ve baz diziliş sıraları.....	34
Çizelge 3.5. 10X konsantrasyona sahip TBE bileşenleri	36
Çizelge 4.1. Cristofani ve ark, (1999)'nın belirlediği primerlerin tarama sonuçları.....	40
Çizelge 4.2. Fang ve Roose (1999)'un belirlediği primerlerin tarama sonuçları.....	40
Çizelge 4.3. Mestre ve ark, (1997a)'nın belirlediği primerlerin tarama sonuçları.....	41
Çizelge 4.4. Mestre ve ark, (1997b)'nın belirlediği primerlerin tarama sonuçları.....	41
Çizelge 4.5. Fang ve ark, (1998)'nin belirlediği primerlerin tarama sonuçları	41
Çizelge 4.6. Fang ve ark, (1998)'nin kullandığı ebeveyn bitkiler	45
Çizelge 4.7. Primerlerin Sunki mandarini x Rubidoux melezlerine ait başarı oranları	67
Çizelge 4.8. Primerlerin Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerine ait başarı oranları.....	68
Çizelge 4.9. Primerlerin Çin turuncu x Rubidoux üç yapraklısı melezlerine ait başarı oranları.....	69



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1.	Tristeza virüs partikülünün görünümü	4
Şekil 1.2.	Virüs enfekteli ağaçların görünümü.....	5
Şekil 1.3.	Kahverengi yaprak biti (<i>Toxoptera citricida</i> (Kirkaldy))	6
Şekil 3.1.	DNA izolasyonunda kullanılan taze yapraklar.	30
Şekil 3.2.	DNA izolasyon aşamaları. (A. 65°C’de bekletilme aşaması, B. CTAB ve kloroform eklendikten sonra santrifüj sonrası fazlara ayrılma, C.,D. Süpernatant kısmın alınması ve yeni tüpe aktarılması, E. Süpernatant üzerine kloroform:isoamil alkol eklenmesi, F. Süpernatant üzerine isopropanol eklendikten sonra DNA’nın bulut şeklinde yoğunlaşması)	32
Şekil 3.3.	DNA miktar ve kalite ölçümü.....	32
Şekil 3.4.	Agaroz jel elektroforezi (A. Agarozun tartılması, B. Agaroz ile TBE çözeltisinin erlene koyulması, C. Agarozun mikrodalga fırında çözündürülmesi, D. çözeltinin soğutulması, E. Agaroz jelin elektroforez tepsisinde donması, F. Jel tepsisinin tanka koyulması, G. Örneklerin jele yüklenmesi)	37
Şekil 4.1.	Sunki mandarini x Rubidoux melezlerine ait görüntü	43
Şekil 4.2.	Çin turuncu x Rubidoux melezlerine ait görüntü.....	43
Şekil 4.3.	Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerine ait görüntü	44
Şekil 4.4.	(A) 1.-6. Populasyonlara ait birleştirilmiş bağlantı haritası, (B) 7.-9. Populasyonlara ait birleştirilmiş bağlantı haritası, (C) Join map 2.0 programı kullanılarak oluşturulmuş 10 populasyona ait ortak harita. (MAP MAKER 3.0.) Uzaklık birimi cM’dir (Fang ve ark., 1998).	45
Şekil 4.5.	Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPAD08 primerine ait jel görüntüsü.....	46

Şekil 4.6.	Sunki mandarini x Rubidux melezlerinde OPC19 primerine ait jel görüntüsü.....	47
Şekil 4.7.	Sunki mandarini x Rubidux melezlerinde OPT09 primerine ait jel görüntüsü.....	47
Şekil 4.8.	Çin turuncu x Rubidux melezlerinde OPAD08 primerine ait jel görüntüsü	48
Şekil 4.9.	Çin turuncu x Rubidux melezlerinde OPC19 primerine ait jel görüntüsü	48
Şekil 4.10.	Gou tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPG06 primerine ait jel görüntüsü.....	49
Şekil 4.11.	Gou tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPT09 primerine ait jel görüntüsü.....	49
Şekil 4.12.	Gou tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPZ16 primerine ait jel görüntüsü.....	50
Şekil 4.13.	<i>P. trifoliata</i> genetik haritasının 1. bağlantı grubu (Cristofani ve ark., 1999).....	51
Şekil 4.14.	Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPW18 primerine ait jel görüntüsü.....	52
Şekil 4.15.	Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPAT07 primerine ait jel görüntüsü.....	52
Şekil 4.16.	Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPA04 primerine ait jel görüntüsü.....	53
Şekil 4.17.	Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPM05 primerine ait jel görüntüsü	53
Şekil 4.18.	Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPW18 primerine ait jel görüntüsü	54
Şekil 4.19.	Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPAV11 primerine ait jel görüntüsü	54

Şekil 4.20. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPAW18 primerine ait jel görüntüsü.....	55
Şekil 4.21. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPAV12 primerine ait jel görüntüsü	55
Şekil 4.22. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPG18 primerine ait jel görüntüsü	56
Şekil 4.23. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPO07 primerine ait jel görüntüsü	57
Şekil 4.24. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPW18 primerine ait jel görüntüsü	57
Şekil 4.25. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPW18 primerine ait jel görüntüsü.....	58
Şekil 4.26. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPO07primerine ait jel görüntüsü.....	58
Şekil 4.27. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPA15 primerine ait jel görüntüsü.....	58
Şekil 4.28. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPO07 primerine ait jel görüntüsü	59
Şekil 4.29. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPG18 primerine ait jel görüntüsü	59
Şekil 4.30. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPD07 primerine ait jel görüntüsü.....	60
Şekil 4.31. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPK16 primerine ait jel görüntüsü.....	60
Şekil 4.32. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPE04 primerine ait jel görüntüsü.....	61
Şekil 4.33. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPG19 primerine ait jel görüntüsü.....	61

Şekil 4.34. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPD07 primerine ait jel görüntüsü	62
Şekil 4.35. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPG09 primerine ait jel görüntüsü	62
Şekil 4.36. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPG19 primerine ait jel görüntüsü	63
Şekil 4.37. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPD07 primerine ait jel görüntüsü	63
Şekil 4.38. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPE04 primerine ait jel görüntüsü	64
Şekil 4.39. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPG09 primerine ait jel görüntüsü	64
Şekil 4.40. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPG19 primerine ait jel görüntüsü	65
Şekil 4.41. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPK16 primerine ait jel görüntüsü	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	: Santigrat Derece
µl	: Mikrolitre
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism
BAC	: Bacterial artificial chromosome
CAPS	: Cleaved Amplified Polymorphic Sequences
cM	: Santimorgan
CTAB	: Cetil trimetil amnyum bromid
CTV	: Citrus Tristeza Virüsü
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Ethylenediaminetetraasetik asid
g	: Gram
MAS	: Marker Assisted Selection
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
nm	: Nanometre
PCR	: Polymerase Chain Reaction
QTL	: Quantitative Trait Locus
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphism of DNA
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeat
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Region
SRAP	: Sequence-related Amplified Polymorphism



1. GİRİŞ

Turunçgillerin anavatanı Hindistan'ın kuzeyi, Himalayaların ılık güney yamaçlarıdır. Buradan zamanla Çin'e kadar yayılmıştır. Roma'ya Mısır ve Filistin'den ihracat yolu ile yayıldığı bilinmektedir. İspanya'nın fethedilmesinden sonra koloni döneminde turunçgiller dünyaya tanıtılmaya başlanmıştır (Spreen, 2010).

Turunçgiller *Rutaceae* familyası, *Aurantoideae* alt familyası, Citrus alt cinsi içinde yer almaktadır. Küçük ve orta boylu, çalı veya ağaç formda olup, tropik ve subtropiklerde yetiştirilen bitkilerdir (Manner ve ark, 2006). Turunçgiller içerisinde *Citrus* cinsi ve yakın cinslerin diploid kromozom sayıları 18'dir ($2n=18$) (Soost ve Cameron, 1969).

Turunçgillerin, dünyadaki üretim miktarı 137.845.380 milyon ton, üretim alanı ise 8.909.949 ha'dır. Türkiye'de 130.497 ha'lık üretim alanında 3.783.517 milyon ton üretim yapılmaktadır (FAO, 2017).

Dünyada en büyük turunçgil üreticisi ülke 34.926.500 milyon ton üretimle Çin olup, onu sırasıyla Brezilya, Hindistan ve Meksika izlemektedir. Türkiye ise turunçgil üretiminde 3.783.517 milyon ton üretim ile dokuzuncu sırada yer almaktadır (Çizelge 1.1). Bu üretim, aynı zamanda dünya turunçgil üretiminin yaklaşık % 3' ünü oluşturmaktadır. Türkiye, Akdeniz ülkeleri içerisinde İspanya ve Mısır'dan sonra 3. sırada yer almaktadır (FAO, 2017).

Çizelge 1.1 Dünyada en fazla turunçgil üretimi yapılan ülkeler (FAO, 2017)

Ülkeler	Üretim Miktarı (ton)	Üretim Yüzdesi (%)
Çin	35.469.287	26
Brezilya	19.073.914	14
Hindistan	11.146.630	8
Meksika	7.823.498	6
İspanya	7.055.427	5
ABD	6.803.885	5
Mısır	4.404.979	3
Nijerya	3.783.826	3
Türkiye	3.783.517	3
Arjantin	2.884.980	2

Turunçgiller, Türkiye meyve üretiminin %24,7'sini karşılamaktadır ve meyve grupları içerisinde en fazla üretim miktarına sahip olan meyvelerdir (TÜİK, 2017).

Çizelge 1.2. Bölgelere göre turunçgil alan ve üretim miktarı (TÜİK,2017)

Bölgeler	Alan (da)	Üretim Miktarı (ton)	Üretim Yüzdeleri (%)
Akdeniz Bölgesi	1.139.066	3.728.586	86,85
Ege Bölgesi	204.343	545.167	12,70
Marmara Bölgesi	8.720	12.420	0,29
Karadeniz Bölgesi	2.531	6.834	0,16
TÜRKİYE TOPLAM	1.354.660	4.293.007	100,0

Ülkemiz turunçgil üretiminin %86,8'ini Akdeniz bölgesi, %12,7'sini Ege bölgesi, %0,29'unu Marmara bölgesi, %0,15'ini ise Karadeniz bölgesi

karşılmaktadır (Çizelge 1.2). Karadeniz bölgesinin üretimi içerisinde Doğu Karadeniz bölgesinin payı yüksektir (TÜİK, 2017). Ülkemizde 2016 yılında toplam 42.364.546 adet turunçgil ağacı bulunmaktadır (TÜİK, 2017). Toplam ağaç sayısının %83'ü Akdeniz bölgesindedir.

Çizelge 1.3. Turunçgiller ve diğer meyvelerin ihracat miktarları (TÜİK, 2017)

Yıllar	Turunçgiller (ton)
2015-2016	1.741.021
2014-2015	1.689.944
2013/2014	1.598.734
2012/2013	1.253.447
2011/2012	1.631.210
2010/2011	1.548.275

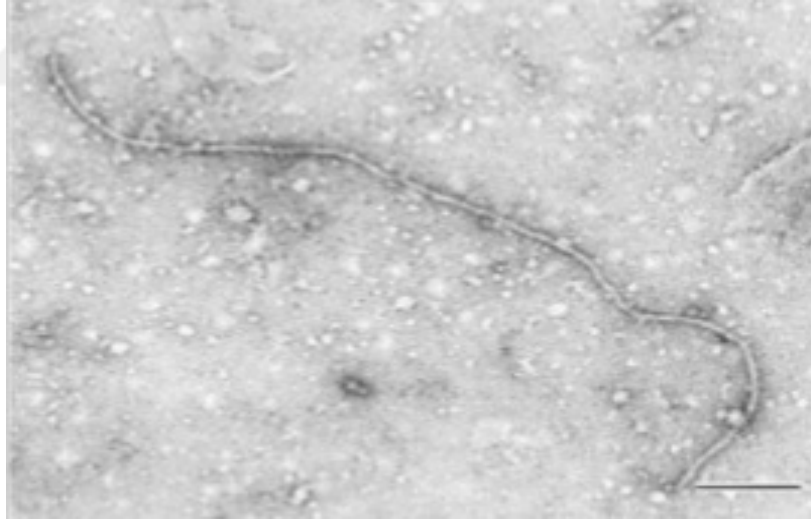
Turunçgillerin yıllara göre ihracat miktarları incelendiği zaman Çizelge 1.3'de de görüldüğü gibi ihracat miktarı fazla olan tarımsal ürünlerden birisidir. Dolayısı ile bu miktarın fazlalığı ülkemize ve çiftçilerimize ekonomik kazanç olarak geri döneceği anlamına gelmektedir.

1.1. Turunçgil Tristeza Virüsü

Ülkemizde bulunan ve yetiştiriciliği yapılan kültür bitkilerinde kayıplara neden olan toplam 528 hastalık etmeni, yabancı ve zararlı ot bulunmaktadır. Bunları yok etmeye yönelik mücadele çalışmaları yapılmadığı durumlarda ortalama % 35 dolaylarında ürün kaybına neden olmaktadır. Bu kayıp bitkiye, zararlının tür ve yoğunluğuna bağlı olarak % 100'lere çıkabilmektedir (Anonim, 2011). Üretimi düşüren ve kaliteyi etkileyen bu hastalıklardan birisi de turunçgil tristeza virüsü (CTV)'dür.

Tristeza virüsü, *Closteroviridae* familyası, *Closterovirus* cinsi içerisinde yer almaktadır. Bu virüs, Citrus quick decline virüs, Hassaku dwarf virüs, Lime

dieback, Seedling yellow olarak da bilinir. CTV, ipliksi yapıda partiküllerden oluşan, 2000 x 10-12 nm boyutunda, tek iplikçikli, iki kapsid proteinini kodlayan, pozitif polarlı, genom büyüklüğü yaklaşık olarak 19.3 kb uzunluğundaki RNA molekülünden meydana gelmektedir. Genomda 12 open reading frames (ORF) ve iki non-translated region (NTR) bölgeleri bulunmaktadır. ORF bölgelerinden 1a ve 1b bölgeleri genomik RNA'nın translasyonunda ve RNA replikasyonu sırasında proteinlerin şifrenmesinde görev yapar. Diğer ORF bölgeleri virionların bir araya gelmesi ve hücreden hücreye taşınması, RNA replikasyonu sırasında pozitif ve negatif polarlı RNA'ların asimetrik olarak birikmesi, transkripsiyon sonrası gen susturma ve baskılama, konukçu bitkilerin istilası olaylarında görev alır (Bar-Joseph ve ark, 1989; Karasev ve ark, 1995; Moreno ve ark, 2008; Folimonova, 2012). CTV, dünyada var olan virüsler arasında turuncgillerde büyük zararlar meydana getirir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Tristeza virüs partikülünün görünümü (Albiach-Marti, 2013).

Machado ve ark (2011), Tristeza virüsünün genellikle ağaçlarda iki farklı formda belirti gösterdiğini belirtmiştir. Gövde çukurlaşmasında meyve iriliği ve

verimliliğin azaldığı, ani ölümden ise bitkinin kısa sürede öldüğü bildirilmiştir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Virüs enfekteli ağaçların görünümü (Anonim, 2017a)

Tristeza, dünyada turuncgil yetiştiriciliğinin yapıldığı her kıtada salgın yapmış ve bu salgınla mücadele yolları araştırılmıştır. Yunanistan (Chatzivassiliou ve Nolasco, 2014), İtalya (Davino ve ark, 2005; Abou Kubaa ve ark, 2012), İspanya (Ballester-Olmos ve ark, 1993), Hindistan (Ghosh ve ark, 2014), İran (Nasrollanejad, 2012), Pakistan (Arif ve ark, 2005) ve Suriye (Kubaa ve ark, 2012) gibi ülkelerde salgın yapmış, etkili vektörleri aracılığı ile turuncgil bahçelerini hızlı bir şekilde yok ettiği gibi turuncgil endüstrisini büyük zararlara uğratmıştır.

Tristeza virüsünün yayılmasında en önemli vektör yaprak bitleridir. Başlıca vektörleri *Aphis spiraecola*, *A. gossypii*, *T. aurantii* (Afechtal ve ark, 2015) ve kahverengi yaprak biti *Toxoptera citricida* (Kirkaldy) olarak bilinmektedir (Michaud, 1998; Hughes ve Gottwald, 1999). Ancak en etkili vektörü Brown Citrus Aphids (BCA) olarak da bilinen kahverengi yaprak bitidir ve hastalığı *A. gossypii*'den 6-25 kat daha hızlı yaydığı bildirilmiştir (Herron ve ark, 2006; Ghosh

ve ark, 2014; Yokomi ve ark, 1994). Turunçgil endüstrisi için özellikle de turunçgil kahverengi yaprak biti olan bölgelerde tehdit durumundadır (Fang ve Roose, 1999).



Şekil 1.3. Kahverengi yaprak biti (*Toxoptera citricida* (Kirkaldy)) (Anonim, 2017b, c, d)

Tristeza virüsü, aşı gözü ve aşılama yoluyla yayıldığı gibi, en önemli yayılma yolu ise yaprak biti vektörleridir. Hastalık etmeni tohumla veya mekanik olarak kesici aletlerle taşınmaz (Kersting ve Özden, 2004). Bu hastalık yurt dışından ülkemize getirilen Washington ve Yafa portakalı, Gold Nugget ve Rize mandarini, ayrıca Kumquat gibi yabancı çeşitlerde saptanmıştır (Cengiz ve ark, 1976).

Tristeza virüsü, turunçta soymuk borularında nekrosisler meydana getirmekte ve sonunda köklerin besin yolu kapanmakta ve ağaç aniden ölmektedir (Özsan, 1964; Garnsey ve ark, 2005).

Tristeza hastalığının belirtileri şunlardır. Aşı yerinin altında anaç olarak kullanılan turunç kabuğunun iç yüzünde, arı peteğine benzeyen ve çıplak gözle görülebilen delikler oluşur. Bu belirtiler, gövdenin etrafında tamamen ve de yer yer lekeler halinde görülebilir. Kabuğun bu deliklerine denk gelen gövdenin dış odun kısmı incelenirse burda da küçük diken gibi çıkıntılar görülür. Kesin sonuç Mexican lime denen indikatör bitkisine hastalıklı ağaçtan alınan aşı kaleminin aşılması ile mümkündür (İren, 1966). Bu virüs, yapraklarda gövdede, meyvede ve köklerde kendini gösterir.

Tristeza virüsü, bitki sayısını hızlıca azaltır, turunç (*Citrus aurantium*) üzerine aşılı bitkilerin ölümüne neden olur ve anaca bağlı olmaksızın portakal ve altınopta gövde çukurlaşması (stem pitting) denen hastalığa yol açar. CTV salgını 1930'larda patlak verdiğiinden bu yana, 60 milyondan fazla ağacı yok etmiştir. Amerika'da ve diğer ülkelerde, sıkı karantina önlemleri ve CTV enfekteli ağaçların bahçeden çıkarılması ile CTV'nin zararı azaltılmıştır.

Tristeza virüsü Mexican lime bitkisinin yapraklarında "vein clearing"e sebep olur (Perez-Clemente ve ark, 2014). Mandarin, kaba limon ve tatlı portakal CTV'ye toleranttır.

Tristeza virüsü özellikle turunç anacı üzerine aşıl原因mış portakal çeşitlerini etkilemektedir. Bu hastalık ağaçlarda genel bir bodurlaşmaya, sürgün ve dallarda çalılaşma ve geriye ölüm görüntüsüne neden olur. Ayrıca Tristeza virüsü, yapraklarda donuk yeşil bir renk oluşumuna ve zaman zaman damarlarda renk açılmasına sebep olur. Tristeza'dan etkilenmiş olan ağaçlar Tristeza'nın ırkına ve şiddetine bağlı olarak, ağaçların çok kısa sürede ölümüne neden olabilir veya ağaçlar aşırı bodur ve verimsiz halde yıllarca yaşamlarını sürdürebilirler. Bunun yanında tristeza virüsü, küçük meyve oluşumuna ve hasta ağaçlarda aşı yerinde şişmeye neden olur (Kersting ve Özden, 2004).

Türkiye'de, tristeza virüsünün varlığı 1963'te resmi olarak rapor edilmiştir. İlk bulgulardan sonra farklı turunçgil yetiştirilen alanlarda virüsün varlığını belirlemek, CTV ırklarını ayırmak, yayılışını anlamak amacıyla teknik ve bilimsel çalışmalar yapılmıştır. Bugün ülkemizde CTV'nin ve vektörlerinin (*Toxoptera citricidus* haricinde) olduğu bilinmektedir. Yapılan gözlemlerde CTV virüsünün yayılımı kontrol altındadır. Ancak, turunçgil endüstrisine hala büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Baloğlu ve Birişik, 2009). Tristeza virüsünün, Doğu ve Batı Akdeniz, Ege bölgesi ve Karadeniz bölgesinde var olduğu bilinmektedir (Erkiş, 2009; Çevik ve ark, 2013). Ancak, bu virüsün epidemiy yapacak etkili taşıyıcısı olmadığı için salgın haline gelmemiştir (Anonim, 2014a).

1.2. Anaç Kullanımı ve Turunçgil Anaçları

Meyve yetiştiriciliğinde, üretilen meyvelerden ekonomik olarak kazanç sağlanabilmesi amacı ile meyve ağaçlarının verim, meyvelerinin ise kalite yönünden pazarlanabilir olması istenir. Verim ve kaliteyi etkileyen faktörler arasında ekolojik koşullar, yetiştiricilik sırasında yapılan kültürel uygulamalar, çeşit seçimi, anaç seçimi, çeşit ve anacın uyumu, hastalık ve zararlılar yer almaktadır. Meyve ağaçlarının verim açısından ekonomik ömrünün ortalama 30-40 yıl olduğu düşünülürse anaç seçiminde çok dikkatli davranmak gerekmektedir.

Anaç, üzerine aşıllı çeşidin meyve iriliği, meyve tadı, meyve rengi, erkencilik, bodurluk, bölge ekolojik koşullarına adaptasyon, hastalık ve zararlılara dayanıklılık, verim, şeker ve asit içeriği gibi birçok özelliğini etkiler (Martínez-Cuenca, 2016; Hajagos ve ark, 2012). Turunçgillerde ise bu sayılan faktörlere ek olarak ağaç gelişimi, periyodisite, meyve dökümü, ağaç boyu, kabuk kalınlığı, meyve suyu rengi ve içeriği gibi faktörler anaç tarafından etkilenir (Martínez-Cuenca, 2016).

Bitters (1964), dünya turunçgil tarımında turunç, tatlı portakal, kaba limon, pomelo, üçyapraklı portakal, mandarin, lime, citron gibi türlerin anaç olarak kullanıldığını bildirmektedir. Bu anaçlar hastalık ve zararlılara ve de ekolojik koşullara dayanım konusunda yetersiz kaldıklarında, *Citrus*, *Poncirus* ve *Fortunella* ile turunçgillerin yakın akrabaları olan diğer çeşitli cinslerin tür ve çeşitleri ve hatta bunların çok çeşitli melezleri geniş ölçüde anaç seçme imkanı verebilmektedir (Özsan, 1964).

Türkiye’de Karadeniz bölgesi haricinde yaygın olarak kullanılan anaç turunçtur. Turunç alkali topraklarda rahatlıkla yetişebilmekte ve Akdeniz bölgesinin yarı kurak toprak koşullarına iyi adapte olabilmektedir (Asins ve ark, 2004). Ege ve Karadeniz bölgelerinde ise turunçgillere anaç olarak üç yapraklı kullanılmaktadır (Özsan, 1964; Kafa ve Canihoş, 2010). Ege Bölgesinde kullanılan üç yapraklı anacı yerini zamanla Carrizo ve Troyer sitranjına bırakmıştır (Uzun ve ark, 2013). Özellikle Akdeniz bölgesinde kullanılan turunç anacı, üzerine aşıl原因

çeşitlerle uyuşabilir olması ve meyve kalitesi üzerinde olumlu etkileri olmasına rağmen ağaçlara çok büyük zararlar veren ve üretim potansiyelini düşüren Tristeza virüsüne karşı hassastır. Virüsün aşırı miktarda çoğalması bitkinin hızlı bir şekilde ölümüne neden olur (Mirkov ve Prewett, 2002).

Turunçgillerde çekirdeksiz çeşitlerin bulunması, nüseller embriyonu, gençlik kısırlığı, aşırı dikenlilik, ağaç yüksekliği, tuzluluk, alkalilik gibi problemler anaç kullanımını gerektirmektedir (Bitters, 1986). Dünyada ve Türkiye’de turunçgiller üzerinde biyotik ve abiyotik etmenlerden kaynaklanan olumsuzlukları ortadan kaldırmak amacıyla yapılan ıslah çalışmaları devam etmektedir. Tuzcu ve ark, (1998) değişik turunçgil anaçlarında Yafa, Valensiya ve Washington navel, Moro portakallarının, İtalyan memeli ve kütdiken limonu; Marsh seedless, Red blush altıntopu, Satsuma mandarininde meyve verimi üzerine etkisini incelemişlerdir. Açıkalin-Cücü ve ark, (2008), İnterdonato limonunda Carrizo sitranjı, Troyer sitranjı ve turunç anaç olarak seçilmiş ve bu anaçlar üzerinde verim, kalite ve ağaç gelişimleri incelenmiş ve en iyi sonuç turunç anacından elde edilmiştir. Çukurova’da limon dışında kalan turunçgil türlerinde Carrizo sitranjı anacının turunca alternatif olabileceği tespit edilmiştir. Fakat Carrizo sitranjının çok yüksek pH gösteren yerlerde turunç kadar başarılı olamadığı gözlenmektedir (Kafa ve Canihoş, 2010).

Cengiz ve ark (1976), yaptıkları çalışmada, Akdeniz bölgesinde virüs hastalıklarının yayılışını önlemek ve yeni tesislere virüsten ari ve sağlıklı aşı materyali verebilmek amacıyla araştırmaların 1956 yılında başladığını bildirmiştir.

Florida’da meydana gelen don olayları ve 1920’li yıllardaki Tristeza (Göçüren) salgını sonunda dünyada turunçgil anaçları üzerine ciddi çalışmalar yapılmaya başlanmış ve değişik özellikte anaçlar ortaya çıkarılmıştır (Anonim, 2014b).

Turunçgil tarımında önceden önem verilen bazı anaçlar çeşitli hastalıklar sebebiyle yavaş yavaş değerlerini kaybetmeye başlamışlardır. Değer kaybeden anaçlardan birisi de turunçtur. Turunç iyi vasıflı bir anaç olup bilhassa değişik

karakterli toprak şartlarına elverişli ve Phytophthora'ya karşı oldukça dayanıklıdır. Bununla beraber turunç, son zamanların en önemli virus hastalıklarından birisi olan Tristeza hastalığına dayanıklı değildir (Özsan, 1964). Akdeniz bölgesinde turunç anacının yaygın olarak kullanıldığı düşünülürse, Tristeza'nın ülkemizdeki üretim alanlarına yayılması durumunda en fazla üretimin yapıldığı Akdeniz bölgesini etkilemesi beklenmektedir.

Virüs hastalıkları ile tek başına mücadele yöntemi yoktur ve kimyasal mücadele yapılamaz. Bahçedeki yabancı ot temizliğine ve hastaliksız aşı gözü eldesine, sertifikalı fidan kullanımına dikkat edilmesi gerekmektedir (Baloğlu, 2017). Virüs ile enfekte olmuş ağaçları sökmekten başka mücadele yolu yoktur (Mirkov ve Prewett, 2002).

1.3. Markörler

Bitki ıslahının amacı, melezleme ıslahı ile tarımsal değeri olmayan, istenmeyen özellikleri eleyip; tarımsal değeri olan, arzu edilen üstün özellikleri bitkiye kazandırmaktır. Bu aktarım genler aracılığı ile sağlanmaktadır. Islah çalışmalarında, mayoz bölünme sırasında meydana gelen krossing-over (parça değişimi) olayı ile arzu edilen genin elde edilen tüm melez bitkilere aktarılması söz konusudur. Krossing-over olayı sonunda, çok sayıda, genetik yapı olarak birbirinden farklı bitkiler meydana gelir. Farklı bitkiler arasından istenilen genin aktarıldığı bitkinin seçimi hem ıslah süresini kısaltmak hem de ıslahın etkinliğini artırmak açısından önem arz etmektedir. Bu seçimde ise yol gösterici belirteçler olarak '**markör**'ler kullanılmaktadır.

Markörler, en basit tanımı ile istenilen genetik özelliğin varlığını gösteren belirteçlerdir. Bu belirteçler morfolojik özellikler; biyokimyasal maddeler; DNA'lar olabilirler.

Tarihsel süreç içerisinde değerlendirildiğinde karşımıza üç farklı genetik markör tipi çıkmaktadır. Bunlar sırasıyla; morfolojik markörler, biyokimyasal markörler ve moleküler markörlerdir.

Morfolojik markörlerde, yaprak şekli, çiçek rengi, kabuk rengi, meyve şekli, tohum rengi, tohum şekli, kök uzunluğu (Jiang, 2013) gibi özelliklerle yani bitkinin dış görünüşüne ait özelliklere bakılarak genetik yapısındaki farklılık açıklanmaya çalışılmaktadır. Ancak morfolojik yapıdaki bu tür farklılıkların azlığı ve türler arası farklılığı bulup tür içerisindeki genetik farklılığı tamamen ortaya çıkaramaması bu markörün kullanılabilirliğini kısıtlamıştır.

İzoenzim ve tohum depo proteinleri gibi biyokimyasal markırlar kullanılarak genetik yapıdaki farklılık ortaya çıkarılabilmektedir. Aynı görevi yapan enzimler elektroforez işleminden sonra farklı büyüklüklerde bant gösterir ve özel boyama yöntemleri kullanıldığında bireyler arasındaki farklılığı işaret eder (Kordrostami ve Rahimi, 2015). Ancak sayılarının az olması ve çevresel koşullardan etkilenmesi bu markırların kullanılmasını sınırlandırmıştır.

Moleküler markörler denildiğinde akıllara genetik materyal olan DNA gelmektedir. DNA'nın bireye özgü olduğu düşünülürse bireyler arasındaki farklılığı moleküler markörler çok açık bir şekilde ortaya çıkarabilmektedir. Bu özellik de moleküler markörleri morfolojik ve biyokimyasal markörlerden üstün kılmaktadır.

Moleküler markörler hibridizasyona, polimeraz zincir reaksiyonlarına (PCR) ve sekansa dayalı markörler olarak üç gruba ayrılmaktadır. İlk kullanılan markör kesilen parçaların uzunluğuna dayalı polimorfizmi ortaya çıkaran RFLP markörüdür. DNA- DNA hibridizasyonu ile bireyler arasındaki farklılığı ortaya çıkaran fazla zaman gerektiren bir tekniktir. Bu teknikten sonra daha kolay uygulanabilen, az zaman harcayan RAPD (Randomly Amplified Polimorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeat), SCAR (Sequene Chracterized Amplified Region), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) gibi PCR (Polimeraz Chain Reaction)'a dayalı markörler geliştirilmiştir. Sekansa dayalı markör ise tek nükleotit polimorfizmi olarak adlandırılan Single Nücleotid Polimorphism (SNP)'dir (Singh ve Singh, 2015).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde tür içi ve türler arası farklılıkların morfolojik, biyokimyasal ve moleküler markörler ile ortaya çıkabileceği gözlenmiştir. Ancak, morfolojik özellikler ve biyokimyasal markörler türler arasında ayırım yapabilmesine rağmen tür içindeki ayrımı ortaya çıkarmada yetersiz kalabilmekte, fenotipik özelliklerin ortaya çıkması ise ekolojik koşullardan etkilenebilir olduğundan diğer bir belirteç olan bireyler arası farklılığı genetik tabanda yapabilen moleküler markörler önem kazanmaktadır.

Moleküler markörler, genotipler arasındaki farkı DNA düzeyinde (yani DNA zinciri üzerindeki A,G,C,T bazlarının sıralanışına göre) belirleyen ve genotiplerde istenen bir geni belirlemek amacı ile kullanılan markörlerdir. Markörlerle ıslahta en önemli aşama, gene yakından bağlı markörlerin belirlenmesidir. Genetik haritalama, bağlantı haritaları ve QTL analizleri ile ıslah amacına uygun populasyonlar oluşturularak bu gene en yakın markörler tanımlanır. Tanımlanan bu markörler, konu ile ilgili yapılacak olan diğer ıslah çalışmalarında araştırmacılara kolaylık sağlamaktadır.

Moleküler markörlerden PCR'a dayalı bir yöntem olan rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) markörü genetik yapıdaki farklılığı belirleyebilen 10 bazlık dizilime sahip bir markördür. Genom üzerinde rastgele bağlanarak birden fazla DNA parçası üretir. Genom dizisi hakkında ön bilgiye gerek yoktur, çok yüksek saflıkta ve miktarda DNA'ya ihtiyaç yoktur, genom haritasına ihtiyaç duyulmadan istenilen genin varlığını gösterebilir. Hızlı, basit ve pratik bir yöntem olup radyoaktiviteye ihtiyaç duyulmaz. RAPD markörü, genetik haritalama ve bağlantı haritalarının oluşturulmasında, genetik karakterizasyonda, bitki türlerinin genetik akrabalıklarının belirlenmesinde, hibritlerin belirlenmesi, populasyonlar arası ve populasyon içi genetik çeşitliliğin belirlenmesinde, bitki ve hayvan ıslahında, rahatlıkla kullanılabilir. Ancak bu markörün homozigot ve heterozigot bireyler arasında tam ayırım yapamaması, tekrar edilebilirliğinin düşük olması kullanımını sınırlayan durumlar arasındadır (Öz Aydın, 2004; Kumari ve Thakur, 2014).

1.4. Markör Destekli Seleksiyon

Markör destekli seleksiyonun tarımsal açıdan önemli, bir ya da birden fazla gen veya lokus tarafından idare edilen özelliklerin hızlı bir şekilde kalıtılmasını sağladığı bilinmektedir (Söylemezoğlu ve ark, 2010).

Geleneksel ıslahta, melezleme ıslahı ile elde edilen bitkilerde istenilen özelliğin ortaya çıkması uzun zaman almaktadır. Özellikle meyvelerde gençlik kısırlığı, periyodisite gibi durumların görülmesi meyvelerden elde edilen tohum ya da çekirdeklerden oluşacak olan yeni bitkilerin elde edilmesini zorlaştırmakta ve zaman kaybı olmaktadır. Ayrıca genotip ve çevre etkileşiminden dolayı istenilen bitkinin seçimi zor olmaktadır (Aycan ve ark, 2015). Geleneksel ıslahın, istenilen geni direkt olarak belirleyebilecek kantitatif özellik lokusları (QTL) ve moleküler markör yöntemleri ile hızlandırılması gerekir (Cristofani ve ark, 1999).

Markör destekli ıslah çalışmaları, klasik bitki ıslahı ile moleküler biyoloji ve genetik çalışmalarını kombine eder (Anonim, 2014c). Bu kombin bitki ıslah çalışmalarında yapılan daha önceden bulunan, aranılan genin varlığını gösteren markörlerin yeni oluşturulan melez bitkilerde kullanılması ya da genetik kaynakların taranması sonucunda elde edilen bitkiler ile markör destekli seleksiyon gerçekleştirilir.

Markörlerle ıslahta en önemli aşama, gene yakından bağlı markörlerin belirlenmesidir. Bu markörlerin genetik haritalama ve QTL ile belirlenmesi sonucunda gene en yakın markörler tanımlanır (Anonim, 2014d). Tanımlanan markörler, konu ile ilgili yapılacak olan diğer ıslah çalışmalarında araştırmacılara kolaylık sağlamaktadır. Islahçının ıslah süresinin kısalmasına, alan ve işgücünden kazanç sağlamasına yardım etmiştir (Aksu ve Şahin-Çevik, 2014).

Markörler yardımı ile seleksiyon çalışmaları gen kaynaklarının tespit edilmesi ve koruma altına alınması, ıslah süresinin kısaltılması (Aksu ve Şahin-Çevik, 2014), gen piramitlerinin oluşturulmasında, geri melez ıslahında aktarılan genin seçimi, erken seleksiyon gibi amaçlarla tarımda kullanılmaktadır (Eserkaya-Güleç ve ark, 2010).

Bahçe bitkilerinin ilgilendiği süs bitkileri, bağcılık, meyvecilik ve sebzeçilik alanlarında yapılan ıslah programlarında markırlarla seleksiyon yaygın bir şekilde uygulanmaktadır.

Bitkiler; virüs, bakteri, fungus, nematod ve böcekler tarafından saldırıya uğramaktadırlar. Bitkiler bunlara karşı kendilerini koruyacak bağışıklık sistemlerine sahip değillerdir. Bununla birlikte kendilerini korumak için ya devamlı ya da teşviklenme durumunda faaliyete geçen antimikrobial savunma mekanizmaları ve dayanıklılık genleri (R) taşımaktadırlar. Dayanıklılık ıslahının amacı, dayanıklı genlerinin belirlenmesi, kültür bitkilerine aktarılması ve klonlanmasıdır. Dayanıklılık genlerinin belirlenmesi, geleneksel yöntemlere göre uzun zaman almakta ve gözlemlemek zordur. Moleküler markörler kullanılarak bu zorluklar ortadan kaldırılmaktadır (Devran, 2003).

Bitki ıslahçıları, hastalıkların kontrolünde hastalığa dayanım genlerini (R genleri) kullanmaktadırlar. Farklı patojenlere dayanım sağlayan, klonlanan R genlerinin, genler tarafından kodlanan proteinlerle ortak özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, bitkilerin, patojen olmayan etmenlere karşı dayanımın ifade edilmesi için ortak bir sinyal iletim mekanizması oluşturabileceğini ileri sürmektedir. Patojeni tanıma ve diğer moleküler çalışmalar moleküler işaretlerin karakterizasyonu sonucunda belirlenmiştir. Bu moleküler olaylarla, dayanımın ifadesini belirlemek, bitki hastalıklarının kontrolünde yeni gelişimlere yol açar (Staskawicz ve ark, 1995).

Bitkilerde dayanıklılık yapısal, biyokimyasal ve genetik dayanıklılık olmak üzere üç şekilde ortaya çıkmaktadır. Genetik dayanıklılık nesilden nesile aktarılabilirdiği, ıslah ve genetik mühendisliği çalışmalarıyla dayanıklı bitki elde etme programlarında kullanılabildiği için oldukça önemlidir. Genetik dayanıklılıkta resesif ve dominant genlerle (NBS- LRR) korumanın yanı sıra RNA susturma olarak bilinen genin aktivasyonunu değiştiren ya da azaltan savunma mekanizması rol oynamaktadır (Revers ve Nicaise, 2007; Değirmenci ve Ertunç, 2010; Çandar ve Erkan, 2011). Ayrıca Gomez-Munoz ve arkadaşları (2016)

tarafından yapılan çalışmada turunçta dayanıklılığın virüs ırklarına bağlı olarak değiştiği ve dayanıklılığın bitkisel bir hormon olan salisilik asit ve gen susturma ile sağlanabildiği ancak, virüs ırkları değiştiğinde dayanıklılık mekanizmasının da değiştiği bildirilmektedir.

Bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmasında virüsün yaşam döngüsündeki bazı evrelerde virüsün gelişmesi bitki tarafından önlenerek dayanıklılık sağlanır. *P. trifoliata*'da tristeza virüsüne karşı dayanıklılık mekanizması çok net olarak belli değildir ancak aşırı duyarlılık (HR) mekanizmasının etkili olabileceği düşünülmektedir. *P. trifoliata*'da virüs hücre içinde replike olur ancak belirlenemeyen bir nedenle virionların birleşmesi engellenir (Albiach-Marti ve ark, 2004).

Virüsün bitkide çok fazla çoğalmaması zayıf ve güçlü virüs ırklarının birlikte aynı ağaçta bulunması, yani çapraz koruma etkisi, virüsün bulunduğu bitkinin dayanıklı olması, virüsün etkili vektörünün bulunmaması gibi nedenlerle virüsün epidemi yapması engellenir.

Dünya turunçgil endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara neden olan CTV virüsüne dayanım geni, bazı turunçgillerde doğal olarak vardır. Örnek olarak *Atlantica ceylanica* (Arn.) Oliv., *Fortunella crassifolia* Swingle, *P. trifoliata* (L.) Raf., *Severinia buxifolia* (Poir.) Ten verilebilir (Mestre ve ark, 1997c). Bu dayanım *P. trifoliata*'da **tek ve dominant** bir genle kontrol edilmektedir (Mestre ve ark. 1997b; Fang ve ark, 1998). CTV'ye dayanıklı bitkiler, virüs enfeksiyonunu önlemede önemli rol oynarlar (Mirkov ve Prewett, 2002). Bu dayanıklılık genleri *Citrus*'larla eşeysel olarak uyuşabilen *Poncirus*'larla melezleme yolu ile aktararak dayanıklı bireyler elde edilebilir.

Bu çalışma, turunçgillerde CTV'ye karşı dayanıklı anaç elde etmek amacıyla dayanıklı anaç kullanılarak yapılan melezleme çalışmaları sonucu elde edilen melez bitkilerde Tristeza'ya dayanıklılık geninin olup olmadığını moleküler markörler yardımı ile belirlemek amacıyla yürütülmüştür.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Araştırmacılar, turunçgil yetiştiriciliğini sınırlayan biyotik ve abiyotik faktörlere karşı doğada kendiliğinden var olan dayanıklı ya da tolerant gen kaynağı bitkilerin sahip oldukları bu özellikleri melezleme ıslahı ile verim ve kaliteyi artırmak adına bu genlerin eksikliği görüldüğü bitkilere aktararak hem anaç hem de çeşit geliştirme çalışmalarını sürdürmektedir. Çeşit ve anaç geliştirmenin uzun yıllar aldığı çalışmalarda ıslah süresini kısaltmaya yardımcı olan moleküler markörlerden yararlanılmaktadır. Bu bölümde özellikleri önceden tanımlanan turunçgil ve bazı meyvelerin erken seleksiyon çalışmalarına örnek olabilecek çalışmalara yer verilmiştir.

2.1. Turunçgillerde Markırlar Yardımı ile Erken Seleksiyon

2.1.1 Tristeza Dayanıklılığı ile ilgili Erken Seleksiyon Çalışmaları

Gmitter ve ark (1996), *Citrus*'larla akraba olan ve eşeysel olarak uyum sağlayan *P. trifoliata* L.'nin tristeza virüsüne dayanım genine yakın bölgenin genetik bağlantı haritası melez bireyler kullanılarak oluşturulmuştur. Bulk segregant analizi ile *Citrus* ve *Poncirus* arasında yapılan geri melezlemelerle oluşturulan melez bitkiler arasından CTV'ye dayanıklı bireyler belirlenmiştir. Toplamda 320 RAPD primeri kullanılarak tarama yapılmış ve BSA (Bulk Segregant Analizi) sonucu ile uyumlu RAPD markörleri seçilmiştir. Dört melez kombinasyonunda, 8 RAPD fragmenti *Ctv* genine bağlı bulunmuştur. Harita uzunluğu ve lokusların sırası iki farklı program ile karşılaştırılmış ve MAPMAKER programı ile 3.0 ve JOİNMAP 1.3 programı ile belirlenmiştir. Ayrıca dört geri melez familyasında JOİNMAP 1.3 programı ile de genetik harita oluşturulmuştur. Markörlerin sıraları bir markör haricinde aynı bulunmuştur. Bu familyaya spesifik dayanımla ilgili markörler tanımlanmıştır.

Mestre ve ark (1997a), CTV dayanıklılığı ile ilgili yapmış oldukları çalışmada iki populasyon kullanmışlardır. Oluşturulan ilk populasyon kendine

tozlanan *P. trifoliata* var 'Flying Dragon' bitkilerinden, ikinci populasyon ise *C. medica* L. var ethrog 'Arizona' ve *P. trifoliata* var 'Flying Dragon' melezlerinden oluşmaktadır. Çalışmada dayanıklılık genine bağlı markırları belirlemek ve her iki populasyonda dayanım geninin yerini karşılaştırmak amaçlanmıştır. Bu bitkilere tristeza virüsü inoküle edilmiş ve virüs varlığı 3, 6, 12 ay sonra Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked Assay ve Direct Tissue Blot Immunoassay testleri ile aralıklı olarak kontrol edilmiştir. Operon firmasına ait 260 RAPD primeri, bulk segregant analizi sonucunda oluşturulan dayanıklı ve duyarlı olduğu bilinen melezler ile tarama yapıldıktan sonra gene yakın olarak belirlenen primerler OPE20, OPW18, OPG18, OPK16 primerleri RFLP'ye çevrilmiştir. Her iki populasyonda farklı haritalama programları kullanılmasına rağmen lokus sıraları aynı olarak belirlenmiştir. Ancak, JOINMAP programında gen bölgesinin büyüklüğü MAPMAKER programına göre daha kısa olarak belirlenmiştir. CTV'ye dayanım geni cW18 ve cK16 markörleri arasında bulunmuştur. Belirlenen bu markörlerin markörler yardımı ile seleksiyonda kullanılabilceği belirtilmiştir.

Mestre ve ark (1997b), CTV'ye dayanımın mekanizmasını belirlemek için kendine tozlanan *P. trifoliata* var.'Flying Dragon' melezlerinde ve bu bitkiye ait iki nüseller bitkide virüsün yakın ve uzak mesafelerdeki taşınımı incelemişlerdir. CTV'ye dayanım geni markörlerle belirlenmeye çalışılmıştır. Ctr-Rr ve Ctr-RR genotipindeki bitkilerin dayanıklı olduğu, Ctr-rr genotipindeki bitkilerin ise duyarlı olduğu belirtilmiştir. Ancak, Ctr-Rr geni taşıyan bitkilerde virüs varlığına rastlanılmıştır. Bu durum, CTV'ye dayanımda *Ctr*'den başka bir genin daha etkili olduğunu göstermiştir. Bulk segregant analizi ile yapılan çalışmada *Ctm* lokusunun varlığı belirlenmiş ve bu lokusa bağlı 5 RAPD markörü (OPD07, OPE04, OPG09, OPG19, OPK16) tanımlanmıştır. Dayanımda bu iki genin birlikte etkili olduğu belirtilmiştir.

Deng ve ark (1997), yaptıkları çalışmada türlerarası geri melezlerde bulk segregant analizi uygulanarak, tek genle kontrol edilen dayanım genini 12 adet RAPD markörü ile belirlemişlerdir. Bu markörlerle ve daha önceki çalışmalardan

belirlenmiş 8 markörle *Ctv* gen bölgesi haritalanmıştır. *Ctv* geni etrafında 2,5 cM uzaklıkta 9 adet markör belirlenmiştir. Dayanım genine bağlı 20 RAPD marköründen yedisi klonlanıp ve sekanslanmıştır. Bu sekanslar ile SCAR markörü geliştirmek için uzun primerler tasarlanmıştır. Bu SCAR markörünün, markörlerle seleksiyon çalışması, yüksek çözünürlüklü haritalama, klonlamaya dayalı haritalama için güvenilir bir şekilde kullanılabilmesi belirtilmiştir. Klonlanan 7 RAPD markörü, tekrar tasarlanıp, PCR parametreleri optimize edilerek, çoğalma ürünleri kesilerek SCAR markörüne dönüştürülmüştür. Bu 7 markörden 4'ü dominant olarak belirlenmiştir, diğer 3 markör ise kodominant olarak belirlenmiştir. Farklılığın belirlendiği iki genomik bölge iki adet SCAR markörü ile belirlenmiştir.

Fang ve ark (1998), genetik haritalama çalışmasında belirledikleri 10 melez kombinasyonundan (Çizelge 2.1), elde edilen 554 melez birey üzerinde CTV'ye dayanım geninin markörlerini RAPD ve RFLP markörleri ile belirlemişlerdir. PCR'a dayalı markörler bulk segregant analizi ile belirlenmiştir. *Ctv*'ye en yakın 11 markörden 2'si tüm populasyonda açılım göstermiştir. On markör ise klonlanıp sekanslanarak ko-dominant RFLP markörü geliştirilmiştir. Yapılan haritalama sonunda markörlerin *Ctv* geninin 5.3 cM etrafında dağıldığı gözlenmiştir (Şekil 2.1). Z16'nın *Ctv* ile beraber açılım gösterdiği görülmüştür. C19 ve AD08 markörlerinin ise *Ctv* geninin flanking (korunmuş) bölgelerinde olduğu gene sırasıyla 0.5 ve 0.8 cM uzaklıkta olduğu belirtilmiştir. Kullanılan iki farklı haritalama programında gen sıralarının aynı olduğu belirtilmiştir.

Cristofani ve ark (1999), *C. sunki Hort. ex. Tan.* ve *P. trifoliata (L.) Raf.*'ın genetik bağlantı haritalarını ve Tristeza'ya dayanıklı gen bölgesini haritalamak amacıyla yaptıkları çalışmada, pseudo-testcross haritalama yöntemini kullanarak RAPD markörleri geliştirilmiştir. *C. sunki Hort. ex. Tan.* ve *P. trifoliata (L.) Raf.*'ın arasında yapılan melezlemede 314 F1 melez elde edilmiş ve haritanın oluşturulmasında bu F1 populasyonuna ait 80 melez bitki kullanılmıştır. Bağlantı haritasının oluşturulmasında ve CTV'ye dayanıklı gen bölgesinin haritalanmasında

iki farklı program kullanılmıştır. CTV'ye dayanım genin değerlendirilmesinde Western blot, DIBA (Dot immunobinding assay) ve Bulk Segregant Analizi yapılarak cM değerlerinin hesaplanmasında ise MAPMAKER 2.0 programı kullanılmıştır. Toplamda 169 RAPD markörünün 125'i 18 bağlantı grubunda yer almıştır. *C. sunki*'de 63 markör ile 10 bağlantı grubu ve *P. trifoliata* cv. Rubidoux'ta 62 markör ile 8 bağlantı grubu oluşturulmuştur. Diğer 44 markörün (% 26.78) diğer gruplardan ayırım göstermediği belirlenmiştir. Toplam uzunluğu 1599.20 cM olan 2 harita oluşturmuşlardır. *C. sunki*'nin CTV'ye tolerant ve *P. trifoliata*'nın CTV'ye dayanıklı olduklarından hibritlerinin, herhangi bir tristeza enfeksiyonu göstermedikleri belirtilmiştir. Son olarak CTV ile ilişkili bütün markörlerin *P. trifoliata* (L.) Raf. cv. Rubidoux'un 1.bağlantı grubunda, yalnızca tek bir gen bölgesinin haritasının oluşturulabildiği belirtilmiştir.

Deng ve ark (2000), yapılan çalışmada turuncgillerde önemli iki sorun olan tristeza ve nematoda dayanım genlerinin kromozom üzerindeki yerlerini belirlemişlerdir. NBS (nucleotide binding site)-LRR (leucine rich repeat) grubu dayanım genlerinin klonlanması ve karakterizasyonu yapılmıştır. *Poncirus*'larda, belirlenen genlerin haritalanması ve hastalıkla ilişkisi değerlendirilmiştir. DNA klonlarının sekanslamasına ve genetik polimorfizmi ortaya çıkaracak kesim enzimlerine dayalı olarak özel primerler tasarlanarak CAPS markörleri geliştirmişlerdir. Amplifiye olan 3 DNA fragmenti (18P33a, Pt9a, Pt8a) Tristeza'ya dayanımla bir DNA fragmenti ise nematoda (Pt8a) dayanımla ilgili olarak bulunmuştur. NBS bölgesinden üretilen primerlerin dayanım, gen etiketleme ve klonlama ile çalışmalarında kullanılabileceği belirtilmiştir.

Deng ve ark (2001), yaptıkları çalışmada 678 adet geri melez populasyonu kullanarak, Ctv gen bölgesinin yüksek çözünürlüklü haritalaması yapılmıştır. Ctv geni ile birlikte segregen olan, gene yakından bağlı 3 adet markör belirlenmiştir. *Poncirus* ve *Citrus* melezlerinden oluşan BAC kütüphanesi taranmıştır. Kromozom walking ve landing aracılığı ile geliştirilen iki BAC contiginden birisi *Ctv* bölgesini çevrelemekte, diğeri ise dayanım geninin alleli olan duyarlılık gen bölgesini

göstermektedir. Dayanım gen contigi 20 adet BAC klonundan oluşmakta ve yaklaşık olarak 550 kb uzunluğundadır. Duyarlılık gen contigi ise 16 BAC klonundan oluşmakta ve yaklaşık olarak 450 kb uzunluğunda olmaktadır. BAC klonları genetik harita ile birleştirildiğinde klonların Ctv geninin etrafında farklı uzaklıkta oldukları belirlenmiştir. Southern hibridizasyonu ile NBS-LRR sekanslarının birkaç kopyası Ctv lokusunun etrafında bulunmuştur. Bu çalışmalarla odunsu bitkilerde haritalamaya dayalı klonlama çalışmalarının uygun olduğu belirlenmiştir.

Fang ve ark (1998), yaptıkları çalışmada Ctv genine 2 cM uzaklıkta bulunan ve tüm populasyonda segregasyon gösteren markörleri RAPD markörü olan OPAD08 primerini ve RAPD'den RFLP'ye çevrilen RfC19, RfE20, RfZ16 markörlerini Fang ve Roose (1999) Chandler x Rubidoux ve Chandler x Webber Fawcett melezlerini kullanarak yapılan taramalar sonucunda tristeza hastalığına dayanımı kontrol eden farklı bir gen daha olduğunu belirtmişlerdir.

Yang ve ark (2001), yaptıkları çalışmada, kendi çiçek tozu ile tozlanmış, *P. trifoliata* (L.) Raf melezlerinde Ctv genine bağlı markörleri belirlenmiştir. Dayanım geninin AD08 ve Z16 markörlerine 1.2 cM, C19 markörüne ise 0.6 cM uzaklıkta olduğunu belirlemişlerdir.

Otha ve ark (2011), tarafından *C.hassaku* hort. ex Tanaka, *P.trifoliata* 'Flying Dragon', 'H-FD-1' (*C.hassaku* × *P.trifoliata* 'Flying Dragon'), 'Kiyomi' (*C.unshiu* 'Miyagawa wase' × *C.sinensis* 'Trovita'), Nou-8, 'Harehime' [('Kiyomi' × 'Osceola') × *C.unshiu*], *C. grandis* ve bu ebeveynlerin geri melezleri ile elde edilen populasyonda 3 STS ve 1 SNP markörünün CTV'ye dayanım ile ilgili markörler olduğu tespit edilmiştir ve bu markörlerin markörler yardımı ile seleksiyonla ıslah programlarında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Pınar ve ark (2016), Tristeza'ya dayanıklı anaç geliştirmek amacıyla Türkiye'de kullanılan 14 turuncuğil anacında (Volkameriana, Kabalimon, Kleopatra, Citrumelo, Troyer, Taiwanica, Carrizo, Brezilya Turuncu, Yerli Turunç, Üç Yapraklı, Yuzu, Rangpur lime, Şadokve Fortunella spp.) ve bu anaçların bazılarında

ait melezlerde Fang ve ark (1999), tarafından geliştirilen RAPD markırlarının SCAR markırlarına dönüştürülmesiyle elde edilen 3 adet SCAR markırı ile (SCT08, SCO07, SCAD08) tarama yapmışlardır. Hastalıkla ilişkili olarak değerlendirilen bu markırların Üç yapraklı ve melezlerinde dayanım geninin olduğunu göstermiştir. Moleküler analizler sonrasında yapılacak virüs testleri ile dayanıklılığın doğrulanacağını belirtmişlerdir.

2.1.2. Turunçgillerde Uygulanan Diğer MAS Çalışmaları

Turunçgillerde genetik haritaların oluşturulması ve bu haritalardan elde edilen bilgilerin markörler yardımı ile erken seleksiyon amacıyla ıslah programlarında kullanımı büyük önem taşımaktadır.

Markırlar yardımı ile erken seleksiyon turunçgillerde özellikle patojenlere dayanıklılık ve meyve özellikleri gibi ekonomik öneme sahip özellikleri barındıran melez bireylerin seçimi için yararlı bir tekniktir. Son 20-30 yılda turunçgillerde genetik harita oluşturmak için çok sayıda markır geliştirilmiştir (Çizelge 2.1).

İlk turunçgil genetik haritası RFLP ve izoenzim markırları ile oluşturulmuş (Durham ve ark. 1992, Jarrell ve ark. 1992) ardından SSR markırları haritalama çalışmalarına entegre edilmiştir (Kijas ve ark. 1997). Daha sonra geliştirilen genetik haritalarda önemli, genlerin lokalize oldukları yerlere odaklanılmış soğuklara dayanıklılık (Cai ve ark. 1994), turunçgil tristeza virüsüne (CTV) dayanıklılığı (Cristofani ve ark. 1999, Fang ve ark. 1998, Gmitter ve ark. 1996), meyve asitliği (Fang ve ark. 1997), apomiksis (Garcia ve ark. 1999, Kepiro ve Roose, 2010), nematoda dayanıklılık (Ling ve ark. 2000) ve *Phytophthora gummosis*'e dayanıklılık (Siviero ve ark. 2006) ile ilgili çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2.1. Mandarinlerde ıslah amaçlı haritalanan özellikler (Omura ve Shimada, 2016)

Ebeveynler	Melez Sayısı	Özellik	Bağlantı grubu	Kaynak
Kiyomi x Miyagawa wase	125	Tohum sayısı (QTL)	6	Omura ve ark (2003)
Kiyomi x Miyagawa wase	125	Poliembriyoni	1	Nakano ve ark (2012)
Kiyomi x Okitsu	92	Erkek kısırılık	8	Nakano ve ark (2003)
Nou-8 x Shiamese acisless	92	CTV'ye dayanım	2	Otha ve ark (2011)
Okitsu-46 x Nou-5	87	Çekirdeksizlik	9	Shimada ve ark (2014)
Okitsu-46 x Nou-5	87	Karotenoidler	6	Sugiyama ve ark (2011)

Bireysel genetik haritalar önemli veriler vermesine rağmen karşılaştırılması zor olduğu için belli bir süreçten sonra referans genetik haritalar oluşturulmuştur. Ollitrault ve ark (2012), klemantin mandarininde SNP ve EST-SSR markırlarını kullanarak, Shimada ve ark (2014), mandarin melezlerinde CAPS ve SNP markırları kullanarak referans genetik haritalar oluşturmuşlardır (Çizelge 2.1) (Omura ve Shimada, 2016).

Dalkılıç ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada, mandarin hibritlerinde *Alternaria* hastalığına dayanım genini RAPD markörleri ile belirlemişlerdir. Bu P12, AL13 markörlerinin Joinmap program analizinden sonra *Ctv* genine sırasıyla 15.3 cM ve 36.7 cM uzaklıkta olduğu belirlenmiştir. *Minneola tangelo*'nun *Alternaria*'ya dayanıklılığının tek ve resesif bir genle (aaM1) kontrol edildiği üzerine yapılan çalışmalarda dayanıklı Klemantin mandarini ve duyarlı melezlerin (*Clemantine* x *Minneola tangelo*) geri melezlenmesi sonucunda 61 dayanıklı birey, 58 duyarlı birey bulunmuştur.

Altaf ve ark (2014), Kinnow mandarininin çekirdekli ve çekirdeksiz çeşitlerinin arasındaki morfolojik farklılık belirlenmiş, genetik farklılık ise RAPD ve SSR markörleri ile ortaya çıkarılmıştır.

Yu ve ark (2016), SNP markörlerini kullanarak mandarin meyve kalitesini etkileyen önemli özelliklere ait lokusları belirlemek amacı ile Fortune x Murcott melezlerine ait F1 popülasyonunda QTL haritalama sonucu oluşturdukları birkaç SNP markörünün MAS ile kullanılabilirliğini belirtmişlerdir.

Chavez ve Chaparro (2011), çekirdeksizlikle ilgili genomik bölgeyi belirlemek amacı ile Robison tangerin x *Citrus kinokuni* 'Mukaku kishu' kombinasyonuna ait 371 F1 melez bireyde bulk segregant analizi uygulanmıştır. Analizler sonucunda tek ve dominant bir genin çekirdeksizlik özelliğini kontrol ettiği belirlenmiş ve bu gene yakından bağlı RAPD markörleri (OPAI11, OPAJ19, OPM06r, OPAJ04r) tanımlanmıştır.

Chae ve ark (2011), erkek kısır olan Kiyomi (*C. unshiu* × *C. sinensis*)'nin ve Jinkyool (*C. sunki*)'ün melezlenmesi ile oluşturulan 150 F1 bitkide BSA analizi uygulanarak SRAP markörleri ile erkek kısırılık özelliğine bağlı markörleri geliştirmek amaçlanmıştır. Geliştirilen SRAP markörleri SCAR markörüne dönüştürülmüş ve tanımlanan SCAR markörünün (pMS 33U/pMS 1462L) MAS ile ıslah programlarında kullanılabilirliği belirtilmiştir.

Xiang ve ark (2010), turunçgilde nematoda dayanım çalışmalarında 8 adet farklı melezleme kombinasyonlarına ait F1 popülasyonlarını nematoda dayanıklılığı belirleyen RAPD-SCAR ve dayanıklılık geni aday markörlerle taramışlardır. Tarama sonucu SCAD08, Y65 and 45b9T markörlerinin dayanım geninden uzak olduğu, 7A4L, 7A4R and 4L17L markörlerinin ise tekrar edilmesinde sıkıntı yaşandığı görülmüştür. Nematoda dayanım geninin belirlenmesi ve MAS çalışmalarında kullanılması için en az iki farklı markır sistemi ile çalışılması gerektiğini belirtmişlerdir.

2.1.3. Bahçe Bitkileri Türlerinde Yapılan MAS Çalışmalarına Örnekler

Yang ve Francis (2005), domateste verim ve kaliteyi düşüren bakteriyel hastalıklara karşı dayanıklılık genini tek bir bireyde toplamak için markörler yardımı ile seleksiyon yöntemini kullanarak gen piramiti ile iki farklı hastalığa dayanıklılık genini geri melez populasyonları oluşturarak bir bitkiye aktarmayı başarmışlardır.

Chen ve ark (2005), tek ve dominant bir genle kontrol edilen doğu fındık yanıklığı hastalığına dayanıklı bireylerle oluşturdukları melezleme kombinasyonları 64 AFLP primeri ile taramışlardır. Haritalama sonucunda dayanıklılık genine bağlı 3 AFLP markörü belirlemişlerdir. Bu markörlerin hastalığa dayanımda markörler yardımı ile seleksiyonda kullanılacağı belirtilmiştir.

Fazio ve ark (2003), hıyarda çoklu yan dal oluşumunun (MLB) 5 farklı faktörün kontrolü altında olduğunu belirterek ıslah etkinliğini artırmak amacıyla markörler yardımı ile seleksiyon ile daha önceden geliştirilmiş markörleri geri melezleme ile oluşturdukları populasyonlarda denemişlerdir. Hem fenotipik hem de MAS ile yapılan genotipik seleksiyonun birlikte uygulanmasının ıslahın etkinliğini artırdığını bildirmişlerdir.

Dalbo ve ark (2001), yılında yaptıkları çalışmalarda asmalarda külemeye dayanıklılık genine ait markörleri MAS çalışmaları ile geliştirmişlerdir. Dayanıklı ebeveynle yapılan melezleme çalışmaları ile oluşturulan melezlerden bulk segregant analizi ile bir RAPD ve bir AFLP markörü geliştirilmiştir. Daha sonra bu markörler CAPS markörlerine çevrilerek ıslahın etkinliği artırılmıştır.

Schnell ve ark (2007), kakaoda yetiştiriciliği sınırlayan *Moniliophthora* spp., *M. roleri*, ve *Phytophthora* spp.'nın neden olduğu hastalıklara karşı dayanıklı birey geliştirmek amacı ile oluşturulan F1 populasyonunda QTL çalışmaları ile hastalıklara dayanıklılık markörlerini geliştirmişlerdir.

Chunxiao ve Sink (1997), kuşkonmaz bitkisinde cinsiyeti belirlemek amacı ile oluşturulan melezleme populasyonlarında bulk segregant analizi uygulanarak ilgili lokusa bağlı RAPD ve SCAR markörlerini geliştirmişlerdir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel Materyal

Bu çalışmada kullanılan 160 adet melez bitki Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi'ne ait turunçgil serasından temin edilmiştir. Markörler yardımı ile seleksiyon yöntemi ile tristeza virüsüne dayanıklı turunçgil anaç ıslahı kapsamında kullanılan ebeveyn bitkiler ve melez bitkiler sayıları Çizelge 3.1'de, primer baz dizilim sıraları ve bant büyüklükleri Çizelge 3.4'de, primerlerin elde edildiği ebeveyn bitkiler ise Ek-13'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan ebeveynler ve melez bitki sayıları

Ana Ebeveyn (♀)	Baba Ebeveyn (♂)	Melez Bitki Sayısı
<i>C. aurantium</i> var. "Gou Tou"	<i>P. trifoliata</i> var. Yerli	27
<i>C. myrtifolia</i> Rafinesque	<i>P. trifoliata</i> var. Rubidoux	92
<i>C. sunki</i> (Hayata) hort. ex Tanaka	<i>P. trifoliata</i> var. Rubidoux	41

3.1.1.1. Yerli Üç Yapraklı (*Poncirus trifoliata* var. Yerli)

Çin'de süs bitkisi olarak, Japonya'da özellikle Satsuma mandarinlerinde kullanılan bir anaçtır. Tristeza'ya ve soğuklara toleranslılığı açısından melezleme ıslahı çalışmalarında sıkça kullanılır. Yüksek pH'lı topraklarda sıklıkla demir klorozu gösterir (Çimen, 2011).

3.1.1.2. Rubidoux Üç Yapraklısı (*Poncirus trifoliata* var. Rubidoux)

Soğuklara, *P. gummosis* ve tristeza hastalığına dayanıklı, su eksikliğine toleranslıdır (Siviero ve ark, 2006; Fang ve Roose, 1999; Yahmed ve ark, 2016). Küçük yapraklılar grubunda olan Rubidoux üzerine aşılı bitkilerin habituslarının çok

fazla yayılmasına izin vermez (Shannon ve ark, 1961). Özellikle üzerine aşılı mandarinlerinde verim, kalite ve ağaç gelişimi, açısından diğer anaçlara göre daha etkilidir.

3.1.1.3. Gou Tou Turuncu (*Citrus aurantium* var. “Gou Tou”)

Çin kökenli bir anaç olup ebeveynleri bilinmemektedir. Sel baskınına, alkali topraklara ve tristeza virüsüne toleranttır (Bowman ve Garnsey, 2001; Garnsey, 1992). Hakkında çok fazla bilgi olmamasına rağmen diğer anaçların gelişimini engelleyecek yüksek pH'lı ve phytophthora ile bulaşık topraklarda kullanılabilir.

3.1.1.4. Sunki Mandarinini (*Citrus sunki* (Hayata) hort. ex Tanaka)

Dünyada çok fazla yaygın olarak kullanılmamakla birlikte Çin ve Tayvan'da anaç olarak kullanılmaktadır. Yüksek pH'lı kireçli topraklara adaptasyon sağlamaktadır. Sunki mandarini birçok portakal ve mandarine anaç olarak kullanıldığında çok iyi sonuçlar verir. Küçük meyvelidir ve üzerine aşılı çeşitlerde bodurluk özelliği gösterir. Hastalıklara dayanımı ve üzerine aşılı çeşitlerdeki meyve kalitesi ile istenilen anaç özelliği taşımaktadır. Turunçgil yanıklığı, demir klorozu ve Tristeza'ya toleranttır (Bitters, 1986; Hamilton ve ark, 1985; Cristofani ve ark, 1999).

3.1.1.5. Çin Turuncu (*Citrus myrtifolia* Rafinesque)

Turunç klonlarının çoğu ya da hemen hepsi tek bir atadan gelmektedir. Ancak, nüseller embriyoda ya da vejetatif dokularda mutasyon meydana gelmesi ile genetik yapısı farklı klonlar oluşmuştur. Çin turuncu, küçük yapraklı, küçük meyvelidir ve boğum araları kısa, büyüme gücü düşük, bodurluk özelliği gösteren Tristeza'ya duyarlı bir bitkidir (Bowman ve Garnsey, 2001; Castle ve ark, 2011). Kirece toleranttır.

3.2. Metot

3.2.1. Klasik Melezlemelerin Yapılması

Melezlemeler nisan ayında çiçeklenme döneminde yapılmıştır. Çeşitlerin çiçeklenme döneminde, başka çeşitlerin çiçek tozlarının karışmaması için baba ebeveynlerden taç yapraklar açılmadan önce çiçekler alınarak, sıcak ve kuru koşullarda tutulmuş ve açan çiçeklerden çiçek tozları alınarak kapalı kaplara konulmuştur. Öte yandan ana ebeveynde çiçekler açılmadan önce taç yapraklar açılarak erkek organlar kopartılıp uzaklaştırılmış ve çiçekler sık dokulu bir bez kese içine alınmıştır. Tozlayıcı ebeveynlerden ayrı ayrı alınan ve ayrı kaplara konulan çiçek tozları ile ana ebeveynin keseye alınmış çiçeklerinin reseptif hale gelmiş dişi organı bir fırça yardımıyla tozlanacak ve her çiçeğe ilgili etiketi bağlanarak yine aynı kese içerisine alınmıştır. Meyveler belirli bir büyüklüğe geldiğinde, keseler çıkarılacak ve bunun yerine daha iyi hava alınmasını sağlayacak olan ve olgunluk döneminde meydana gelebilecek dökümlerde meyve kaybını önlemek için daha seyrek dokunmuş olan fileler kese olarak kullanılmıştır.

Meyveler olgunlaşınca hasat edilmiş ve tohum çıkarma işlemine kadar soğuk hava depolarında muhafaza edilmiştir. Daha sonra tohumlar meyveden çıkartılıp kurutularak ekim zamanına kadar +4⁰C' de saklanmıştır.

Yerli üç yapraklının baba olarak kullanıldığı kombinasyonlarda, Yerli üç yapraklı ağaçları, ana olarak kullanılan genotiplere göre daha erken çiçeklendiği için alınan çiçek tozlarının nemi silikagel veya CaCl₂ yardımıyla 2 saat kadar süreyle alınmış, sonra silikagel bulunan ortamda kapalı kutuda -80⁰C'de muhafaza edilmiştir. Ana olarak kullanılan genotipler çiçeklendiği zaman çiçek tozları derin dondurucudan çıkartılarak melezlemede kullanılmıştır.

Olgunluk döneminde meyveler toplanmış, meyvelerden tohumlar çıkartılarak, seraya tohum ekimleri yapılmıştır. Elde edilen melez bireylerde moleküler markırlar yardımı ile seleksiyon amacıyla yaprak örnekleri alınarak DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir (Yeşiloğlu, 2011).

3.2.2. DNA izolasyonu

Serada büyütülen melez bireylerden taze yapraklar alınıp (Şekil 3.1.), DNA izolasyonu yapılmıştır.



Şekil 3.1. DNA izolasyonunda kullanılan taze yapraklar

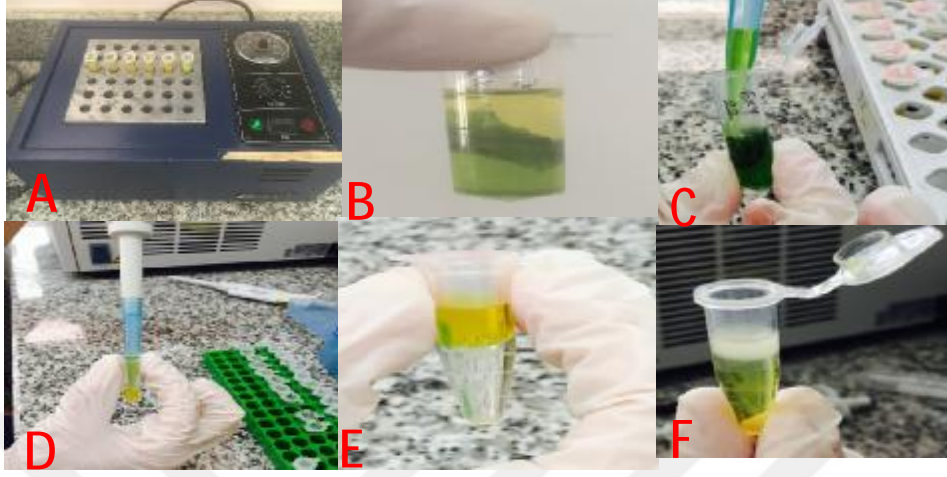
İzolasyon sırasında gerekli CTAB ve Kloroform: isoamilalkol (24:1) çözeltileri hazırlanmıştır. CTAB çözeltilisini oluşturan kimyasalların miktar ve derişimleri Çizelge 3.2'deki gibidir.

Çizelge 3.2 CTAB çözeltilisi bileşen miktarları ve konsantrasyonları

Bileşenler	100ml CTAB için gereken miktarlar	Konsantrasyon
CTAB	2 gr	% 2
NaCl (5M)	28 ml	1.4 M
EDTA (0,5M) pH:8	4 ml	0.2 M
Tris HCl (1M) pH:8	10 ml	0.1 M
Su	40.3 ml	

İzolasyon aşamasında izlenen aşamalar ve kullanılan kimyasallar sırasıyla şöyledir;

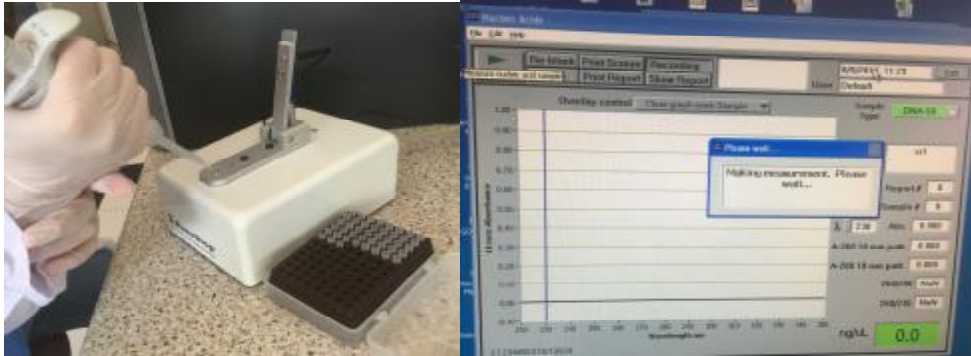
- Örneklerin bulunduğu her tüpe 700µl CTAB çözeltisi ve 4 µl B-merkaptoetanol eklenip tüpler 20 dk 65°C'de bekletilmiş ve her 10 dakikada bir karıştırılmıştır.
- Tüplere 700 µl kloroform: izoamil alkol (24:1) karışımı eklenip karıştırıldıktan sonra 10 dakika boyunca 13.000 rpm'de santrifüj yapılmıştır.
- Santrifüj sonrası üstte kalan süpernatant kısım yeni bir tüpe aktarılmıştır.
- Yeni tüpe alınan süpernatant üzerine 700 µl kloroform: izoamil alkol eklenip 10 dk boyunca 13.000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- Temiz bir tüpe aktarılan örnekler üzerine 3 µl RNase enzimi eklenip hafifçe karıştırılarak 15 dakika boyunca beklemeye bırakılmıştır.
- Daha sonra tüplere 3M 70 µl NaCl eklenmiş ve karıştırılması sağlanmıştır.
- Tüplere 420 µl soğuk isopropanol eklenmiş ve 13.000 rpm'de 20dk santrifüj edilmiştir.
- Bu işlemde sonra isopropanol dikkatlice çöpe dökülür.
- DNA ile 1 ml'lik % 70-75 etanolle 5 dk boyunca 13.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrasında tüpteki alkol dökülmüştür.
- Tüp içerisinde kalan alkoller kısa santrifüj ile iyice uzaklaştırıldıktan sonra izole edilen DNA'lar 25 µl TE buffer içerisinde çözündürülmüştür.



Şekil 3.2. DNA izolasyon aşamaları. (A. 65°C’de bekletilme aşaması, B. CTAB ve kloroform eklendikten sonra santrifüj sonrası fazlara ayrılma, C., D. Süpernatant kısmın alınması ve yeni tüpe aktarılması, E. Süpernatant üzerine kloroform:isoamil alkol eklenmesi, F. Süpernatant üzerine isopropanol eklendikten sonra DNA’nın bulut şeklinde yoğunlaşması)

3.2.3. DNA Kalitesi ve Kantitesinin Belirlenmesi

İzolasyonu gerçekleştirilen DNA’ların PCR’a uygunluğu açısından kalitelerini ve miktarlarını belirlemek amacı ile spektrofotometrede (NanoDrop ND 100) ölçüm yapılmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonlarında kullanılmak üzere ölçümleri gerçekleştirilen DNA’ların miktarları aynı olacak şekilde 5 ng’a ayarlanmıştır.



Şekil 3.3. DNA miktar ve kalite ölçümü

3.2.4. Kullanılan Primerler, RAPD Reaksiyon Koşulları ve Agaroz Jel Elektroforezi

Markörler yardımı ile seleksiyon çalışmasında dayanıklılık bantlarını elde edeceğimiz markörleri, markörlerin bant büyüklükleri ve primer dizisi Çizelge 3.4.'de verilmiştir.

Bu markörler ile RAPD reaksiyonlarında kalıp DNA'dan çoğaltım sağlanabilmesi amacı ile kullanılan PCR bileşenleri ve miktarları, konsantrasyonları aşağıdaki Çizelge 3.3'deki gibidir.

Çizelge 3.3. PCR bileşen, miktar ve konsantrasyonları

PCR Bileşenleri	Kullanılan Miktar (μ l)	Konsantrasyon
Master Mix	6,25	2X
Primer	1,25	100pmol
MgCl ₂	0,5	25mM
DNA Taq Polimeraz enzimi	0,05	5U
Kalıp DNA	3	5 ng
Su	1	

Çizelge 3.4. Kullanılan primerler ve baz diziliş sıraları

Cristofani ve ark (1999)	Bant Büyüklüğü (bç)	Primer Dizisi (5'3')
OPW18	450	TTC AGG GCA C
OPAV12	470	AGC CGT CGA A
OPE16	510, 570	GGT GAC TGT G
OPAV11	1430	GAC CCC GAC A
OPAT07	400	ACT GCG ACC A
OPE20	510	AAC GGT GAC C
OPN08	2750	ACC TCA GCT C
OPE07	820	AGA TGC AGC C
OPA04	480	AAT CGG GCT G
OPN15	1630	CAG CGA CTG T
OPM05	380	GGG AAC GTG T
Fang ve Roose (1999)	Bant Büyüklüğü (bç)	Primer Dizisi (5'3')
OPAD08	1100	GGC AGG CAA G
Mestre ve ark (1997a)	Bant Büyüklüğü (bç)	Primer Dizisi (5'3')
OPO07	650	CAG CAC TGA C
OPG18	1000	GTG CCT AAC C
OPA15	1200	TTC CGA ACC C
OPO10	1400	TCA GAG CGC C
OPW18	450	TTC AGG GCA C
Mestre ve ark (1997b)	Bant Büyüklüğü (bç)	Primer Dizisi (5'3')
OPD07	800	TTG GCA CGG G
OPE04	750	GTC ACA TGC C
OPG09	1200	CTG ACG TCA C
OPG19	1000	GTC AGG GCA A
OPK16	800	GAG CGT CGA A

Çizelge 3.4.'ün devamı

Fang ve ark (1998)	Bant Büyüklüğü (bç)	Primer Dizisi (5'3')
OPC19	960	GTT GCC AGC C
OPJ07	570	CCT CTC GAC A
OPJ20	750	AAG CGG CCT C
OPL04	370	GAC TGC ACA C
OPO04	700, 1300	AAG TCC GCT C
OPO12	1000	CAG TGC TGT G
OPW18	450	TTC AGG GCA C
OPAD02	700	CTG AAC CGC T
OPAF05	700	CCC GAT CAG A
OPAF07	580	GGA AAG CGT C
OPC17	760	TTC CCC CCA G
OPE16	570	GGT GAC TGT G
OPF19	950	CCT CTA GAC C
OPG06	900	GTG CCT AAC C
OPT09	390	CAC CCC TGA G
OPZ16	650	TCC CCA TCA C
OPE20	600, 920	AAC GGT GAC C

Hazırlanan karışımdan her örneğe 9 µl eklendikten sonra thermal cycler cihazında istenilen gen bölgesinin çoğaltımının sağlanması amacı ile thermal cycler cihazında ön denatürasyon, denatürasyon, bağlanma, uzama ve son uzama aşamaları için sıcaklık ve süre ayarlamaları yapılarak PCR reaksiyon koşulları oluşturulmuştur. Ön denatürasyon aşamasında 94°C'de 2 dakika, 45 döngü olacak şekilde denatürasyon aşamasında 94°C'de 1 dk, primerin bağlanma aşamasında 37°C'de 1 dk, uzama aşamasında 72°C'de 2 dk; son uzama aşamasında ise 72°C'de 10 dk, olacak şekilde programlandırılmıştır. Thermal cycler cihazından alınan

PCR ürünlerinde istenilen bant büyüklüklerinin varlığını görmek amacı ile agaroz jel elektroforezi yapılmıştır.

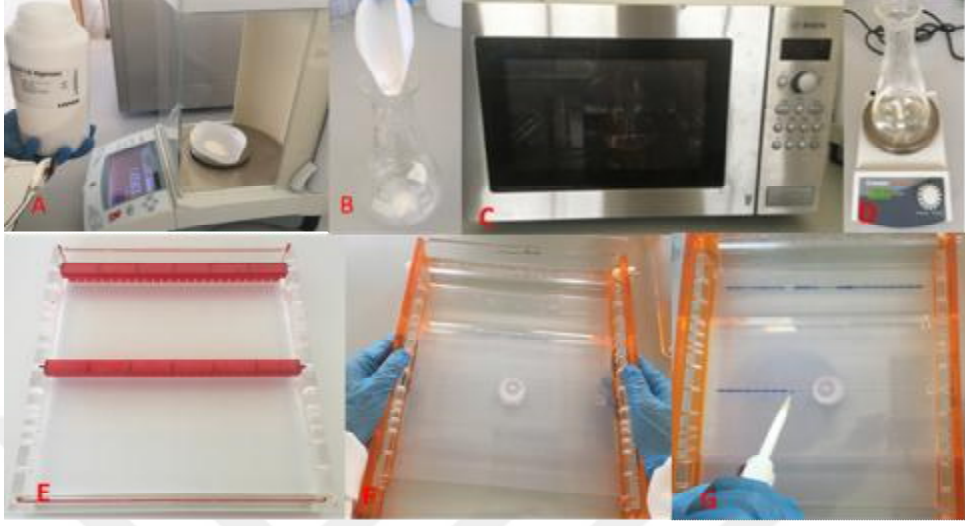
Agaroz jel hazırlığı aşamasında 10X konsantrasyona sahip 1L stok Tris-Borik asit-EDTA (TBE) çözeltisi hazırlanmıştır (Çizelge 3.3). Daha sonra bu çözelti 0,5X'e seyreltilerek elektroforez tanklarına koyulmuştur ve 300 ml 0,5X TBE tampon çözeltisi içerisine 4,5 gr agaroz eklenerek % 1.5'lik konsantrasyona sahip agaroz jel hazırlanmıştır.

Çizelge 3.5. 10X konsantrasyona sahip TBE bileşenleri

Kullanılan Kimyasallar	Miktarı
Tris bazı	108 gr
Borik asit	55 gr
0,5M EDTA (pH 8)	40 ml

Mikrodalga fırında 10 dk agarozun çözündürülmesi sağlanmıştır. Fırından çıkarılan jelin üzerine UV ışık altında floresan etki gösteren 10mg/ml konsantrasyona sahip 10 µl etidiyum bromür eklenmiştir. Fırından çıkarılan jel, jel tepsisinden sızmayacak sıcaklığa gelene kadar soğutulmuş ve hazırlanan jel tepsilerine dökülüp ve taraklarla kuyucuklar oluşturulmuştur (Şekil 3.4).

PCR ürünlerinin üzerine 3 µl 6X yükleme boyası eklenerek agaroz jelde oluşan kuyucuklara örnekler yüklenmiş ve 70V'ta 3,5 saat elektrik akımı altında nükleik asitler büyüklüklerine göre ayrılmıştır. Bantların büyüklüğü bilinen 100 bp ve 1 kb'lık referans bantlarla skorlama yapılmıştır. Beklenen büyüklükteki bantların varlığı durumunda (1), yokluğunda (0) şeklinde skorlanarak her meze ait tablolar oluşturulmuştur.



Şekil 3.4. Agaroz jel elektroforezi (A. Agarozun tartılması, B. Agaroz ile TBE çözeltisinin erlene koyulması, C. Agarozun mikrodalga fırında çözündürülmesi, D. çözeltinin soğutulması, E. Agaroz jelin elektroforez tepsisinde donması, F. Jel tepsisinin tanka koyulması, G. Örneklerin jele yüklenmesi)



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. DNA İzolasyonu

Tez çalışması kapsamında, tristeza virüsüne dayanıklılık açısından markörler yardımı ile erken seleksiyon çalışmaları için PCR reaksiyonlarında kullanılmak üzere ebeveyn ve melez bitkilerden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiş, miktar ve kaliteleri spektrofotometre ile ölçülmüştür. Ölçüm sırasında A230, A260, A280 değerleri dikkate alınmıştır. Bu absorbans değerlerinde A260/A280 oranının 1.8 olması DNA'nın saf bir şekilde izole olduğunu gösterirken, A260/A230 oranının yaklaşık 2.2'den farklı olması da DNA'nın protein, fenol, karbonhidratlarla bulaşık olduğunu göstermektedir (Kaçağı, 2012). Bu tez çalışmasında izole edilen DNA'ların ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde DNA miktarları Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melez kombinasyonunda 50,86-2247,78 ng/µl aralığında, Sunki mandarini x Rubidoux üç yapraklısında 53-300 ng/µl aralığında, Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde 51-1151ng/µl aralığında; DNA kaliteleri (A260/A280) ise Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melez kombinasyonunda 1.24-2.01, Sunki mandarini x Rubidoux üç yapraklısı kombinasyonunda 1.58-2.03 aralığında, Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde ise 1.53-2.05 aralığında PCR çalışmalarına uygun kalitede ve yeterli miktarda DNA elde edilmiştir.

Moleküler genetik çalışmalarının başlangıç aşaması olan DNA izolasyonu sırasında etkin bir izolasyonun yapılması, daha sonraki aşama olan PCR çalışmalarından güzel sonuçlar elde edebilmek açısından önemlidir. Bu nedenle DNA izolasyonunda kısa sürede, saf, yüksek miktarda ve kaliteli DNA elde etmek gerekmektedir (Şimşek ve ark, 2008). İzolasyon sırasında tamamen temizlenmeyen sekonder metabolitler ve diğer bileşikler, izolasyonun etkin bir şekilde yapılmamasına neden olduğu gibi PCR sırasında gen bölgesinin çoğalmasını ve klonlama işlemlerinin verimliliğini de etkiler (Khanuja ve ark, 1999; Schrader ve ark, 2012).

4. 2. RAPD-PCR Reaksiyon Sonuçları

Bu çalışmada, turunçgillerde anaç ıslahı programı çerçevesinde farklı populasyonlarla oluşturulan melezlerde tristeza virüsüne dayanıklılık açısından önceki çalışmalarda tespit edilen markırların bu tez çalışmasında kullanılan popülasyonda etkin kullanılıp kullanılmayacağı araştırılmıştır. Bu amaçla öncelikli olarak seçilen ebeveynlerde sözkonusu primerlerle RAPD-PCR analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçları değerlendirilerek bu primerlerin dayanıklılık bantlarını verip vermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4).

Çizelge 4.1. Cristofani ve ark, (1999)'nın belirlediği primerlerin tarama sonuçları

Primer-bant büyüklüğü (bp)	Sunki Mandarinini	Rubidoux Üç yapraklısı	Çin Turuncu	Yerli Üç Yapraklı	Gou Tou Turuncu
OPW18_450	-	+	-	+	-
OPAV12_470	-	+	-	+	-
OPE16_510,570	-	+	-	+	-
OPAV11_1430	-	+	-	+	-
OPAT07_400	-	+	-	+	-
OPE20_510	-	+	-	+	-
OPN08_2750	-	-	-	-	-
OPE07_820	-	+	-	+	-
OPA04_480	-	+	-	+	-
OPN15_1630	-	-	-	-	-
OPM05_380	-	+	-	+	-

Çizelge 4.2. Fang ve Roose, (1999)'un belirlediği primerlerin tarama sonuçları

Primer-bant büyüklüğü (bp)	Sunki Mandarinini	Rubidoux Üç yapraklısı	Çin Turuncu	Yerli Üç Yapraklı	Gou Tou Turuncu
OPAD08_1100	-	+	-	+	-

Çizelge 4.3. Mestre ve ark, (1997a)'nın belirlediği primerlerin tarama sonuçları

Primer-bant büyüklüğü (bp)	Sunki Mandarinini	Rubidoux Üç yapraklısı	Çin Turuncu	Yerli Üç Yapraklı	Gou Tou Turuncu
OPO07_650	-	+	-	+	-
OPG18_1000	+	+	-	+	+
OPA15_1200	-	+	-	+	-
OPO10_1400	-	+	-	+	-
OPW18_450	-	+	-	+	-

Çizelge 4.4. Mestre ve ark, (1997b)'nın belirlediği primerlerin tarama sonuçları

Primer-bant büyüklüğü (bp)	Sunki Mandarinini	Rubidoux Üç yapraklısı	Çin Turuncu	Yerli Üç Yapraklı	Gou Tou Turuncu
OPD07_800	-	+	-	+	-
OPE04_750	-	+	-	+	-
OPG09_1200	+	+	-	+	+
OPG19_1000	-	+	-	+	-
OPK16_800	+	+	-	+	+

Çizelge 4.5. Fang ve ark, (1998)'nin belirlediği primerlerin tarama sonuçları

Primer-bant büyüklüğü (bp)	Sunki Mandarinini	Rubidoux Üç yapraklısı	Çin Turuncu	Yerli Üç Yapraklı	Gou Tou Turuncu
OPC19_960	-	+	-	+	-
OPJ07_570	-	+	-	+	-
OPJ20_750	-	+	-	+	-
OPL04_370	-	+	-	+	-
OPO04_700,1300	-	+	+	+	-
OPO12_1000	+	+	+	+	+
OPW18_450	-	+	-	+	-
OPAD02_700	-	+	-	+	-
OPAF05_700	-	+	-	+	-
OPAF07_580	-	+	-	+	-
OPC17_760	-	+	-	+	-
OPE16_570	-	+	-	+	-
OPF19_950	-	+	-	+	-
OPG06_900	+	+	+	+	+
OPT09_390	-	-	-	-	-
OPZ16_650	-	+	+	+	-
OPE20_600	-	+	-	+	-
OPE20_920	-	-	-	-	-

RAPD analizi sonrasında ebeveyn bitkilerden Tristeza'ya dayanıklılığı bilinen Rubidoux üç yapraklısında ve Yerli üç yapraklıda kullanılan primerlerden dayanıklılık bantları elde edilmiştir. Ancak Cristofani ve arkadaşlarının (1999), belirlediği primerler arasından **OPN08** ve **OPN15** primerlerinden (Çizelge 4.1), Fang ve arkadaşlarının (1998), belirlediği primerler arasından ise **OPE20** primerinden 920 bç büyüklüğünde ilgili DNA bölgesinin çoğaltımı sağlanamamıştır (Çizelge 4.5). Tristeza'ya duyarlı ya da tolerant olarak bilinen ebeveynlerde ise **OPG06**, **OPO12**, **OPO04**, **OPG09**, **OPK16**, **OPG18** primerlerinde ilgili bant büyüklüğünü verdiği görülmüştür. Ancak ebeveynlerin tristezaya dayanıklı, tolerant ya da duyarlı olma durumlarının genetik mekanizması (RR, Rr, rr) bilinmemektedir. Ebeveynlerdeki dayanıklılık bantlarının varlığını kesinleştirmek amacı ile ko-dominant markör sistemi kullanılmalı ve virüs testlemeleri yapılarak doğrulanmalıdır.

Tez çalışması kapsamında, Sunki mandarini x Rubidoux üç yapraklısı, Çin turuncu x Rubidoux üç yapraklısı ve Gou tou turuncu x Yerli üç yapraklı kombinasyonlarından elde edilen melez bireyler kullanılmıştır (Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3). Kullanılan tüm melez bireylere ait RAPD analiz sonuçları Ek 1-9'da sunulmuştur.



Şekil 4.1. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerine ait görüntü



Şekil 4.2. Çin turuncu x Rubidoux melezlerine ait görüntü

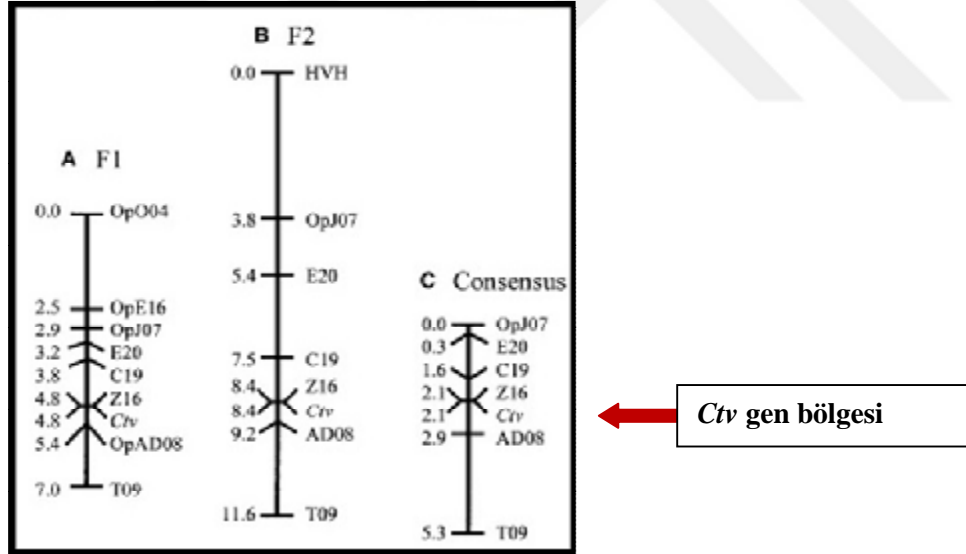


Şekil 4.3. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerine ait görüntü

Fang ve ark (1998), oluşturduğu 10 populasyonda (Çizelge 4.6) *Ctv* geninin 5 cM etrafındaki primerler (Şekil 4.4) bu tez çalışmasında kullanılmıştır. Oluşturulan 10 populasyonda ortak bir şekilde segregen olan 6 primerin haricinde dayanıklılık bantlarının varlığını gösteren diğer primerler de bu çalışmada kullanılmıştır (Çizelge 3.4). Bu primerlerin farklı melez kombinasyonlarındaki PCR reaksiyonları sonrası Çin turuncu x Rubidoux üç yapraklısı melezlerine ait sonuçlar Ek-1-4'de, Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerine ait sonuçlar Ek-5-8'de, Sunki mandarini x Rubidoux üç yapraklısı melezlerine ait sonuçlar Ek-9-12'de sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Fang ve ark, (1998)'nin kullandığı ebeveyn bitkiler

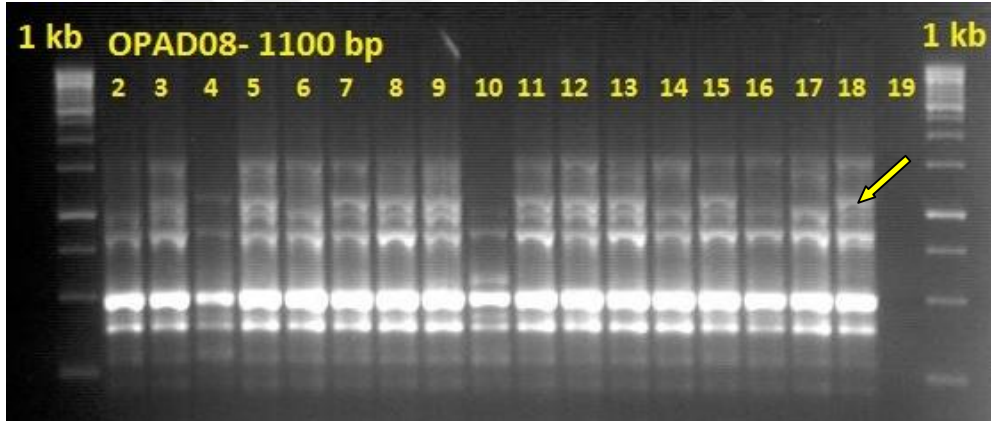
Fang ve ark., (1998)		
Populasyon	Anne	Baba
1	<i>Citrus taiwanica</i>	<i>Poncirus trifoliata</i> cv. Webber Fawcett
2	<i>C. maxima</i> cv. Chandler	<i>P. trifoliata</i> cv. Rubidoux
3	<i>C. maxima</i> cv. Chandler	<i>P. trifoliata</i> cv. Webber Fawcett
4	<i>C. maxima</i> cv. Tahitian	<i>P. trifoliata</i> cv. Flying Dragon
5	<i>C. maxima</i> cv. Tahitian	Carrizo citrange
6	<i>C. sinensis</i> cv. Ruby	<i>P. trifoliata</i> cv. Flying Dragon
7	Scaton citrumelo	Troyer citrange
8	<i>P. trifoliata</i> cv. Pomeroy	<i>P. trifoliata</i> cv. Pomeroy
9	<i>P. trifoliata</i> cv. Flying Dragon	<i>P. trifoliata</i> cv. Flying Dragon
10	<i>P. trifoliata</i> cv. Flying Dragon	C-35 citrange



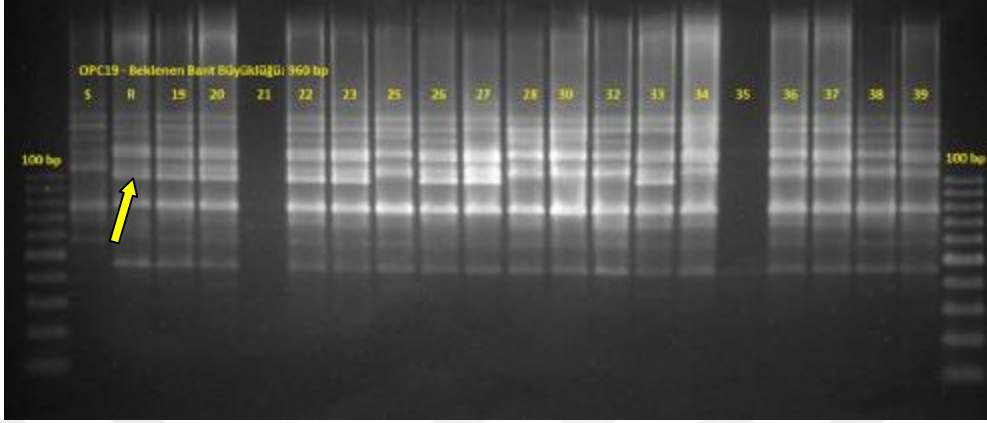
Şekil 4.4. (A) 1.-6. Populasyonlara ait birleştirilmiş bağlantı haritası, (B) 7.-9. Populasyonlara ait birleştirilmiş bağlantı haritası, (C) Join map 2.0 programı kullanılarak oluşturulmuş 10 populasyona ait ortak harita. (MAP MAKER 3.0.) Uzaklık birimi cM'dır (Fang ve ark, 1998).

Fang ve ark (1998), genetik haritalama sonrası oluşturdukları birleştirilmiş haritada elde edilen gen bölgesine 5 cM mesafeye kadar olan markörlerin **OPC19**, **OPJ07**, **OPT09**, **OPZ16**, **OPE20**, **OPAD08** olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, kullanılan OPAD08 primerinin Deng ve ark (1997), tarafından kullanılan melez kombinasyonlarında da dayanıklılık bandı verdiği ve *Ctv* genine 2 cM mesafede bulunduğu belirtilmiştir. Fang ve ark (1998), **OPAD08** ve **OPZ16** primerlerinin tüm populasyonda açılım gösterdiğini bildirmişlerdir.

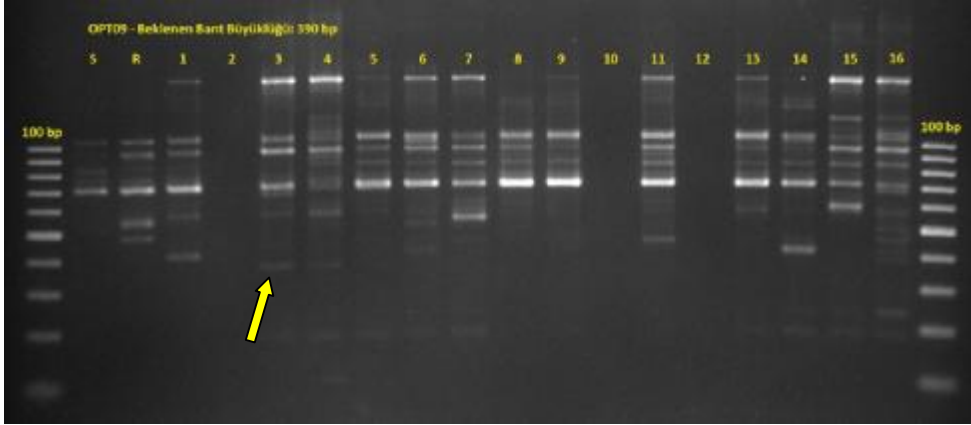
Aynı primerlerin kullanıldığı bu tez çalışmasında **Sunki mandarini x Rubidoux** melezlerinde **OPAD08**, **OPC19**, **OPE16**, **OPJ07**, **OPO04**, **OPO12**, **OPT09**, **OPZ16**, **OPE20** primerlerinin dayanımla ilgili bant verdiği gözlenmiştir (Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7).



Şekil 4.5. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPAD08 primerine ait jel görüntüsü



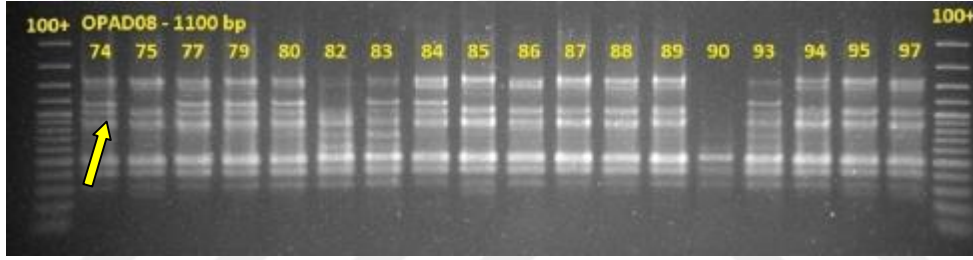
Şekil 4.6. Sunki mandarini x Rubidux melezlerinde OPC19 primerine ait jel görüntüsü



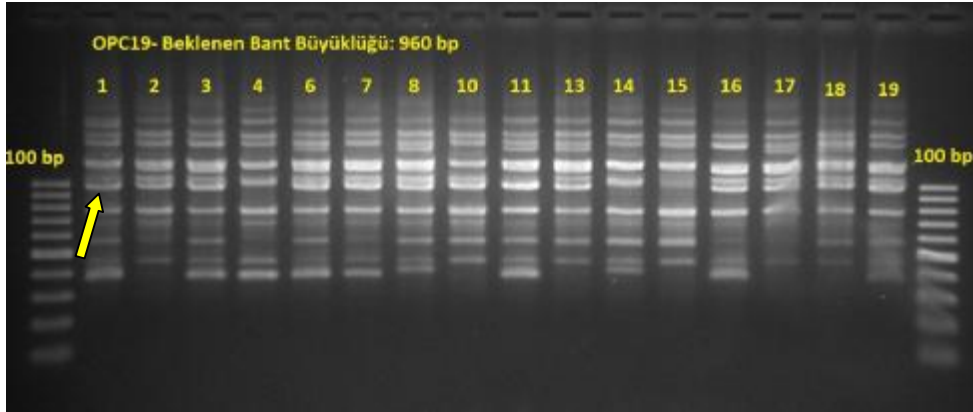
Şekil 4.7. Sunki mandarini x Rubidux melezlerinde OPT09 primerine ait jel görüntüsü

Çalışmamızda kullanılan **Çin turuncu x Rubidoux** melez kombinasyonlarında **OPAD08**, **OPE16**, **OPO04**, **OPE20** primerlerinin tüm popülasyonda PCR reaksiyonlarından istenilen şekilde amplifikasyon elde edilmiş, dayanıklılık bandı görülen melezler bireyler skorlanmıştır. **OPZ16** primeri ile bu kombinasyondaki melezlerdeki tüm bitkilerde üç kez PCR reaksiyonları gerçekleştirilmesine rağmen hiçbir gen bölgesinin çoğaltılmadığı görülmüştür. **OPJ07** primerine ait PCR reaksiyonları popülasyondaki 41 bitkide sorunsuz

gerçekleşmiş ve dayanıklı olduğu bilinen melezler belirlenirken populyasyondaki diğer 51 bitkide amplifikasyon gerçekleşmemiştir. **OPO12** primerinin ise sadece 1 melez bireyde, **OPC19** primerinin ise 5 adet melezde sonuç vermediği görülmüştür. **OPF19** ve **OPAD02** primeri 21 genotipin, **OPAF05** 13 genotipin, haricindeki melezlerde bant elde edilmiş ve dayanıklılık bandını gösteren melez bireyler seçilmiştir. **OPJ20** ve **OPL04**, **OPW18**, **OPAF07**, **OPG06** primerleri **Çin turuncu x Rubidoux** kombinasyonuna ait tüm melezlerden skorlanabilir sonuçlar elde edilmiştir. Çin turuncu x Rubidoux melez kombinasyonlarında **OPAD08** ve **OPC19** primerlerine ait görüntü Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da sunulmuştur.

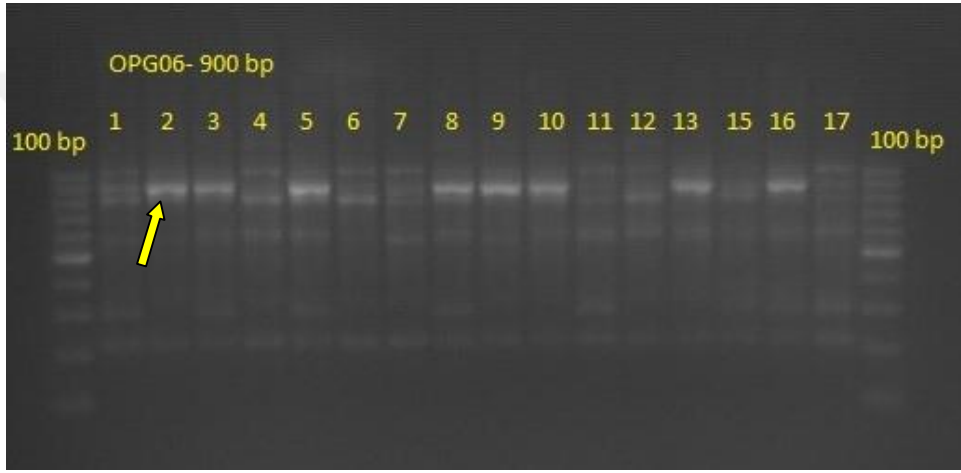


Şekil 4.8. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPAD08 primerine ait jel görüntüsü

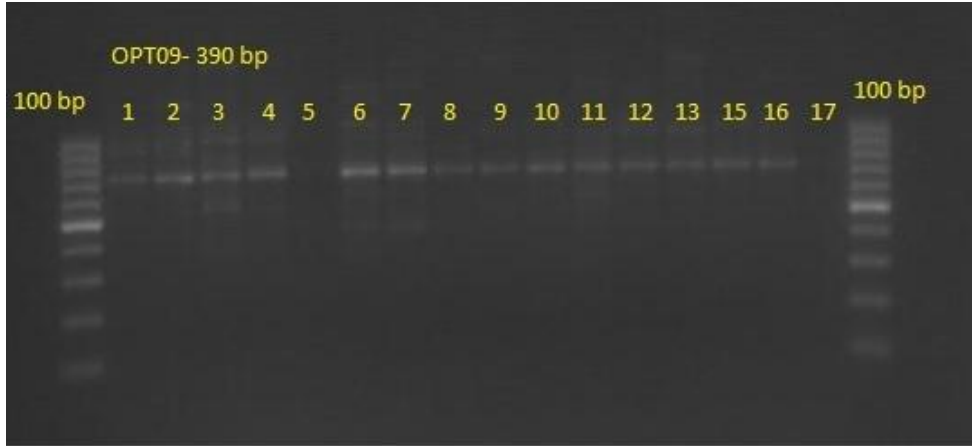


Şekil 4.9. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPC19 primerine ait jel görüntüsü

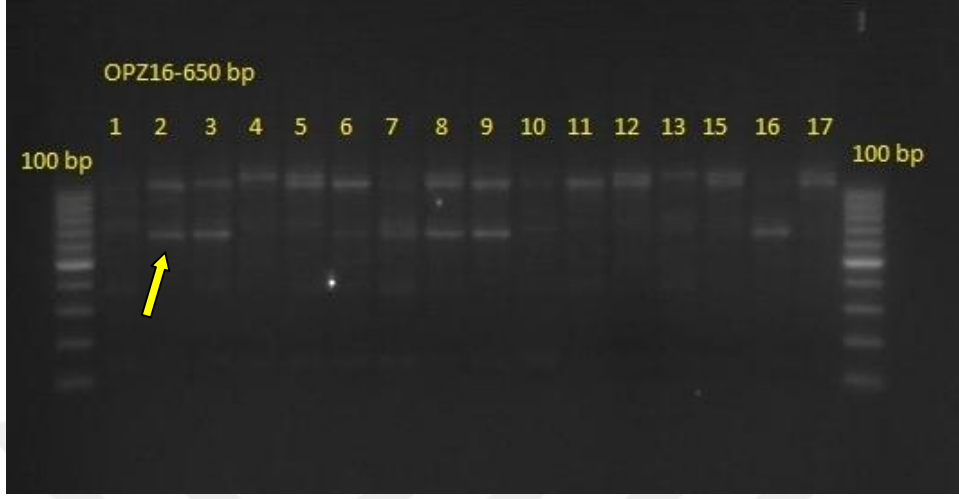
Çalışmada kullanılan **Gou tou x Yerli üç yapraklı** melezlerinde ise Fang ve ark., (1998)'nin kullandığı 554 melez bitkide çalıştığı gözlenen primerlerden olan **OPC17** primerinin 9 melezde ve **OPZ16** primerinin ise 3 melezde istenilen amplifikasyonu gerçekleştirilemediği gözlenmiştir. Kullanılan diğer primerlerin ise skorlanabilir sonuçlar verdiği gözlenmiş ve dayanıklı özellik gösteren melez bireyler değerlendirilmeye alınmıştır (Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12).



Şekil 4.10. Gou tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPG06 primerine ait jel görüntüsü



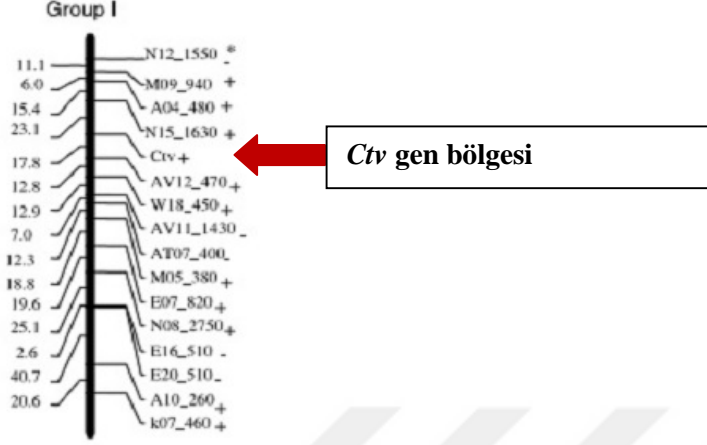
Şekil 4.11. Gou tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPT09 primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.12. Gou tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPZ16 primerine ait jel görüntüsü

Ayrıca, Fang ve ark (1998), geniş çiçekli grubundaki üç yapraklılardan segregе olduğunu belirttiği **OPC19** ve **OPZ16** pimerlerinin bu çalışmada kullanılan küçük çiçekli gruba ait Rubidoux üç yapraklısı ve Yerli üç yapraklılarla oluşturulan melezleme kombinasyonlarından Sunki mandrini x Rubidoux ve Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde ilgili bantlar elde edilmiştir. Bu da geniş çiçekli ve küçük çiçeklilerde dayanımı sağlayan gen bölgesinin ortak olmasından kaynaklandığı söylenebilir.

Cristofani ve ark (1999), Sunki mandarini x Rubidoux melezlerini kullanarak Sunki mandarini ve Rubidoux üç yapraklısına ait bağlantı haritalarını RAPD primerleri ile oluşturmuşlardır. Oluşturulan genetik haritanın 1. grubunda yer alan **OPAV12** ve **OPN15** primerlerinin dayanıklılık genine olan uzaklıklarını sırasıyla 17.8 cM ve 23.1 cM olarak belirlemişlerdir (Şekil 4.13). Gen bölgesine 5 cM'dan daha uzak mesafede bulunan markırların rekombinasyon sıklığının artabileceği ve genomda aranılan bölgede herhangi bir çoğaltım ürünü elde edilmeyeceği göz önünde bulundurulmalıdır.

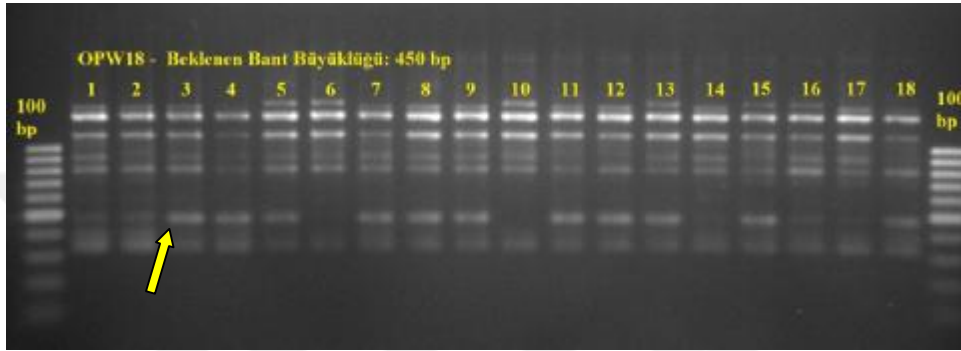


Şekil 4.13. *P. trifoliata* genetik haritasının 1. bağlantı grubu (Cristofani ve ark, 1999)

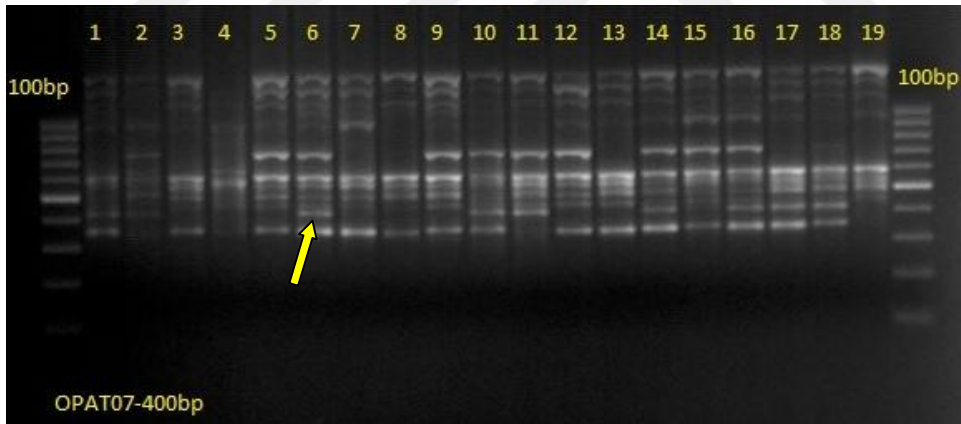
Tez çalışması kapsamında Cristofani ve ark (1999), tarafından geliştirilen primerlerin kullanılması ile melez kombinasyonlarından sadece **Çin turuncu x Rubidoux** melez kombinasyonundan **OPAV12** ve **OPN15** primerlerinden istenilen amplifikasyon ürünü elde edilmiş ve her iki primerin dayanıklılık bandı verdiği 26 melez birey (60, 61, 63, 65, 71, 74, 75, 77, 80, 83, 86, 93, 95, 97, 102, 104, 105, 106, 108, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 116 nolu melezler) belirlenmiştir. Bu markörler genin her iki tarafındaki korunmuş bölgedeki (flanking) primerler olmasından dolayı rekombinasyon sıklığının düşük olması sonucunda iki markör arasındaki dayanıklılık gen bölgesini içerebilmektedir (Frish ve ark, 1999). Diğer melez kombinasyonlarında ise **OPAV12** primerinden dayanıklılığa dair beklenen bant elde edilirken, **OPN15** primerine ait amplifikasyon ürünü elde edilmemiştir. Bu durumun, markörlerin dayanıklılık genine olan uzaklıklarının 5 cM'dan daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Collard ve Mackill (2008), markörün hedef gene 5 cM'dan daha yakın mesafede bulunmasının markörün güvenilirliğini artırdığını belirtmiştir.

Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde ise **OPAV12**, **OPW18**, **OPN08**, **OPAT07**, **OPA04**, **OPN15**, **OPE16** ve **OPM05** primerleri skorlanabilir

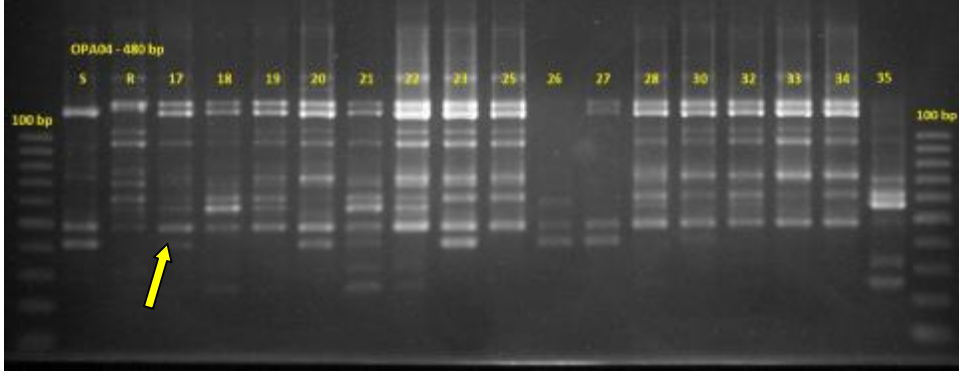
sonuçlar vermiştir (Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16). **OPN15**, **OPE07**, **OPN08** primerlerinden dayanıklılık bandı elde edilmemiştir. **OPE16** primerinde 16, **OPAV11** primerinde 6, **OPE07** primerinde 4 melez bitkide PCR reaksiyonları gerçekleşmemiştir.



Şekil 4.14. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPW18 primerine ait jel görüntüsü

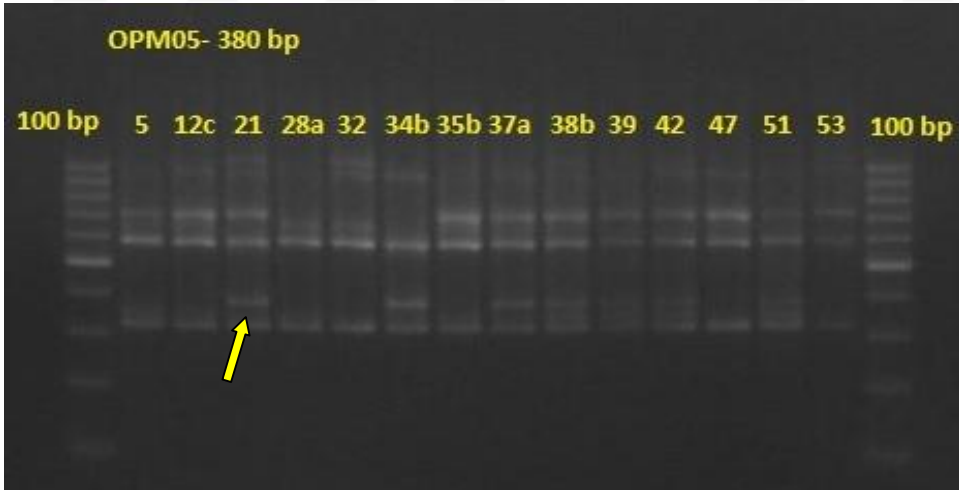


Şekil 4.15. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPAT07 primerine ait jel görüntüsü

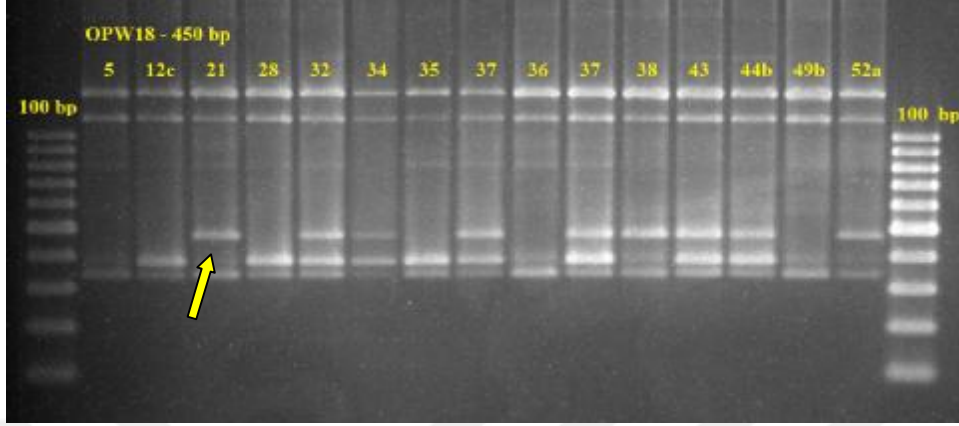


Şekil 4.16. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPA04 primerine ait jel görüntüsü

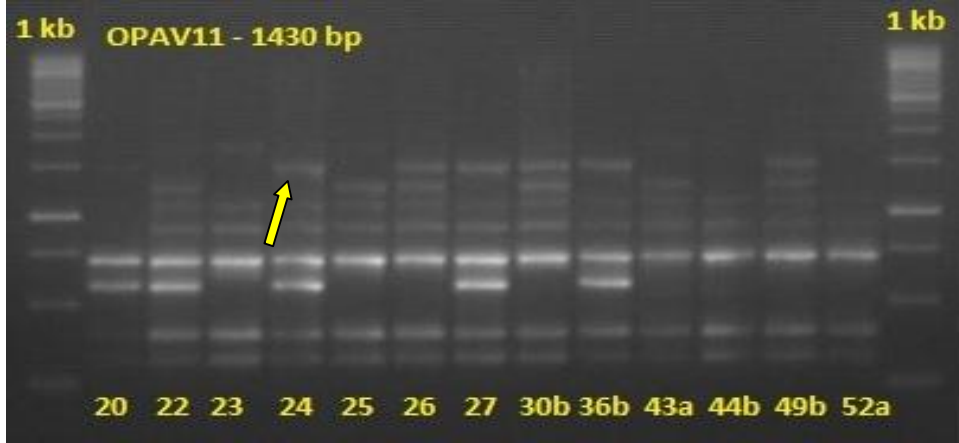
Çin turuncu x Rubidoux kombinasyonuna ait melezlerde **OPE20**, **OPM05** primeri tüm melezlerde skorlanabilir sonuçlar vermiştir. **OPW18** primerinde 7, **OPAV12** primerinde 4, **OPAV11** primerinde 36, **OPE07** primerinde 32, **OPA04** primerinde 11, **OPN15** primerinde 11 melez bitkide PCR reaksiyonları gerçekleşmemiştir (Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19).



Şekil 4.17. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPM05 primerine ait jel görüntüsü

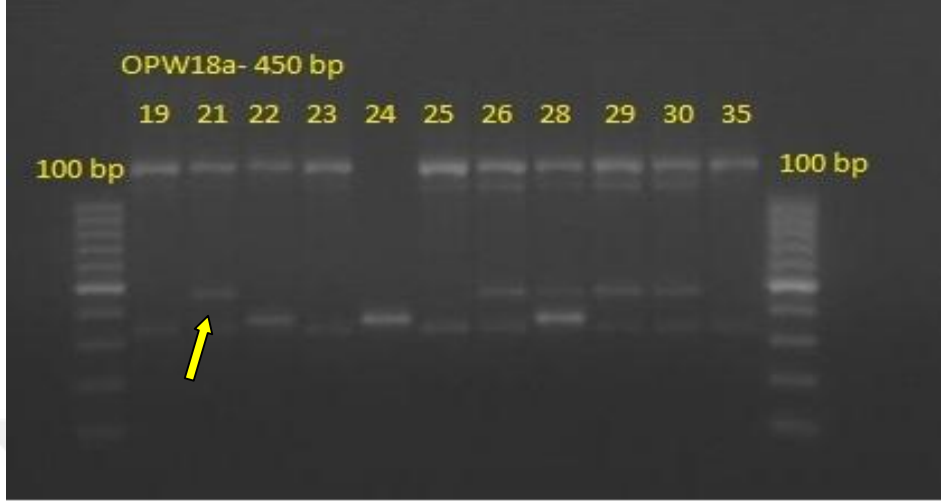


Şekil 4.18. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPW18 primerine ait jel görüntüsü

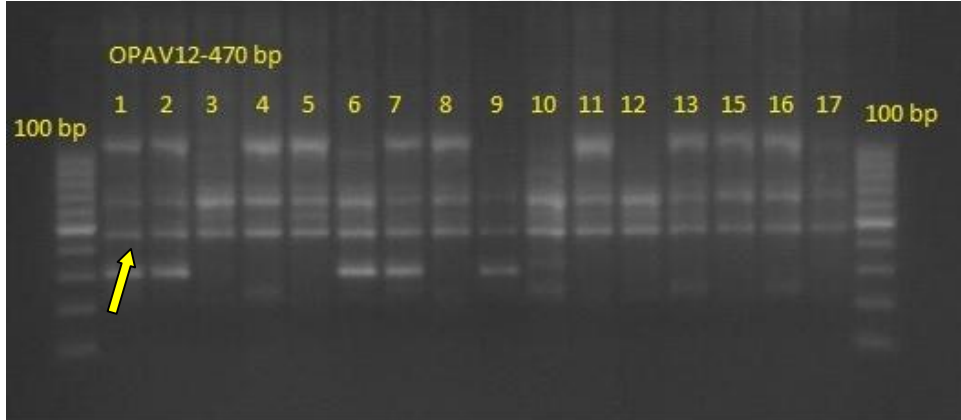


Şekil 4.19. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPAV11 primerine ait jel görüntüsü

Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde **OPM05** primerinde 17 melez bitkide PCR reaksiyonları gerçekleşmemiştir. **OPAV11**, **OPN08**, **OPE07**, **OPN15** primerleri skorlanmış ancak dayanıklılık bandı görülmemiştir. **OPW18**, **OPAV12**, **OPAT07**, **OPE20** ve **OPA04** primerlerinden dayanıklılık bandı elde edilmiş ve dayanıklı olan ve olmayan bireylerde var (+) yok (-) değerlendirmesi yapılmıştır (Şekil 4.20, Şekil 4.21).



Şekil 4.20. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPAW18 primerine ait jel görüntüsü

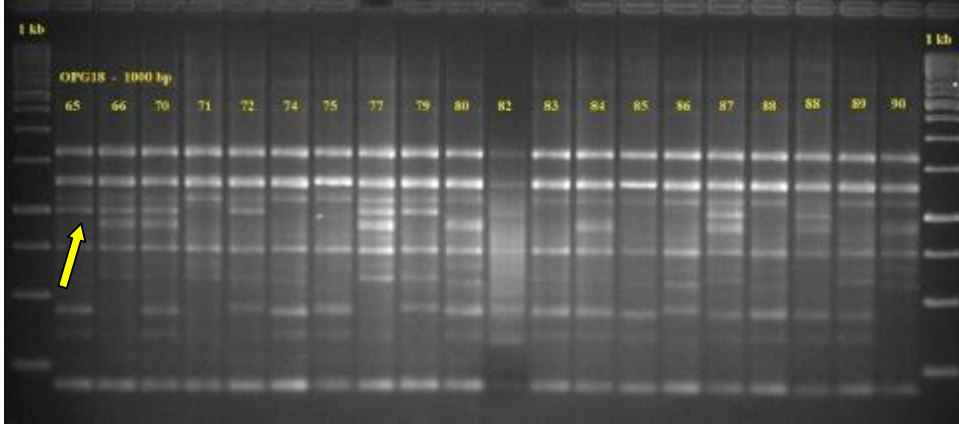


Şekil 4.21. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPAV12 primerine ait jel görüntüsü

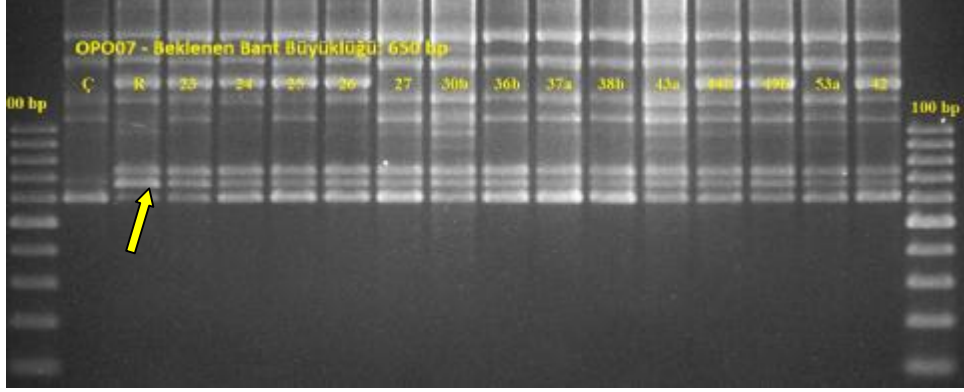
Cristofani ve ark (1999), Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinden haritalama sonucu geliştirdikleri **OPAV12** ve **OPN15** RAPD markırlarını 2000 yılında *P. trifoliata*'nın farklı çeşit ve melezlerinde denemişlerdir. Geliştirilen markörlerden rekombinasyon olasılıkları sırasıyla %17.8 ve %23.1 olan **OPAV12** ve **OPN15** markörleri ile taranan bitkilerden bazı gruplarda tristeza hastalığının görülmesi bulunan markörlerin *Ctv* genine uzaklığını ve rekombinasyon sıklığını

düşündürmüştür. **OPAV12** ve **OPN15** primerlerinin birlikte taranması durumunda ise rekombinasyon sıklığının %4.20'ye düştüğü belirtilmiştir.

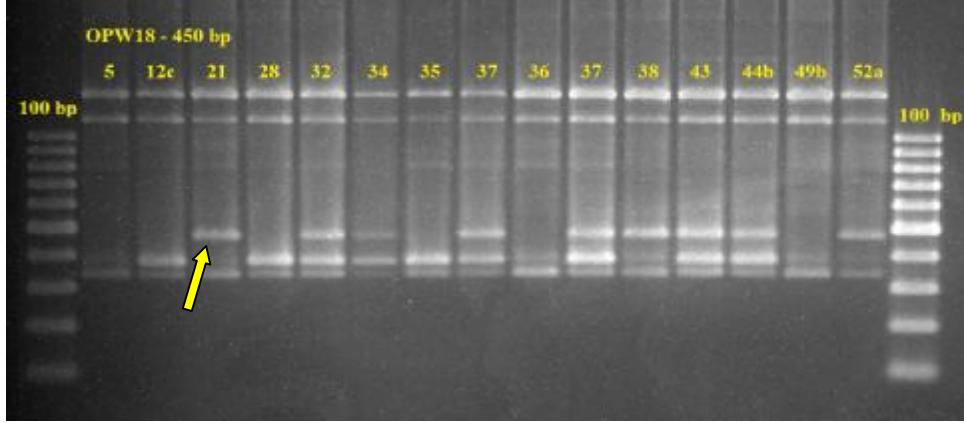
Mestre ve ark (1997a), tristeza virüsünde dayanıklı Flying Dragon'un kendilenmesi ve Arizona ile melezlenmesi sonucunda oluşan bireylerde bulk segregant analizi yaparak haritalama sonunda dayanıklılık genine bağlı **OPA15**, **OPO07**, **OPW18**, **OPG18**, **OPO10**, RAPD markırlarını bulmuşlardır. Daha sonra yapılacak ıslah çalışmalarında, belirlenen bu markörlerin kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu tez çalışması kapsamında da kullanılan primerlerin melezlerde dayanıklılık bantlarını gösterip göstermeyeceği incelenmiştir. **Çin turuncu x Rubidoux** kombinasyonuna ait melezlerde **OPO10** ve **OPG18** primerlerinin skorlanabilir bantlar verdiği gözlenmiş ve dayanıklılık genine sahip melez bitkiler belirlenmiştir. **OPO07** primerinde 8, **OPA15** primerinde 14, **OPW18** primerinde 6 melez bitkide PCR reaksiyonları gerçekleşmiştir (4.22, 4.23 ve 4.24).



Şekil 4.22. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPG18 primerine ait jel görüntüsü

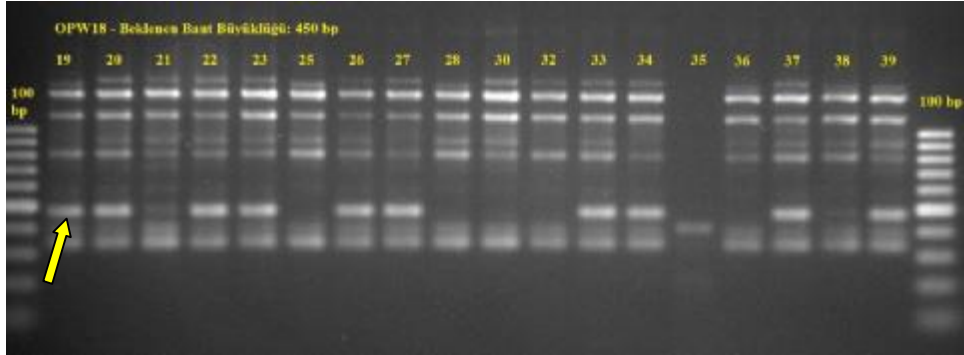


Şekil 4.23. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPO07 primerine ait jel görüntüsü

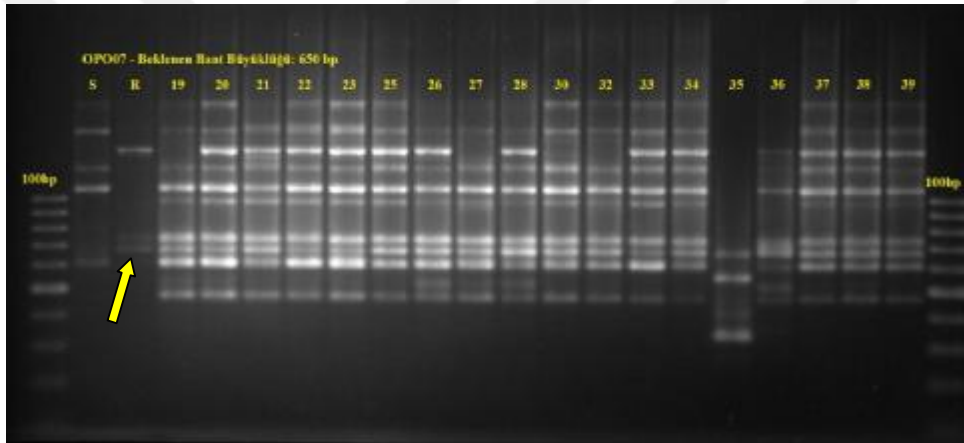


Şekil 4.24. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPW18 primerine ait jel görüntüsü

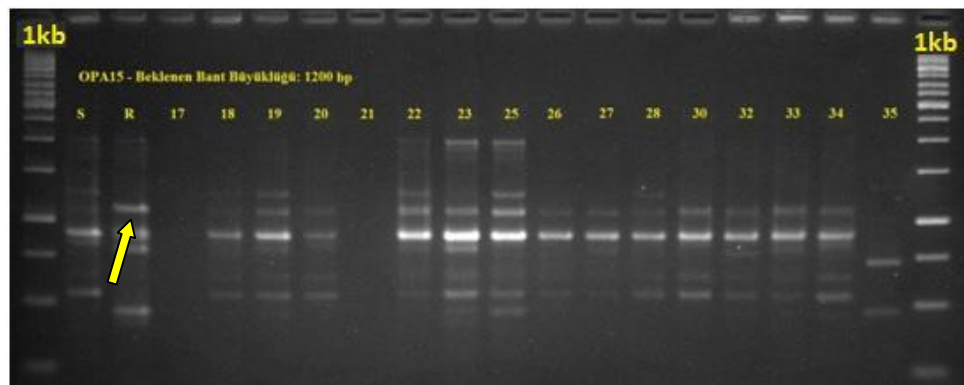
Tez çalışmasında kullanılan **Sunki mandarin x Rubidoux** kombinasyonuna ait melezlerde **OPO07**, **OPG18**, **OPA15**, **OPO10**, **OPW18** primerlerinden PCR reaksiyonları sonrasında sorunsuz bir şekilde ilgili gen bölgesinin çoğaltımı sağlanmıştır. Dayanıklılık bandı görülen melez bireyler değerlendirilmiştir (Şekil 4.25, Şekil 4.26 ve Şekil 4.27).



Şekil 4.25. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPW18 primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.26. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPO07 primerine ait jel görüntüsü

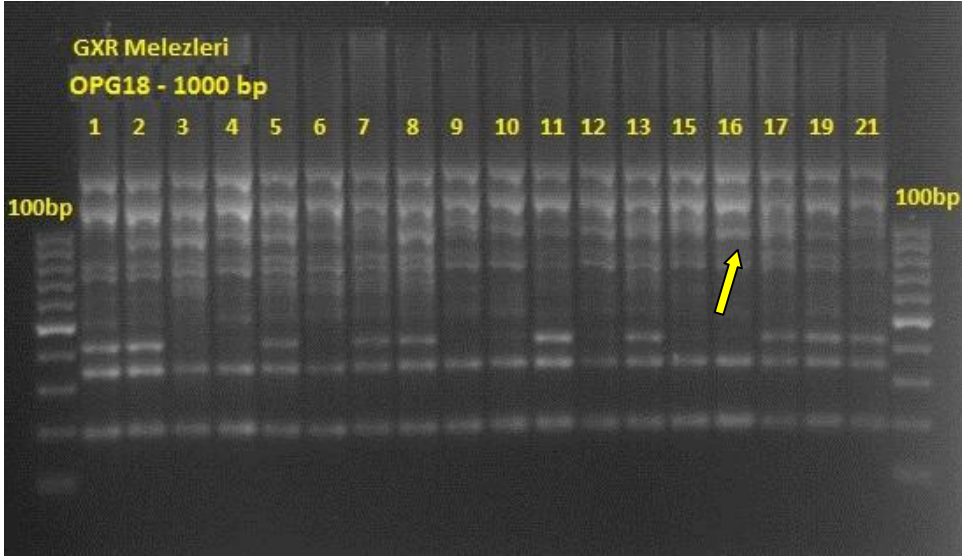


Şekil 4.27. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPA15 primerine ait jel görüntüsü

Diğer melez kombinasyonumuz olan **Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı** melezlerinde de **OPO07**, **OPG18**, **OPA15**, **OPO10**, **OPW18** primerleri başarılı bir şekilde dayanıklılık bantlarının varlığını göstermiştir (Şekil 4.28 ve Şekil 4.29).



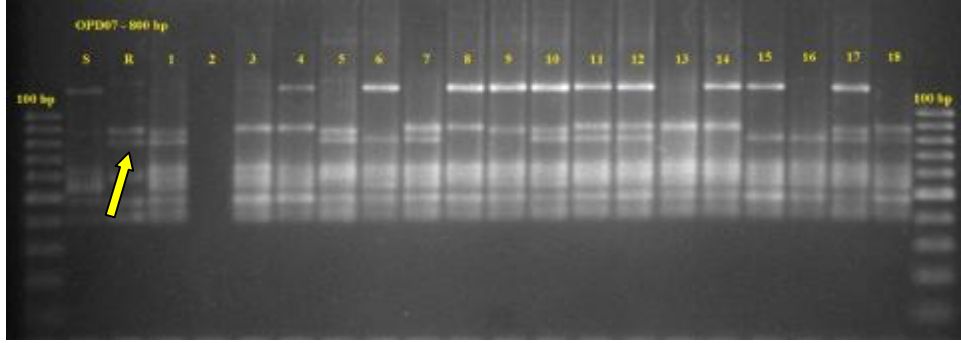
Şekil 4.28 Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPO07 primerine ait jel görüntüsü



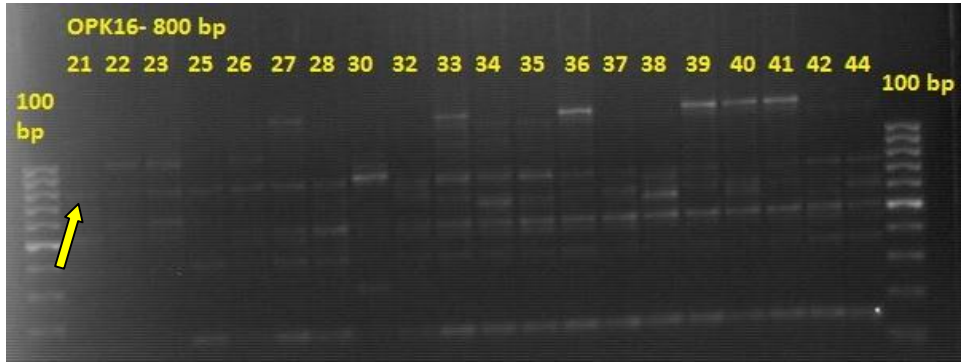
Şekil 4.29. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPG18 primerine ait jel görüntüsü

Mestre ve ark (1997b), arkadaşlarının yaptıkları çalışmada tristeza virüsüne dayanıklılığın mekanizmasını anlamak için oluşturdukları popülasyonlarda *Ctv* genine bağlı **OPD07**, **OPE04**, **OPG09**, **OPG19**, **OPK16** primerlerinin markörler yardımıyla seleksiyonda kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu tez çalışmasındaki melezleme kombinasyonlarına ait deneme sonuçları aşağıda açıklandığı gibidir.

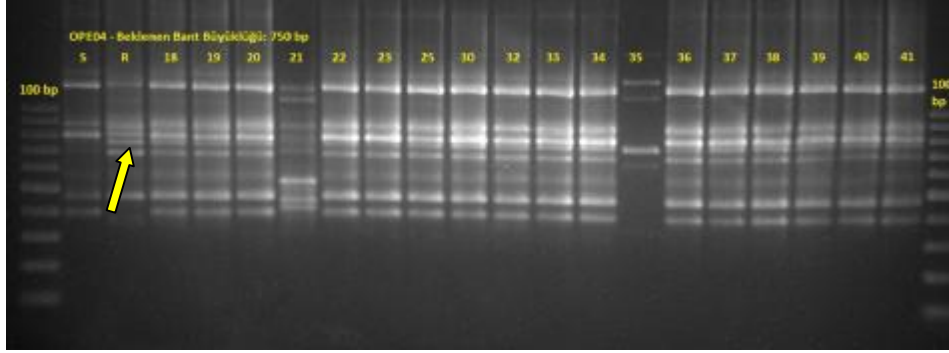
Tez çalışmasında kullanılan **Sunki mandarini x Rubidoux** kombinasyonuna ait melezlerde dayanıklılığı belirten **OPD07**, **OPE04**, **OPG09**, **OPG19**, **OPK16** primerlerinden başarılı değerlendirilebilir sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.30, Şekil 4.31, Şekil 4.32, Şekil 4.33).



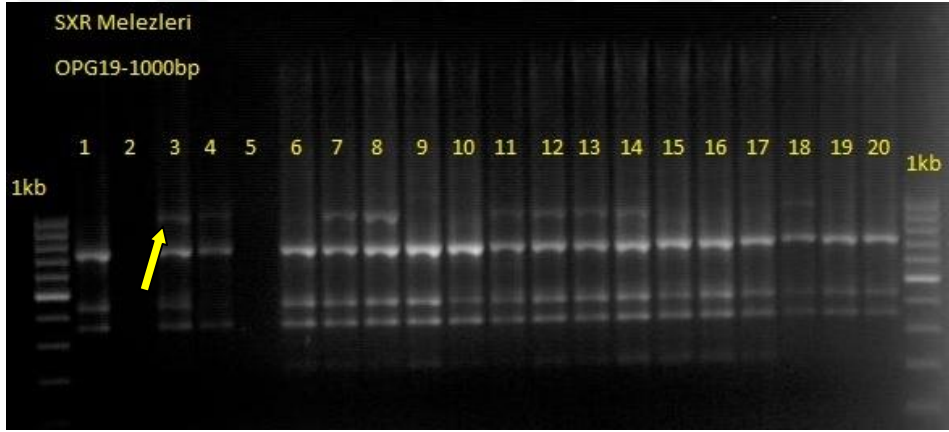
Şekil 4.30. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPD07 primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.31. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPK16 primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.32. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPE04 primerine ait jel görüntüsü

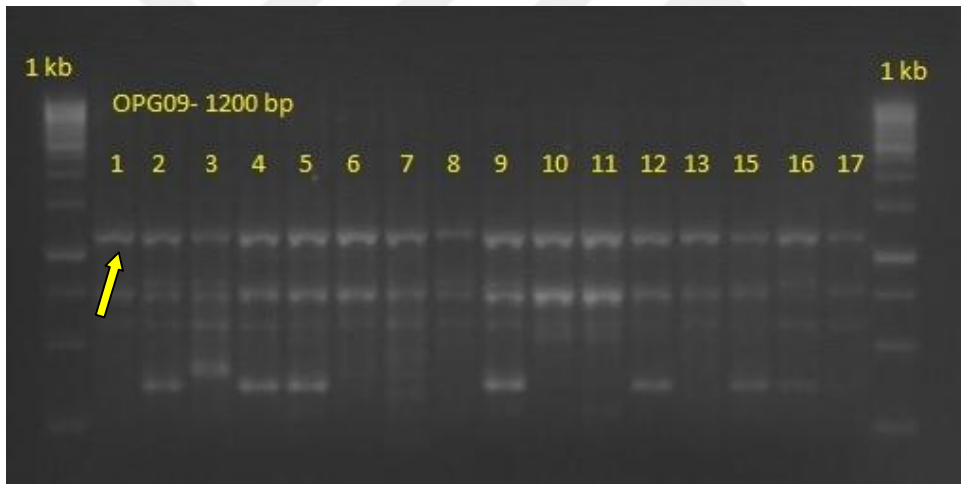


Şekil 4.33. Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinde OPG19 primerine ait jel görüntüsü

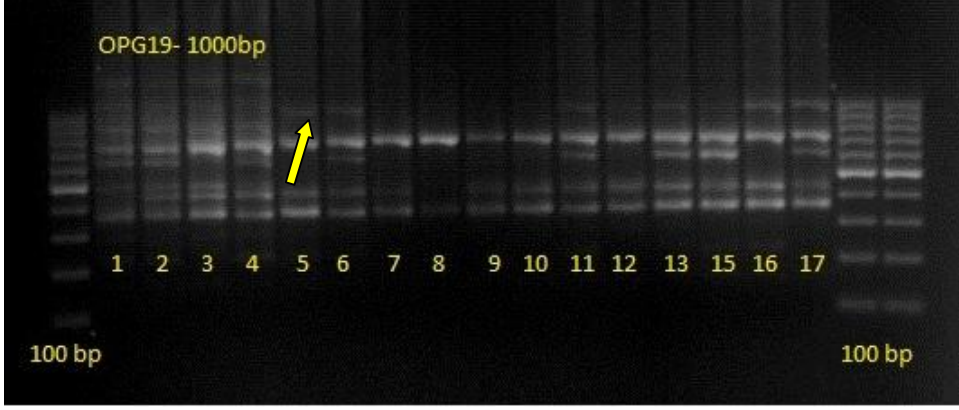
Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde **OPE04** primerinin 11 melezde çalışmadığı gözlenirken **OPD07**, **OPG09**, **OPG19**, **OPK16** primerlerinden başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.34, Şekil 4.35, Şekil 4.36).



Şekil 4.34. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPD07 primerine ait jel görüntüsü

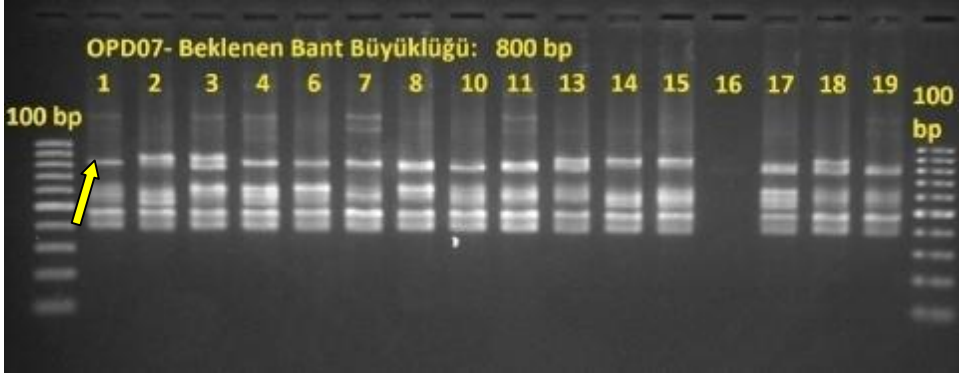


Şekil 4.35. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPG09 primerine ait jel görüntüsü

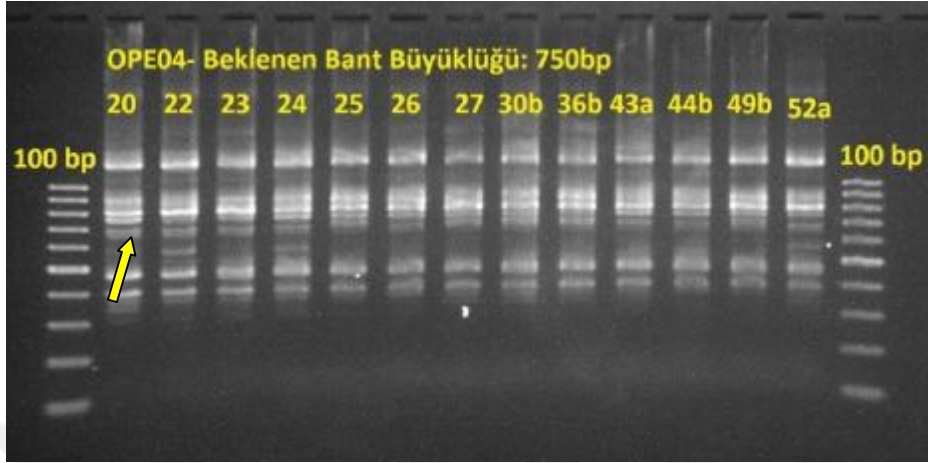


Şekil 4.36. Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde OPG19 primerine ait jel görüntüsü

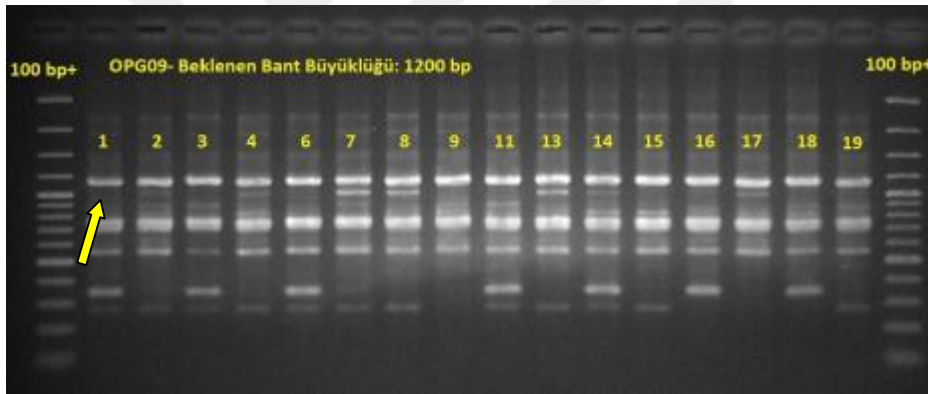
Çin turuncu x Rubidoux melezlerine ait **OPK16** primerinde 20, **OPG09** primerinde 4, **OPE04** primerinde 1, **OPD07** primerinde 23 melezde ilgili gen bölgelerinde çoğalma ürünü gözlenmemiştir. **OPG19** primerinde ise başarılı skorlanabilir sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.37, 4.38, 4.39, 4.40, 4.41).



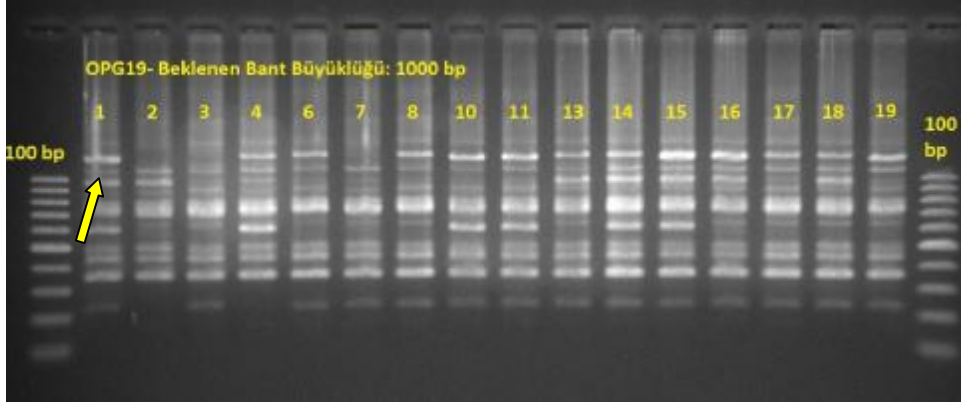
Şekil 4.37. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPD07 primerine ait jel görüntüsü



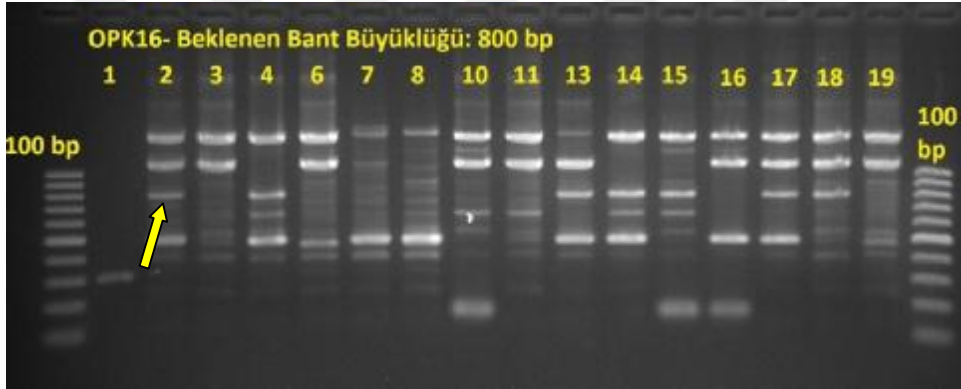
Şekil 4.38. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPE04 primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.39. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPG09 primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.40. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPG19 primerine ait jel görüntüsü



Şekil 4.41. Çin turuncu x Rubidoux melezlerinde OPK16 primerine ait jel görüntüsü

Dayanıklılık ile ilgili bulunan **OPW18** primeri Gmitter ve ark (1996), Mestre ve ark (1997a), Fang ve ark (1998), Cristofani ve ark (1999), tarafından kullanılan dayanıklılık geninin 5 cM civarında bulunan bir markördür. **OPW18** markörü bu tez çalışmasında kullanılan melezleme kombinasyonlarında başarılı ve skorlanabilen sonuçlar vermiştir. Farklı araştırmacıların, farklı ebeveynlerle oluşturulan melezleme kombinasyonlarında kullandığı bu markör virüs inokülasyonu ile testlenmesi sonrasında dayanım genini gösteren markör olarak kabul edilebilir.

Melez bitkilerde amplifikasyonun gerçekleşmediği bitkilerin görülmesi DNA izolasyonu sırasında DNA'yı kirletici bileşiklerin varlığı ve RAPD-PCR'in laboratuvar hassasiyeti göstermesinden kaynaklandığı ya da ilgili genomik bölgenin melez bitkilere aktarılmamasından kaynaklandığı durumlarını ön plana çıkarmaktadır. Ancak DNA izolasyon sonuçları değerlendirildiğinde sonuçlar arasında PCR'a engel teşkil edebilecek kalite ve miktarda DNA'ya rastlanmamıştır. Bu durumda RAPD-PCR'in tekrarlanabilirliğinin düşük olmasından ya da ilgili genomik bölgenin aktarılamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.3. Kullanılan Primerlerin Başarı Oranları

Bu tez çalışmasında kullanılan primerlerin tüm melez kombinasyonlarından elde edilen her bir melez bitki üzerindeki başarı oranları yüzde olarak verilmiştir (Çizelge 4.7, Çizelge 4.8, Çizelge 4.9). Melezler arasından dayanıklılık bandı elde edilen primerler açısından başarı yüzdesi yüksek olan melezler seçilmiştir.

Sunki mandarini x Rubidoux üç yapraklısına ait her melezde kullanılan primerlerin başarı oranları %39,5 ile %65,8 arasında değişmektedir. Bu kombinasyonda dayanıklılık çalışmaları için önerilebilecek melezlerin %60 ve üzerinde başarı elde edilen 3, 4, 5, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 19, 20, 26, 27, 33, 34, 37, 42 ve 47 numaralı melezler olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Primerlerin Sunki mandarini x Rubidoux melezlerine ait başarı oranları

SXR Melezleri	Primerlerin başarı %'si	SXR Melezleri	Primerlerin başarı %'si	SXR Melezleri	Primerlerin başarı %'si
1	54,28	17	51,42	37	60
2	42,85	18	54,28	38	48,57
3	65,71	19	60	39	57,14
4	60	20	68,57	40	54,28
5	68,57	21	48,57	41	51,42
6	51,42	22	57,14	42	65,71
7	68,57	23	54,28	44	51,42
8	65,71	25	54,28	46	57,14
9	60	26	60	47	62,85
10	57,14	27	60		
11	57,14	28	48,57		
12	68,57	30	57,14		
13	65,71	32	45,71		
14	60	33	62,85		
15	51,42	34	62,85		
16	51,42	36	45,71		

Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerindeki başarı oranının % 37,8 ile % 59,5 arasında değiştiği görülmektedir. Bu kombinasyonlardaki başarı oranının düşük olması sebebi ile önerilebilecek melezlerin primer başarı yüzdesi %55'in üzerindeki melezlerin 11, 12, 15, 17 numaralı melezler olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Primerlerin Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerine ait başarı oranları

GXY Melezleri	Primerlerin başarı %'si	GXY Meleleri	Primerlerin başarı %'si
1	48,57	15	57,14
2	45,71	16	54,28
3	48,57	17	60
4	51,42	19	40
5	54,28	21	51,42
6	54,28	22	45,71
7	57,14	23	48,57
8	42,85	24	40
9	40,0	25	40
10	42,85	26	48,57
11	57,14	28	40
12	57,14	29	37,14
13	42,85	30	48,57
		35	45,71

Çin turuncu x Rubidoux üç yapraklısı melezlerindeki başarı oranının % 27,8 ile % 63,9 arasında değiştiği görülmektedir. Dayanıklılık çalışmalarında kullanılabilir melezlerin 23, 41, 61, 74 numaralı melezler olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Primerlerin Çin turuncu x Rubidoux üç yapraklısı melezlerine ait başarı oranları

ÇXR Melezleri	Primerlerin başarı %'si	ÇXR Melezleri	Primerlerin başarı %'si
1	40	24	37,14
2	48,57	25	40
3	45,71	26	37,14
4	48,57	27	45,71
5	34,28	28	45,71
6	51,42	29	48,57
7	54,28	30	51,42
8	48,57	32	48,57
9	31,42	33	42,85
10	28,57	34	57,14
11	48,57	35	37,14
12	31,42	36	45,71
13	37,14	37	57,14
14	45,71	38	54,28
15	57,14	39	48,57
16	51,42	41	63,9
17	57,14	42	48,57
18	51,42	43	45,71
19	54,28	44	42,85
20	36,1	45	45,71
21	48,57	46	57,14
22	48,57	47	42,85
23	65,71	49	51,42

Çizelge 4.9.'un devamı

ÇXR Melezleri	Primerlerin başarı %'si	ÇXR Melezleri	Primerlerin başarı %'si
50	54,28	90	42,85
53	34,28	93	57,14
55	54,28	94	57,14
60	54,28	95	42,85
61	65,71	97	48,57
62	42,85	99	42,85
63	57,14	100	34,28
65	54,28	102	51,42
70	57,14	103	40
71	45,71	104	42,85
72	51,42	105	42,85
74	65,71	106	40
75	48,57	107	30,6
77	51,42	108	45,71
79	51,42	109	57,14
80	48,57	110	37,14
82	34,28	111	37,14
83	45,71	112	34,28
84	57,14	113	40
85	45,71	114	40
86	37,14	115	42,85
87	51,42	116	40
89	42,85	117	51,42

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ülkemizde var olan ancak zararı şimdilik ortaya çıkmayan tristeza virüsünün yayılması durumunda ülkemiz turunçgil endüstrisi dünyadaki örneklerde olduğu gibi büyük zarar görecektir. Üretimin yoğun yapıldığı özellikle Akdeniz bölgesinde, Ege bölgesinin bir bölümünde kullanılan turunç anacının bu virüse duyarlı oluşu üretimi ve kaliteyi düşürecektir. Bu zararı engellemek amacı ile virüsün etkisine dayanıklı anaçlar geliştirilmesi turunçgil endüstrisini koruma altına alacaktır.

Turunçgil anaç ıslahı çalışmalarında hastalık ve zararlılara dayanıklılık büyük öneme sahiptir. Doğada kendiliğinden var olan dayanıklılık mekanizmalarını uygun ıslah metotları ile anaç ya da çeşitlere aktarmak günümüzün amaçları arasındadır. Islah edilerek olumlu özelliği aktarılmak istenen genlerin genomdaki ve kromozomdaki yerlerini belirlemek, ıslah çalışmaları sonrası mezlere aktarılıp aktarılmadığını araştırmak, klasik ıslah ve biyoteknolojik yöntemlerle açığa kavuşturulabilir.

Bu çalışmada kullanılan MAS yöntemi de daha önce yapılan haritalama çalışmalardan seçilen markörlerin klasik ıslahla birleştirilmesi ile ıslahın etkin bir şekilde ilerlemesine katkıda bulunmuştur. Tristeza virüsüne dayanıklılık geninin **tek ve dominant** bir gen olması dolayısı ile kalıtımı kolay bir özellik olup melezler arasından dayanıklı olanların seçimi çok gen tarafından idare edilen genlere göre daha kolay olmaktadır.

Markörler yardımı ile seleksiyon yöntemi ile istenilen özelliklerin seçimi kolaylaşmaktadır. Elde edilen dayanıklı melez bitkiler daha ileriki dönemlerde tristeza hastalığına dayanıklı anaç olarak pazara sunulması ile Ülkemizin bu hastalıktan korunup üreticilerin, tüketicilerin, ülkemiz ihracatının tristeza virüsünün neden olacağı ekonomik zarardan etkilenmemesi amaçlanmaktadır.

MAS ile elde edilen melez bitkiler arasından istenilen genomik bölgenin aktarıldığı bitkiler erken dönemde seçilerek zaman, emek ve para açısından tasarruf sağlanabilir.

Bu tez çalışmasında da üç farklı melez kombinasyonu kullanılarak elde edilen 160 melez bitkinin tristeza virüsüne dayanıklılık durumları literatürden seçilen ve dayanıklılığı belirleyen 35 adet RAPD markörü ile taranmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre farklı kombinasyonlara ait 160 melez bitki arasından;

- Sunki mandarini x Rubidoux melezlerinden 18 adet bitki (3, 4, 5, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 19, 20, 26, 27, 33, 34, 37, 42, 47 nolu) belirlenmiştir.
- Çin turuncu x Rubidoux melezlerinden primer başarı oranı yüksek olan 4 adet bitki (23, 41, 61, 74 nolu), ayrıca **Çin turuncu x Rubidoux** melez kombinasyonundan **OPAV12** ve **OPN15** primerlerinden istenilen amplifikasyon ürünü elde edilmesi ile ilgili gen bölgesini içerebileceği düşünülen 26 melez bitki (60, 61, 63, 65, 71, 74, 75, 77, 80, 83, 86, 93, 95, 97, 102, 104, 105, 106, 108, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 116 nolu melezler) belirlenmiştir.
- Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinden 4 adet bitki (11, 12, 15, 17 nolu) tristeza virüsüne dayanıklılık açısından ön plana çıkmaktadır.

Kullanılan bu markörlerin dayanıklılığı kesin olarak sağlayıp sağlamadığının kanıtlanabilmesi ve bu primerlerin kullanımının geçerli kabul edilebilmesi için tristeza virüsünün belirlenen bitkilere inokülasyonu ile mümkün olacaktır.

Bu çalışmada markörler yardımı ile seleksiyonda RAPD tekniği kullanılmıştır ve melezler arasındaki dayanıklılık bandı açısından farklılığı göstermiştir. Ancak, kullanılan RAPD tekniği dominant bir markördür, ebeveynlerin ve melez bitkilerin tristeza virüsüne genetik olarak dayanıklılık

durumları (RR, Rr, rr) bilinmemektedir. Sonuçlarda tristeza virüsüne tolerans olduğu bilinen ve bu çalışmada ebeveyn olarak kullanılan Sunki mandarini ve Gou tou turuncunda OPG18, OPG09, OPK16, OPO12, OPG06 markörlerinden dayanıklılık bantları elde edilmiştir. Bu durumda bir sonraki çalışmada dominant bir markör olan RAPD markörünün kodominant bir markör olan SCAR markörüne dönüştürülmesi sonraki zamanlarda yapılacak olan ıslah çalışmaları açısından önem arz etmektedir. Temel bir çalışma niteliğinde olan RAPD markörlerinin SCAR markörüne çevrilmesi ile ebeveyn ve melez bireylerin dayanıklılık durumları hakkında daha kesin bilgi elde edilecektir.



KAYNAKLAR

- Abou Kubaa, R., D'Onghia, A.M., Djelouah, K., Savino, V., Saponari, M., 2012. Characterization of Citrus Tristeza Virus Isolates Recovered in Syria and Apulia (Southern Italy) Using Different Molecular Tools. *Phytopathologia Mediterranea* 51, 496–504.
- Açıklan-Cücü, E., Pekmezci, M., Yeşiloğlu, T., 2008. Yerli Turunç, Carrizo ve Troyer Sitranjı Anaçlarının Antalya Koşullarında Yetiştirilen İnterdonato Çeşidinin Meyve Verim ve Kalitesi ile Ağaç Gelişimi Üzerine Etkileri. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*,5(1),33-44.
- Afechtal, M., Djelouah, K., Cocuzza, G., D'onghia, A.M., 2015. Large Scale Survey of *Citrus Tristeza Virus* (CTV) and Its Aphid Vectors in Morocco. XII International Citrus Congress - International Society Of Citriculture. Book Series:Acta Horticulturae Volume: 1065 Pages: 753-757 Published: 2015.
- Aksu, M., Şahin-Çevik M., 2014. Moleküler Markörlerin Meyve Islahında Kullanım Alanları. *Meyve Bilimi*. ISSN: 2148-0036 Yıl /Year: 2015 Cilt(Sayı)/Vol.(Issue): 2(1) Sayfa/Page: 49-59.
- Altaf, S., Khan, M.M., Jaskani, M.J., Khan, I.A., Usman, M., Sadia, B., Awan, F.S., Ali, A., Khan, A.I., 2014. Morphogenetic Characterization of Seeded and Seedless Varieties of Kinnow Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) *Australian Journal of Crop Science* 8(11):1542-1549 ISSN:1835-2707.
- Anonim, 2011. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. *Turunçgil Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele*, Ankara.
- Anonim, 2014a. <http://m.haberler.com/turk-turunçgiline-hüzün-tehditi> (Erişim tarihi 01.03.2014).
- Anonim, 2014b. <http://www.bahcesel.net> (Erişim Tarihi: 03. 03. 2014).
- Anonim, 2014c. www.integratedbreeding.net (Erişim Tarihi: 05. 03. 2014).

- Anonim, 2014d. <https://www.integratedbreeding.net> (Erişim Tarihi: 05. 03. 2014).
- Anonim,2017a.http://itp.lucidcentral.org/id/citrus/diseases/key/Diseases_of_Citrus/Media/Html/Tristeza.htm. Erişim tarihi: 23.07.2017
- Anonim,2017b.https://cals.arizona.edu/pubs/general/resrpt1996/stopping_killer.
- Anonim, 2017c. http://cifr.ucr.edu/brown_citrus_aphid.html. Erişim tarihi: 23.05.2017.
- Anonim,2017d.http://www.apsnet.org/publications/imageresources/Pages/Sepp_88-9-1.aspx. Erişim tarihi: 17.03.2017
- Asins, M.J., Bernet, G.P., Ruiz, C., Cambra, M., Guerri, J., Carbonell, E.A., 2004. QTL Analysis of *Citrus tristeza virüs-citradia* Interaction. Theor. Appl. Genet. (2004), 108:603-611.
- Albiach-Marti, M.R, Mawassi, M., Satyanarayana, T., Dawson, W., 2004. *Citrus tristeza virus* Replicates and Forms Infectious Virions in Protoplasts of Resistant Citrus Relatives. Molecular Breeding, September 2004, Volume 14, Issue 2, pp 117–128.
- Albiach-Marti, M.R., 2013. The Complex Genetics of Citrus tristeza virus. Current Issues in Molecular virology, Viral Genetics and Biotechnological Applications. (V. Romanowski, ISBN 978-953-511207-5,294 pages, Publisher: Intech, Chapters Published Nowember 20, 2013).
- Arif, M., İbrahim, M., Ahmad, A., Hassan, S., 2005. Elimination Of Citrus Tristeza Closterovirus from Citrus Bud-Wood Through Thermotherapy. Pakistan Journal of Botany. 37(2): 423-430, 2005.
- Aycan, M., Kayan, M., Önel, B., Yıldız, M., 2015. Markör Destekli Seleksiyon Yöntemi ve Islah Çalışmalarında Kullanımı. 11. Tarla Bitkileri Kongresi. September 2015.

- Ballester-Olmos, J.F., Pina, J.A., Carbonell, E.A., Navarro, L., 1993. Biological Diversity of *Citrus tristeza virus* (CTV) Isolates in Spain. *Plant Pathology* 42(2):219-229, April 1993.
- Baloglu, S., Birisik N., 2009. Historical Review of Citrus tristeza virus (CTV) and Its Vectors in Turkey. *Options Méditerranéennes*, p:85-88.
- Baloğlu, S., 2017. Virüs ve Benzeri Hastalıklardan Ari Turunçgil Fidan Üretimi. *TÜRKTOB Dergisi*, SAYI: 22, S:24-29.
- Bar-Joseph, M., Marcus, R., Lee, R.F., 1989. The Continuous Challenge Of Citrus Tristeza Virus Control. *Ann. Rev. Phytopathol.* 27, 291–316.
- Bitters, W.P., 1986. Citrus Rootstock and Their Characters and Reaction. (Unpublished manuscript).
- Bowman, K.D., Garnsey, S.M., 2001. A Comparison of Five Sour Orange Rootstocks and Their Response to Citrus Tristeza Virus. *Ploc. Fla. State Hort. Soc.* 114: 2001.
- Cai, Q., Guy, C.L., Moore, G.A., 1994. Extension of the Linkage Map in Citrus Using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers and RFLP Mapping of Cold- Acclimation Responsive Loci. *Genetics* 89: 606-614.
- Castle, W.S., Bowman, K.D., Baldwin, J.C., Grosser, W.J., Gmitter , F.G., 2011. Rootstocks Affect Tree Growth, Yield, and Juice Quality of ‘Marsh’ Grapefruit. *Hort. Science* June, 2011 vol. 46, No. 6 841-848.
- Cengiz, A., Tekin EL, N., Dolar, M.S., Nas, Y.Z., 1976. Akdeniz Bölgesinde Turunçgil Virüs Hastalıkları Üzerinde Araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*. Cilt: 16 Haziran — 1976 No: 2.
- Chae, C.W., Dutt, M., Yun, S.H., Park, J.H., Dong, H.L., D.H., 2011. Development of a SCAR Marker Linked to Male Fertility Traits in ‘Jinkyool’ (*Citrus sunki*). *Journal of Life Science* Vol. 21. No. 12. 1659~1665, ISSN : 1225-9918.

- Chatzivassiliou, E.K., Nolasco, G., 2014. Detection of a new variant of *Citrus tristeza virus* in Greek Citrus Crops. *Phytopathologia Mediterranea* 53, 1, 140–147 DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-12910.
- Chavez, D.J., Chaparro, J.X., 2011. Identification of Markers Linked to Seedlessness in *Citrus kinokuni* Hort. Ex Tanaka and Its Progeny Using Bulk Segregant Analysis. *Hortscience* 46(5):693–697.
- Chunxiao, J., Sink, C.K., 1997. RAPD and SCAR markers linked to the sex expression locus *M* in asparagus. *Euphytica* 94: 329-333.
- Chen, H., Shawn, A., Mehlenbacher, S.A., David, C., Smith, D.C., 2005. AFLP Markers Linked to Eastern Filbert Blight Resistance from OSU 408.040 Hazelnut. *Journal of the American Society for Horticultural Science*.130(3):412-417.
- Cristofani, M., Machado, M.A., Grattapaglia, D., 1999. Genetic linkage maps of *Citrus sunki* Hort. Ex. Tan. and *Poncirus trifoliata* (L.) Raf and mapping of citrus tristeza virus resistance gene. *Euphytica* 109: 25-32.
- Collard, B.C.Y., Mackill, D.J., 2008. Marker-assisted selection: an Approach for Precision Plant Breeding in the Twenty-First Century. *Phil. Trans. R. Soc. B* (2008) 363, 557–572 doi:10.1098/rstb.2007.2170.
- Cristofani, M., Machado, M.A., 2000. Molecular Markers Linked To Citrus Tristeza Virus (Ctv) Resistance Gene In Cultivars And Hybrids Of *Poncirus Trifoliata*. *Proceedings of the First International Symposium On Citrus Biotechnology. Acta Horticulturae. Issue:535, Pages:231-235, Published: 2000 (editör Goren, R; Goldschmidt, EE).*
- Çandar, A., Erkan, S., 2011. Bitkilerde Viral Etmenlere Karşı Genetik Dayanıklılık Mekanizmaları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR, Cilt: 09 Sayı: 3 Sayfa: 13-27.*
- Çevik, B., Yardimci,N., Korkmaz, S., 2013. The First Identified *Citrus tristeza virus* Isolate of Turkey Contains a Mixture of Mild and Severe Strains. *Plant Pathol J.* 2013 Mar; 29(1): 31–41.

- Çimen, B., 2011. Farklı Turunçgil Anaçları Üzerine Aşılı Navelina Göbekli Portakalının Demir (Fe) Klorozuna Toleransının Fizyolojik Yönden İncelenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Dalkılıç, Z., Timmer L.W., Gmitter, G.F., 2005. Linkage of an Alternaria Disease Resistance Gene in Mandarin Hybrids with RAPD Fragments.
- Dalbo, M.A., Ye, G.N., Weeden, W.F., Wilcox, W.F., Reisch, B.I., 2001. Marker-Assisted Selection for Powdery Mildew Resistance in Grapes. Journal of the American Society for Horticultural Science. 126(1):83-89.
- Davino, S., Rubio, L., Davino, M., 2005. Molecular Analysis Suggests that Recent *Citrus tristeza virus* Outbreaks in Italy were originated by at least two independent introductions. European Journal of Plant Pathology 111: 289-293.
- Değirmenci, K., Ertunç, F., 2010. Virüs Enfeksiyonları ile Mücadelede Gen Susturulması ve Uygulamaları. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR. Yıl: 2010 Cilt: 08 Sayı: 2 Sayfa: 35-52.
- Deng, Z., Xiao, S., Huang, S., Gmitter, F.R., 1997. Development and Characterization of SCAR Markers Linked to the *Citrus tristeza virus* Resistance Gene from *Poncirus trifoliata*. Genome, 1997, 40(5): 697-704, 10.1139/g97-792.
- Deng, Z., Huang, S., Ling, P., Chen, C., Yu, C., Weber, C.A., Moore, G.A., Gmitter, F.R., 2000. Cloning and Characterization of NBS-LRR class Resistance-Gene Candidate Sequences in Citrus. Theor Appl Genet 101:814–822.
- Deng, Z., Huang, S., Ling, P., Yu, C., Tao, Q., Chen, C., Wendell, M.K., Zhang, H.B., Gmitter, F.G., 2001. Fine Genetic Mapping and BAC Contig Development for the *Citrus tristeza virus* Resistance Gene Locus in *Poncirus Trifoliata* (Raf.). Mol. Genet. Genomics, 265: 739-747.

- Devran, Z., 2003. Moleküler İşaretleyicilerin Dayanıklılık Islahında Kullanılması. *Derim Dergisi*, 20:1-6.
- Durham, R.E., Liou, P.C., Gmitter JR., F.G., Moore, 1992. Linkage of Restriction Fragment Length Polymorphisms and Isozymes in Citrus. *Theor. Appl. Genet.* 84:39-48.
- Erkiş, G., 2009. Türkiye Turunçgil Alanlarındaki *Tristeza* virüs İzolatlarının Kılıf Protein Genlerinin Klonlaması, DNA Diziliminin Belirlenmesi ve Analizi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Eserkaya-Güleç T., Yıldırım, A., Sönmezoğlu, A.Ö., 2010. Bitkilerde Markör Destekli Seleksiyon. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Moleküler Biyoteknoloji Laboratuvarı, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 3(2): 67-79, ISSN: 1308-0040, www.nobel.gen.tr.
- FAO, 2017. <http://www.fao.org> (Erişim tarihi: 12.02.2017).
- Fang, D.Q., Federici, C.T., Roose, M.L., 1997. Development of molecular markers linked to a gene controlling fruit acidity in citrus. *Genome* 40: 841–849.
- Fang, D.Q., Federici, C.T., Roose, M.L., 1998. A High-Resolution Linkage Map of the *Citrus Tristeza Virus* Resistance Gene Region in *Poncirus trifoliata* (L.) Raf., *Genetics* 150: 883-890.
- Fang, D.Q., Roose, M.L., 1999. A Novel Gene Conferring *Citrus Tristeza Virus* Resistance in *Citrus maxima* (Burm.) Merrill. Department of Botany and Plant Sciences, University of California, Riverside, CA 92521.
- Fazio, G., Chung, S.M., Staub, J.E., 2003. Comparative Analysis of Response to Phenotypic and Marker Assisted Selection for Multiple Lateral Branching in Cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Tjero. Appl. Genet.* 107:875-883. DOI 10.1007/s00122-003-1313-1.
- Frisch, M., Bohn, M., Melchinger, E.A., 1999. Minimum Sample Size And Optimal Positioning of Flanking Markers in Marker-Assisted Backcrossing For Transfer of A Target Gene. *Crop Sci.* 39:967–975 (1999).

- Folimonova, S.Y., 2012. Superinfection Exclusion is an Active Virus-Controlled Function that Requires a Specific Viral Protein. *J. Virol* 86: 5554–5561.
- Garnsey, S.M., 1992. Tolerance of Gou Tou Rootstock to Severe Exotic Isolates of Citrus Tristeza Virus (CTV). *Proc. Fla. State. Hort. Soc.* 105-35:38.
- Garnsey, S.M., Civerolo, E.L., Gumpf, D.J., Paul, C., Hilf, M.E., Lee, R.F., Brlansky, R.H., Yokomi, R.K., Hartung, J.S., 2005. Biological Characterization of an International Collection of Citrus Tristeza Virus (CTV) Isolates. Sixteenth IOCV Conference, 2005.
- García, R., Asíns, M.J., Forner, J., Carbonell, E.A., 1999. Genetic Analysis Of Apomixis in *Citrus* and *Poncirus* by Molecular Markers. *Theor. Appl. Genet.* 99: 511–518.
- Gmitter JR., F.G., Xiao, S.Y., Huang, S., Hu, X.L., Garnsey, S.M., Deng, Z., 1996. A Localized Linkage Map of the *Citrus Tristeza Virus* Resistance Gene Region. *Theoretical and Applied Genetics*, Volume 92, Issue 6, pp 688-695.
- Ghosh, A., Das, A., Meena, R., Baranval, V.K., 2014. Evidence For Resistance To *Citrus Tristeza Virus* In Pomelo (*Citrus maxima* Merr.) Grown in Darjeeling And Sikkim Hills of India. *Phytoparasitica* (2014) 42:503-508. DOI 10.1007 /s12600-0140387-4.
- Gomez-Munoz, N., Velazquez, K., Vives, M.C., Ruiz-Ruiz, S., Pina, J.A., Flores, R., Moreno, P., 2016. *Molecular Plant Pathology* (2016), DOI: 10.1111/mpp.12488.
- Hamilton, C.A., Chia, C.L., ITO, P.J., 1985. Better Rootstock for Citrus Grown in Hawaii. *Research Extention Serious* 053, ISSN 0271-9916.
- Hajagos, A., Spornberger, A., Modl, P., Vegvari, G.Y., 2012. The Effect of Rootstocks on the Development of Fruit Quality Parameters of Some Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Cultivars, ‘Regina’ and ‘Kordia’, During the Ripening Process. *Acta Universitatis Sapientiae Agriculture and Environment*, 4, 59–70.

- Herron, C.M., Mirkov, T.E., Graca, J., Lee, R.F., 2006. *Citrus Tristeza Virus* Transmission by the *Toxoptera citricida* Vector: In vitro Acquisition and Transmission and Infectivity Immunoneutralization Experiments. *Journal of Virological Methods* 134 (2006) 205–211.
- Hughes, G., Gottwald, T.R., 1999. Survey Methods for Assessment of *Citrus Tristeza Virus* Incidence When *Toxoptera citricida* is the Predominant Vector. *Epidemiology*. Vol. 89, No. 6, 1999 487.
- İren, S., 1966. Artropod'larla Geçen Bitki Virüs Hastalıklarının Memleketimizdeki Durumu. XII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi, 7-10 Eylül 1966.
- Jarrell, D. C., Roose, M. L., Trwgh, S. N., Ktjppezr, R. S., 1992. A Genetic Map of Citrus Based on the Segregation of Isozymes and RFLPs in an Intergeneric Cross. *Theor. Appl. Genet.* 84M-56.
- Jiang, G.L., 2013. Molecular Marker-Assisted Breeding: A Plant Breeder's Review. *Advances in Plant Breeding Strategies: Breeding, Biotechnology and Molecular Tools*, Chapter:15, pp: 431-472. (Editors: Al-Khayri, J.M., Jain, S.M., Johnson, D.V.).
- Johnstone, K.C., Thompson, C., 1991. A Simple and Rapid Method for the Preparation of Plant Genomic DNA for PCR Analysis. *Nuc. Acids Res.* 19(6):1349.
- Kafa, G., Canhoş, E., 2010. Turunçgil Yetiştiriciliği. Türkiye Cumhuriyeti Tarım Ve Köyişleri Bakanlığı Teşkilatlanma ve Destekleme Genel Müdürlüğü Televizyon Yoluyla Yaygın Çiftçi Eğitimi Projesi (YAYÇEP).
- Kançağı, D.D., Öğülür, İ., 2012. Nükleik Asitler: İzolasyonu, Saflaştırılması, Tayini ve Hibridizasyonu (M. Karataş). *Moleküler Biyoloji*, 1. Baskı, Öncü Basımevi, Ankara, s.263-273.
- Karasev, A.V., Boyko, V.P., Gowda, S. Nikolaeva, O.V., Hilf, M.E., E.V.Koonin, E.V., Niblett, C.L., Cline, K., Gumpf, D.J., Lee, R.F., Garnsey, S.M., Lewandowski, D.J., Dawson, W.O., 1995. Complete Sequence of the Citrus tristeza virus RNA Genome. *Virology* 208, 511–20.

- Kepiro, J.L., Roose, M.L., 2010. AFLP Markers Closely Linked to a Major Gene Essential for Nucellar Embryony (Apomixis) in *Citrus maxima* × *Poncirus trifoliata*. *Tree Genetics & Genomes*. 2010;6:1–11.
- Kersting, U., Özden, Ö., 2004. Turunçgil Hastalıkları, Akdeniz İhracatçı Birlikleri, Mersin–Türkiye.
- Kijas, J.M.H., Thomas, M.R., Fowler, J.C.S., Roose, M.L., 1997. Integration of Trinucleotide Microsatellites into a Linkage Map of Citrus. *Theoretical and Applied Genetics*, April 1997, Volume 94, Issue 5, pp 701–706.
- Khanuja, S.P.S., Ajit, K., Shasany, A.K., Darokar, M.P., Kumar, S., 1999. Protocols Rapid Isolation of DNA from Dry and Fresh Samples of Plants Producing Large Amounts of Secondary Metabolites and Essential Oils *Plant Molecular Biology Reporter* 17: 1–7, 1999. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Kordrostami, M., Rahimi, M., 2015. Molecular Markers in Plants: Concepts and Applications. *Genetics in the 3rd Millennium*, Vol. 13, No.2 Summer.
- Kumari, N., Thakur, S.K., 2014. Randomly Amplified Polymorphic DNA-A BRIEF Review. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences* 9 (1): 6-13, 2014 ISSN: 1557-4555.
- Ling, P., Duncan, L.W., Deng, Z.B., Dunn, D., HU, X., Huang, S., Gmitter, F., 2000. Inheritance of Citrus Nematode Resistance and Its Linkage with Molecular Markers. *Theor Appl Genet* 100: 1010–1017.
- Machado, M.A., Cristofani-Yaly, M., Bastianel, M., 2011. Breeding, Genetic and Genomic of Citrus for Disease Resistance. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, Volume Especial, E. 158-172, Outubro 2011.*
- Manner, H.I., Buker, R.S., Smith, V.E., Ward, D., Elevitch C.R., 2006. Citrus (Citrus) and Fortunella (Kumquat) Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. www.traditionaltree.org.

- Martínez-Cuenca, M.R., Primo-Capella, A., Forner-Giner, M.A., 2016. Influence of Rootstock on Citrus Tree Growth: Effects on Photosynthesis and Carbohydrate Distribution, Plant Size, Yield, Fruit Quality, and Dwarfing Genotypes. *Plant Growth*, (Editor: Prof. Everlon Rigobelo), InTech, DOI: 10.5772/64825.
- Mestre, P.F., Asins, M.J., Pina, J.A., Carbonell, E.A., Navarro, L., 1997a. Molecular Markers Flanking Citrus Tristeza Virus Resistance Gene from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Theor Appl Genet*, 94 : 458-464.
- Mestre, P.F., Asins, M.J., Carbonell, E.A., Navarro, L., 1997b. New Gene(s) Involved in the Resistance of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf to Citrus tristeza virus. *Theor Appl Genet*, 95:691-695.
- Mestre, P.F., Asins, M.J., Pina, J.A., Navarro, L., 1997c. Efficient search for new resistant genotypes to the citrus tristeza closterovirus in the orange subfamily Aurantioideae.
- Michaud, J.P., 1998. A Review Of The Literature on Toxoptera Citricida (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae). *Florida Entomologist* 81(1).
- Mirkov, E., Prewett, R. 2002. Current and Potential Impact For Improving Pest Management In U.S. Agriculture An Analysis of 40 case Studies by Leonard P. Gianessi Cressida S. Silvers, Sujatha Sankula and Janet Carpenter National Center for food and Agricultural Policy, Plant Biotechnology.
- Moreno, P., Ambrós. S., Albiach-Martí, M.R., Guerri, J., Peña, L., 2008. Citrus tristeza virus: A pathogen that Changed the Course of the Citrus Industry. *Mol. Plant Pathol.* 9: 251–268.
- Nakano, M., Nesumi, H., Yoshioka, T., Omura, M., Yoshida, T., 2003. Linkage Analysis Between Male Sterility Of Citrus And STS Markers. *Proc. Intl. Soc. Citricultut. IX Ccngr. 2000*, pp. 179–180.

- Nakano, M., Shimada, T., Endo, T., Fujii, H., Nesumi, H., Kita, M., Ebina, M., Shimizu, T., Omura, M., 2012. Characterization of Genomic Sequence Showing Strong Association with Polyembryony Among Diverse *Citrus* Species and Cultivars, and Its Synteny with *Vitis* and *Populus*. *Plant Sci.* 183: 131–142.
- Nasrollanejad, S., Ziyarat, M.A., Fakhrabad, F.Z., 2012. The determination of Citrus Tristeza Virus Strains in the North of Iran. *Intl. J. Agri. Crop. Sci.* 2012;4(22):1714-1719.
- Ollitrault, P., Terol, J., Chen, C., Federici, C.T., Lotfy, S., Hippolyte, I., Ollitrault, F., Bérard, A., Chauveau, A., Cuenca, J., Costantino, G., Kacar, Y., Mu, L., Garcia-Lor, A., Froelicher, Y., Aleza, P., Boland, A., Billot, C., Navarro, L., Luro, F., Roose, M.L., Gmitter, F.G., Talon, M., Brunel, D., 2012. A Reference Genetic Map of *C. clementina* Hort. Ex Tan.; CITRUS Evolution Inferences From Comparative Mapping. *BMC Genomics.* 2012, 13:593.
- Omura, M., Ueda, T., Shimada, T., Endo, T., Fujii, H., Nesumi, H., Yoshida, T., 2003. Graphical genotype of citrus cultivars by codominant CAPS markers. *Abst. Plant & Animal genome XI Conference* p.22 Jan. 11–15, San Diego, CA.
- Omura, M., Shimada, T., 2016. Citrus Breeding and Genomics in Japan. *Breeding Science* 66:3 – 17, Doi 10.1270/jsbbs. 66.3.
- Otha, S., Endo, T., Shimada, T., Fujii, H., Shimizu, T., Kuniga, T., Yoshioka, T., Nesumi, H., Yoshida, T., Omura, M., 2011. PCR Primers for Marker Assisted Backcrossing to Introduce a CTV Resistance Gene from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. into Citrus. *Japan. Soc. Hort. Sci.* 80 (3): 295–307. 2011.
- Özsan, M., 1964. Dünya Turunçgil Ziraatında Türkiye'nin Yeri ve Üzerinde Öncelikle Durulması Gereken Başlıca Problemlerimiz. *Ziraat Mühendisleri Odası Yayınları.* Ankara.

- Öz Aydın, S., 2004. RAPD (Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA) Belirleyicileri ve Bitki Sistematiği. Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, Sayı 6.
- Perez-Clementine, R.M., Montoliu, A., Vives, V., Lopez-Climent, M.F., Gomez-Cadenas, A., 2014. Photosynthetic and Antioxidant Responses of Mexican lime (*Citrus aurantifolia*) Plants to Citrus tristeza virus Infection. Plant Pathology (2014), Doi: 10.1111/ppa.12241.
- Pınar, H., Seday, Ü., Uzun, A., Ünlü, M., Yaman, M., 2016. Bazı Önemli Turunçgil Anaçları ile Melezlerinde Citrus Tristeza Virus (CTV)'üne Dayanıklılığın SCAR Markırları ile Belirlenmesi. Alatarım, Cilt.15, ss.21-28, 2016.
- Revers, F., Nicaise, V., 2007. Plant Resistance to Infection by Viruses. Encyclopedia Of Life Sciences & 2007, John Wiley & Sons, Ltd. www.els.net
- Roose, M.L., 2007. Citrus Rootstock Breeding and Evaluation. Annual Report, Variety Development, Citrus Research Board.
- Schnell, D.N., Kuhn, J.S., Brown, C.T., Olano, W., Phillips-Mora, W., Amores, F.M., Motamayor, C.J., 2007. Development Of A Marker Assisted Selection Program in Cacao. Phytopathology. 2007 Dec;97(12):1664-9. Doi: 10.1094/Phyto-97-12-1664.
- Schrader, C., Schielke, A., Ellerbroek, L., Johne, R., 2012. PCR Inhibitors – Occurrence, Properties and Removal. Journal of Applied Microbiology. The Society for Applied Microbiology, Volume 113, Issue 5, November 2012, Pages 1014–1026.
- Shannon, M., Frolich, E.F., Cameron, S.H., 1961. Size and Growth Habits of Trifoliolate Orange Selections. California Agriculture, May, 1961.

- Shimada, T., H. Fujii, T. Endo, T. Ueda, A. Sugiyama, M. Nakano, M. Kita, T. Yoshioka, T. Shimizu, H. Nesumi, Y. Ikoma, T. Moriguchi And M. Omura. 2014. Construction of A Citrus Framework Genetic Map Anchored by 708 Gene-based Markers. *Tree Genet. Genomes* 10: 1001–1013.
- Singh, B.D., Singh A.K., 2015. Hybridization-Based Markers. *Marker-Assisted Plant Breeding: Principles and Practices*, pp 19-46, ISBN: 978-81-322-2315-3.
- Siviero, A., Cristofani, M., Furtado, E.L., Machado, M.A., 2006. Identification Of QTLs Associated With Citrus Resistance to Phytophthora Gummosis. *Journal of applied genetics* · February 2006 DOI: 10.1007/BF03194595.
- Soost, R.S., Cameron, W.J., 1969. Tree and Fruit Characters of Citrus Triploids from Tetraploid by Diploid Crosses. *Hilgardia*, Vol. 39, No. 20, July, 1969.
- Sönmezoğlu, Ö.A., Yildirim, A., Eserkaya-Güleç, T., Kandemir, N., 2010. Markör Destekli Seleksiyonun Bugday Islahında Kullanımı. *GaziOsmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2010, 27(1), 105-11.
- Spreen T.H., 2010. *Soils, Plant Growth and Crop Production*, Volume III, s:250.
- Staskawicz, B.J., Ausubel, F.M., Baker, B.J., Ellis, J.G., Jones, J. D., 1995. Molecular Genetics of Plant Disease Resistance. *Science* 5 May 1995, Vol. 268 no. 5211 pp. 661-667, DOI: 10.1126/science.77323
- Sugiyama, A., Omura, M., Matsumoto, H., Shimada, T., Fujii, H., Endo, T., Shimizu, T., Nesumi, H., Ikoma, Y., 2011. Quantitative Trait Loci (QTL) Analysis of Carotenoid Content in *Citrus* Fruit. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 80: 136–144.
- Şimşek, Ö., Karaat, F.E., Serçe, S., Aka-Kaçar, Y., 2008. Bazı Meyve Türlerinde DNA İzolasyon Yöntemlerinin Etkinliğinin Karşılaştırılması. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 2008, 25(1):59-69 ISSN 1300-3496.

- Uysal-Kamilođlu, M., 2009. Turunçgillerde Ara Anaç Uygulamalarının Uyuşmazlık ve Büyüme Gücü Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora tezi, ADANA.
- Uzun, A., Seday, Ü., Kafa, G., 2013. Bazı Turunçgil Anaçlarının ‘Valencia Late’ Portakalında Meyve Kalite Özellikleri Üzerine Etkileri. Meyve Bilimi/Fruit Science. 1(1), s 18-22.
- Tuzcu, Ö., Kaplankıran, M., Şeker, M., 1998. Bazı Turunçgil Anaçlarının Çukurova Koşullarında Önemli Portakal, Altıntop, Limon ve Mandarin Çeşitlerinde Meyve Verimi Üzerine Etkileri. Tr. J. of Agriculture and Forestry, 22 (1998) 117-126.
- TÜİK, 2017. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>.
- Xiang, X., Deng, Z., Zeng, Q., Chen, C., Gmitter, F.G., 2010. Developing Specific Markers and Improving Genetic Mapping for a Major Locus *Tyr1* of Citrus Nematode Resistance. Bioscience Methods, 2010, Vol. 1, No. 1 doi: 10.5376/bm.2010.01.0001.
- Yahmed, B.J., Costantino, G., Amiel, P., Talon, M., Ollitrault, P., Morillon, R., Luro, F., 2016. Diversity in the Trifoliolate Orange Taxon Reveals Two Main Genetic Groups Marked By Specific Morphological Traits And Water Deficit Tolerance Properties. Journal of Agricultural Science (2016), 154, 495–514. Cambridge University Press 2015 doi:10.1017/S0021859615000234.
- Yang, Z-N., Ye, X-R., Choi, S., Molina, J., Moonan, F., Wing, R., Roose, L., Mirkov, E., 2001. Construction of a 1.2-Mb Contig Including the *Citrus tristeza virus* Resistance Gene Locus Using a Bacterial Artificial Chromosome Library of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. Genome 44: 382-393.
- Yang, W., Francis, D.M., 2005. Marker-assisted Selection for Combining Resistance to Bacterial Spot and Bacterial Speck in Tomato. Journal of the American Society. Vol. 130, no. 5 716-721.

- Yeşiloğlu, T., 2011. Klasik ve Somatik Melezleme Yöntemleri Kullanılarak Turunca Alternatif Yeni Turunçgil Anaçlarının Geliştirilmesi, TÜBİTAK Projesi (111o657).
- Yokomi, R.K., Lastra, R., Stoetzel, M.B., Damsteegt, V.C., Lee, R.F, Garnsey, S.M., Gottwald, T.R., Rocha-Pena, M.A., Niblett, C.L., 1994. Establishment of The Brown Citrus Aphid (Homoptera: aphididae) in Central America and the Caribbean Basin and Transmission of Citrus Tristeza Virus. *Journal of Economic Entomology*, 87, 1078-1085.
- Yu, Y., Chen, C., Gmitterjr, F.G., 2016. QTL Mapping of Mandarin (*Citrus reticulata*) Fruit Characters Using High-Throughput SNP Markers. *Tree Genetics & Genomes*. ISSN: 1614-2942.



ÖZGEÇMİŞ

22/11/1988 tarihinde Adana'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 2008 yılında başladığı Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nden 2012 yılında mezun oldu. 2013 yılında Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı. 2013 yılında Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı.



EKLER



Ek-1. Çin Turuncu x Rubidux melezlerinde RAPD primerlerine ait sonuç tablosu (Fang ve ark, 1998)

Melezler	OPJ07-570 bç	OPJ20-750 bç	OPL04-370 bç	OPO12-1000 bç	OPW18-450 bç	OPAD02-700 bç	OPAF05-700 bç	OPAF07-580 bç	OPC17-760 bç	OPF19-950 bç	OPG06-900 bç	OPO04-700 bç	OPO04-1300 bç	OPT09-390 bç	OPZ16-650 bç	OPC19-690 bç
1	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
2	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
3	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	NA	+
4	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+
5	-	-	-	+	-	NA	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
6	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	NA	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	NA	+
8	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	NA	+
9	NA	-	+	NA	NA	NA	NA	-	-	NA	-	NA	-	-	NA	+
10	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	NA	+
11	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	NA	+
12	-	-	-	+	-	NA	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-
13	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	NA	-
14	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
15	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
16	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	NA	-
17	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	NA	+
18	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+
19	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	NA	+
20	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	NA	-
21	-	+	+	-	+	NA	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
22	+	+	-	+	+	+	-	+	-	NA	+	+	+	-	NA	+
23	-	+	-	+	+	+	-	+	-	NA	+	+	+	-	+	+
24	-	-	-	+	-	+	-	-	-	NA	+	+	+	-	+	+
25	+	+	-	+	+	+	-	+	-	NA	-	+	+	-	NA	-
26	-	-	-	-	-	+	+	-	-	NA	+	+	+	-	+	+
27	-	+	-	+	-	+	-	+	-	NA	+	+	+	-	NA	-
28	-	-	-	+	-	NA	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+
29	NA	+	+	+	+	+	+	-	-	NA	+	NA	-	-	NA	NA
30	-	+	-	+	+	+	-	+	-	NA	+	+	+	-	NA	+

32	+	+	+	+	+	NA	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-
33	NA	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
34	+	+	+	+	+	NA	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+
35	-	-	-	+	-	NA	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+
36	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
37	+	+	+	+	+	NA	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
38	+	+	+	+	+	NA	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+
39	+	+	+	+	-	NA	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+
41	NA	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
42	+	+	+	-	-	NA	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+
43	-	+	-	+	+	+	-	+	-	NA	+	+	+	-	NA	+
44	+	+	-	+	+	+	-	+	-	NA	+	+	+	-	NA	+
45	NA	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	-
46	NA	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
47	+	+	+	+	-	NA	+	-	-	NA	+	+	+	-	-	-
49	-	+	-	+	-	+	-	+	-	NA	+	+	+	-	+	+
50	NA	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	NA	+
53	+	-	-	-	-	NA	+	-	-	NA	+	+	+	-	+	+
55	NA	+	+	+	+	NA	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	-
60	NA	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	NA	+
61	NA	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	NA	+
62	NA	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	NA	+
63	NA	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	NA	-
65	NA	-	+	+	+	NA	NA	-	-	NA	+	+	+	-	NA	+
70	NA	+	-	+	-	+	NA	-	-	+	+	+	-	-	NA	+
71	NA	+	-	+	-	+	NA	-	-	-	+	+	-	-	NA	-
72	NA	+	-	+	-	+	NA	-	-	+	+	+	-	-	NA	-
74	NA	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	NA	+
75	NA	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	NA	+
77	NA	+	-	+	-	+	NA	-	-	-	+	+	+	-	NA	-
79	NA	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	NA	+
80	NA	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
82	NA	+	+	+	-	NA	NA	-	-	NA	+	NA	NA	-	NA	+
83	NA	+	+	-	+	+	-	-	-	NA	+	+	+	-	NA	+

84	NA	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
85	NA	+	-	+	+	+	-	-	-	NA	+	+	+	-	NA	+
86	NA	-	-	+	-	NA	NA	-	-	NA	+	+	+	-	NA	+
87	NA	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
89	NA	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	-
90	NA	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	-
93	NA	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
94	NA	+	-	+	-	+	NA	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
95	NA	+	-	+	-	-	NA	-	-	+	+	+	+	-	NA	-
97	NA	+	+	+	-	+	NA	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
99	NA	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	NA	-
100	NA	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	NA	+
102	NA	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	NA	+
103	NA	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	NA	+
104	NA	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	NA	+
105	NA	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	NA	NA
106	NA	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	NA	+
107	NA	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	-
108	NA	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	NA	+
109	NA	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	NA	NA
110	NA	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	NA	-
111	NA	+	-	+	-	NA	-	-	-	-	+	+	+	-	NA	+
112	NA	+	-	-	-	NA	NA	-	-	NA	-	+	+	-	NA	+
113	NA	-	+	+	+	NA	-	-	-	+	-	+	+	-	NA	-
114	NA	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	NA	-
115	NA	-	+	+	-	+	NA	-	-	+	+	+	-	-	NA	NA
116	NA	-	+	+	+	+	-	-	-	NA	-	+	+	-	NA	-
117	NA	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	NA	+
Toplam NA	51	0	0	1	1	21	13	0	0	21	0	3	1	0	72	4
Toplam (+)	20	58	43	78	42	67	24	24	0	48	79	89	67	0	12	63
Toplam (-)	21	34	49	13	49	4	55	68	92	23	13	0	24	92	8	25

Ek-2 Çin turuncu x Rubidoux üç yapraklısı melezlerinde tristezaya dayanıklılık durumları (Mestre ve ark, 1997a ve Mestre ve ark, 1997b)

MELEZLER	OPO07- 650 bç	OPG18- 1000 bç	OPA15- 1200 bç	OPO10- 1400 bç	OPW18- 450 bç	MELEZLER	OPD07- 800	OPE04- 750	OPG09- 1200	OPG19- 1000	OPK16- 800
1	+	-	-	+	-	1	+	+	-	-	NA
2	+	+	-	+	-	2	+	+	-	-	+
3	+	-	-	+	-	3	-	+	-	-	-
4	+	-	-	+	+	4	+	+	-	-	+
5	+	-	-	+	-	5	+	+	+	+	-
6	+	-	-	+	+	6	+	+	-	-	-
7	+	-	-	+	+	7	+	+	-	-	-
8	+	-	-	+	-	8	+	+	-	-	-
9	NA	-	NA	+	NA	9	NA	+	+	-	-
10	+	-	-	+	+	10	+	+	-	-	-
11	+	-	-	+	+	11	+	+	-	-	-
12	+	-	-	+	-	12	+	-	+	-	-
13	+	-	-	+	-	13	+	+	-	+	+
14	+	-	-	-	+	14	+	+	-	+	+
15	+	+	-	+	+	15	+	-	-	+	+
16	+	+	-	+	-	16	NA	+	-	+	-
17	+	+	-	+	+	17	+	+	-	-	+
18	+	-	-	+	-	18	+	+	-	+	+
19	+	-	-	+	-	19	+	+	-	-	-
20	+	-	-	-	-	20	-	+	-	+	+
21	+	-	-	+	+	21	+	+	+	+	-
22	+	+	-	+	+	22	-	+	-	+	-
23	+	+	-	+	+	23	+	+	-	-	-
24	+	-	-	+	-	24	+	+	-	-	-
25	+	-	-	+	+	25	+	+	-	-	-
26	+	-	-	+	-	26	+	+	-	-	-
27	+	-	+	+	-	27	+	+	-	+	-
28	+	-	-	+	-	28	+	-	+	+	+
29	NA	+	+	-	+	29	NA	+	+	-	-
30	+	-	-	+	+	30	+	+	-	+	+

32	+	-	-	+	+	32	+	-	+	+	-
33	+	-	NA	+	+	33	+	-	+	-	-
34	+	-	-	-	+	34	+	-	+	+	+
35	+	-	-	+	-	35	+	-	+	-	+
36	+	+	-	+	-	36	+	-	-	+	+
37	+	-	-	+	+	37	+	+	+	+	+
38	+	-	-	+	+	38	NA	+	+	+	-
39	+	-	-	+	-	39	NA	+	+	+	-
41	+	+	+	+	+	41	+	+	+	-	-
42	+	-	-	+	-	42	+	-	NA	+	+
43	+	-	-	-	+	43	+	+	-	+	+
44	+	-	-	-	+	44	+	+	-	-	-
45	+	-	NA	+	+	45	+	-	NA	-	-
46	+	-	-	+	+	46	+	+	+	-	-
47	+	-	-	+	-	47	NA	+	+	+	-
49	+	+	-	-	-	49	+	+	-	+	+
50	+	-	-	+	+	50	+	+	+	+	-
53	+	-	-	+	NA	53	NA	+	NA	+	-
55	+	-	NA	+	+	55	+	-	+	-	-
60	+	-	NA	+	-	60	+	+	+	+	-
61	+	+	NA	+	+	61	+	+	+	+	-
62	NA	+	NA	+	-	62	+	+	+	-	-
63	+	-	+	-	+	63	-	+	+	+	-
65	+	+	+	-	+	65	NA	+	+	-	-
70	NA	+	+	+	-	70	+	+	+	-	-
71	+	-	+	+	NA	71	+	+	+	-	-
72	+	+	+	+	-	72	-	+	+	+	-
74	NA	-	-	+	+	74	+	+	+	+	+
75	+	-	-	+	-	75	+	-	+	+	+
77	+	+	+	+	-	77	-	+	+	+	-
79	+	+	+	+	+	79	-	+	+	+	-
80	+	-	-	+	-	80	+	+	+	+	NA
82	NA	+	+	-	NA	82	NA	+	+	-	NA
83	+	-	-	-	+	83	NA	+	+	-	NA

84	+	-	-	+	+	84	+	+	+	+	NA
85	+	-	-	+	+	85	NA	+	+	-	NA
86	+	-	-	+	-	86	NA	+	+	-	NA
87	+	+	+	+	-	87	+	+	+	-	NA
89	+	-	+	+	-	89	NA	+	+	+	-
90	+	-	-	+	+	90	-	+	+	-	-
93	+	+	-	+	+	93	+	+	+	-	-
94	+	+	+	+	-	94	+	+	+	+	+
95	+	-	+	+	NA	95	+	+	+	-	-
97	NA	+	NA	+	-	97	+	+	+	-	-
99	+	-	NA	+	-	99	+	+	+	+	NA
100	+	+	NA	+	-	100	+	-	+	-	NA
102	+	+	+	+	+	102	+	+	+	-	NA
103	+	+	NA	+	-	103	+	+	+	-	NA
104	+	-	NA	+	-	104	-	+	+	-	NA
105	+	-	+	+	-	105	NA	-	+	-	NA
106	+	-	NA	+	NA	106	NA	+	+	-	NA
107	+	-	NA	+	-	107	-	+	NA	-	NA
108	+	+	+	+	+	108	NA	+	+	-	NA
109	+	-	+	+	+	109	+	+	+	-	NA
110	+	+	-	+	-	110	NA	+	+	-	NA
111	+	+	-	+	-	111	NA	NA	+	-	NA
112	+	+	+	+	-	112	NA	+	+	-	-
113	+	+	+	+	+	113	NA	-	+	-	-
114	+	-	-	+	-	114	+	+	+	-	-
115	+	-	+	+	-	115	NA	+	+	-	-
116	NA	+	-	+	+	116	NA	+	+	-	-
117	+	-	+	+	+	117	NA	+	+	+	-
Toplam NA	8	0	14	0	6	Toplam NA	23	1	4	0	20
Toplam (+)	84	31	23	81	42	Toplam (+)	59	76	60	38	20
Toplam (-)	0	61	55	11	44	Toplam (-)	10	15	28	54	52

Ek-3 Çin turuncu x Rubidoux üç yapraklısı melezlerinde tristezaya dayanıklılık durumları (Cristofani ve ark, 1999)

MELEZLER	OPW18- 450 bç	OPAV12- 470 bç	OPE16- 510 bç	OPAV11- 1430 bç	OPAT07- 400 bç	OPE20- 510 bç	OPN08- 2750 bç	OPE07- 820 bç	OPA04- 480 bç	OPN15- 1630 bç	OPM05- 380 bç
1	-	+	-	+	-	-	-	-	NA	-	-
2	-	+	-	+	-	-	-	+	NA	-	-
3	-	+	-	-	-	-	-	-	NA	-	+
4	+	+	-	+	-	-	-	-	NA	-	-
5	-	+	-	NA	-	-	-	-	-	-	-
6	+	+	-	-	-	-	-	-	NA	-	+
7	+	+	-	-	-	-	-	-	NA	-	+
8	-	+	-	+	-	-	-	-	NA	-	-
9	NA	+	-	+	+	-	NA	+	-	NA	+
10	+	+	-	+	-	-	-	-	NA	-	+
11	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	-
13	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
15	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
16	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
17	+	+	-	NA	-	-	-	-	-	-	+
18	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
19	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
20	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-
21	+	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	+
22	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
25	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
27	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
28	-	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	-
29	+	+	-	+	-	-	NA	+	+	NA	-
30	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+

32	+	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	-
33	+	+	-	NA	+	-	NA	+	-	NA	-
34	+	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	+
35	-	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	-
36	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
37	+	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	+
38	+	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	+
39	-	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	+
41	+	+	-	+	-	-	+	+	+	NA	-
42	-	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	+
43	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
44	+	NA	-	-	-	-	-	-	-	-	+
45	+	+	-	NA	+	-	NA	+	-	NA	-
46	+	+	-	+	+	-	+	+	-	NA	-
47	-	+	-	NA	-	-	-	NA	-	-	-
49	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
50	+	NA	-	+	+	-	NA	+	-	NA	+
53	NA	+	-	NA	-	-	-	-	-	-	-
55	+	+	-	+	+	-	+	+	NA	NA	+
60	-	+	-	+	+	-	NA	+	-	+	+
61	+	+	-	+	+	-	NA	+	-	+	+
62	-	-	-	+	+	-	NA	+	-	+	-
63	+	+	-	+	-	-	NA	+	+	+	-
65	+	+	-	+	-	-	NA	+	+	+	+
70	-	+	-	+	+	-	NA	+	NA	-	+
71	NA	+	-	+	-	-	NA	-	-	+	+
72	-	+	-	+	-	-	NA	-	-	-	+
74	+	+	-	+	-	-	NA	+	+	+	+
75	-	+	-	+	-	-	NA	+	-	+	-
77	-	+	-	NA	-	-	NA	+	-	+	+
79	+	+	-	NA	-	-	NA	+	-	-	-
80	-	+	-	NA	-	-	NA	+	-	+	-
82	NA	+	-	NA	-	-	NA	+	-	-	-
83	+	+	-	NA	-	-	NA	NA	+	+	+

84	+	+	-	NA	-	-	NA	+	+	-	+
85	+	NA	-	+	-	-	NA	+	-	+	-
86	-	+	-	NA	-	-	NA	NA	+	+	-
87	-	+	-	NA	-	-	NA	+	-	NA	-
89	-	+	-	NA	-	-	NA	NA	-	NA	-
90	+	+	-	NA	-	-	NA	NA	-	NA	-
93	+	+	-	NA	-	-	NA	NA	+	+	-
94	-	+	-	NA	-	-	NA	NA	+	-	-
95	NA	+	-	NA	-	-	NA	NA	-	+	-
97	-	+	-	NA	-	-	NA	NA	-	+	-
99	-	+	-	NA	-	-	NA	NA	+	-	-
100	-	+	-	NA	-	-	NA	NA	-	-	-
102	+	+	-	NA	-	-	NA	NA	-	+	-
103	-	+	-	NA	-	-	NA	NA	+	-	-
104	-	+	-	+	-	-	NA	NA	-	+	-
105	-	+	-	+	-	-	NA	NA	-	+	-
106	NA	+	-	+	-	-	NA	NA	-	+	-
107	-	+	-	NA	-	-	NA	NA	NA	-	+
108	+	+	-	NA	-	-	NA	NA	-	+	-
109	+	+	-	+	-	-	NA	NA	-	+	+
110	-	+	-	+	-	-	NA	NA	-	+	-
111	-	+	-	+	-	-	NA	NA	-	+	-
112	-	NA	-	+	-	-	NA	NA	-	+	-
113	+	+	-	+	-	-	NA	-	-	+	-
114	-	+	-	+	-	-	NA	-	-	+	-
115	-	+	-	+	-	-	NA	-	-	+	-
116	+	+	-	+	-	-	NA	-	-	+	-
117	+	+	-	+	-	-	NA	-	-	-	-
Toplam NA	6	4	0	36	0	92	48	32	11	11	0
Toplam (+)	42	87	0	44	10	0	3	27	12	29	34
Toplam (-)	44	1	92	12	82	0	41	33	69	52	58

Ek-4 Çin turuncu x Rubidoux üç yapraklısı melezlerinde tristezaya dayanıklılık durumları (Fang ve Roose, 1999)

MELEZLER	OPAD08- 1100 bç	MELEZLER	OPAD08- 1100 bç	MELEZLER	OPAD08- 1100 bç	MELEZLER	OPAD08- 1100 bç
1	+	28	+	70	+	107	-
2	-	29	+	71	-	108	-
3	+	30	-	72	+	109	+
4	-	32	+	74	+	110	-
5	-	33	-	75	-	111	-
6	+	34	+	77	+	112	-
7	+	35	-	79	+	113	-
8	+	36	-	80	+	114	-
9	-	37	+	82	-	115	-
10	-	38	+	83	+	116	+
11	+	39	+	84	+	117	-
12	-	41	+	85	+		
13	+	42	+	86	+		
14	-	43	-	87	+		
15	-	44	+	89	+		
16	+	45	+	90	+		
17	+	46	+	93	+		
18	-	47	+	94	+		
19	+	49	-	95	+		
20	-	50	+	97	+		
21	+	53	-	99	+		
22	+	55	+	100	-		
23	-	60	+	102	+		
24	-	61	+	103	-		
25	+	62	-	104	+		
26	-	63	+	105	+		
27	-	65	+	106	-		
Toplam NA	0						
Toplam (+)	55						
Toplam (-)	37						

Ek-5- Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde tristezaya dayanıklılık durumları (Fang ve ark, 1998)

MELEZLER	OPC19 960 bç	OPJ07 570 bç	OPJ20 750 bç	OPL04 370 bç	OPO04 700 bç	OPO04 1300 bç	OPO12 1000 bç	OPW18 450 bç	OPAD02 700 bç	OPAF05 700 bç	OPAF07 580 bç	OPC16 760 bç	OPE16 570 bç	OPF19 950 bç	OPG06 900 bç	OPT09 390 bç	OPZ16 650 bç	OPE20 920 bç
1	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	NA	-	+	+	-	-	+
2	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	NA	+	+	+	-	-	+
3	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	NA	+	+	+	-	-	+
4	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
5	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+
6	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	NA	-	+	-	-	-	+
7	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+
8	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	NA	+	+	+	-	-	+
9	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
10	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+
11	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
12	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
13	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	NA	-	-	+	-	-	+
15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
16	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
17	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+
19	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	NA	+	-	+	-	-	+
21	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	NA	+	+	-	-	+	+
22	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+
23	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
24	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+
25	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
28	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
29	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	NA	-	-	-	-	NA	+
30	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	NA	+
35	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	NA	+
Toplam NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	3	0
Toplam (+)	10	18	21	13	15	14	26	12	16	5	0	7	11	11	15	0	2	27
Toplam (-)	17	9	6	14	12	13	1	15	11	22	27	11	16	6	12	27	22	0

Ek-6- Gou Tou turuncu x Yeri üç yapraklı melezlerinde tristeszaya dayanıklılık durumları (Mestre ve ark, 1997a ve Mestre ve ark, 1997b)

MELEZLER	OPO07- 650 bç	OPG18- 1000 bç	OPA15- 120 bç	OPO10- 1400 bç	OPW18- 450 bç	MELEZLER	OPD07- 800 bç	OPE04- 750 bç	OPG09- 1200 bç	OPG19- 1200 bç	OPK16- 800 bç
1	+	-	-	+	+	1	-	+	+	-	+
2	+	-	+	+	-	2	-	+	+	-	+
3	+	+	-	+	-	3	+	+	+	-	-
4	+	+	+	+	+	4	-	-	+	-	-
5	+	-	-	+	-	5	-	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	6	+	-	+	+	+
7	+	-	+	+	+	7	-	+	+	-	-
8	+	+	+	+	-	8	-	+	+	-	-
9	+	-	+	+	-	9	+	+	+	-	-
10	+	+	-	+	-	10	-	+	+	-	-
11	+	+	-	+	+	11	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	+	12	-	-	+	+	+
13	+	+	+	+	-	13	-	-	+	+	+
15	+	-	-	+	+	15	+	+	+	-	+
16	+	+	+	+	-	16	-	+	+	+	+
17	+	+	+	+	-	17	+	+	+	+	-
19	+	+	-	+	-	19	+	-	+	+	-
21	+	+	+	+	+	21	+	NA	+	+	+
22	+	+	+	+	-	22	+	-	+	+	-
23	+	-	+	+	-	23	+	NA	+	+	+
24	+	-	+	+	-	24	-	-	+	+	-
25	+	+	-	+	-	25	+	-	+	-	-
26	+	+	-	+	+	26	-	-	+	-	+
28	+	+	+	+	+	28	-	-	+	+	-
29	-	+	+	+	+	29	-	NA	+	-	-
30	+	-	+	+	+	30	-	-	+	+	+
35	+	+	+	+	-	35	+	-	+	+	+
Toplam NA	0	0	0	0	0	Toplam NA	0	3	0	0	0
Toplam (+)	26	18	18	27	12	Toplam (+)	12	12	27	15	14
Toplam (-)	1	9	9	0	15	Toplam (-)	15	12	0	12	13

Ek-7- Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde tritezaya dayanıklılık durumları (Cristofani ve ark, 1999)

MELEZLER	OPW18 450 bç	OPAV12 470 bç	OPE16 570 bç	OPAV11 1430 bç	OPAT07 400 bç	OPE20 510 bç	OPN08 2750 bç	OPE07 820 bç	OPA04 480 bç	OPN15 1630 bç	OPM05 380 bç
1	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
2	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
3	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
4	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
5	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
6	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	NA
7	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
8	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	NA
9	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
10	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
11	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	NA
12	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	NA
13	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	NA
15	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
16	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
17	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	NA
19	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	NA
21	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	NA
22	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	NA
23	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	NA
24	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	NA
25	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	NA
26	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	NA
28	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	NA
29	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	NA
30	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	NA
35	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	NA
Toplam NA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17
Toplam (+)	12	27	9	0	3	15	0	0	2	0	10
Toplam (-)	15	0	18	27	24	12	27	27	25	27	0

Ek-8- Gou Tou turuncu x Yerli üç yapraklı melezlerinde tritezaya dayanıklılık durumları (Fang ve Roose, 1998)

MELEZLER	OPAD08- 1100 bç
1	+
2	-
3	-
4	+
5	+
6	+
7	+
8	-
9	-
10	+
11	+
12	+
13	+
15	+
16	-
17	+
19	-
21	-
22	+
23	-
24	+
25	-
26	+
28	-
29	+
30	+
35	-
Toplam NA	0
Toplam (+)	16
Toplam (-)	11

Ek-9- Sunki mandarini x Rubidoux üç yapraklısı melezlerinde tristezaya dayanıklılık durumları (Fang ve ark, 1998)

MELEZLER	OPC19 950 bç	OPJ07 570 bç	OPJ20 750 bç	OPL04 370 bç	OPO04 700 bç	OPO04 1300 bç	OPO12 1000 bç	OPW18 450 bç	OPAD02 700 bç	OPAF05 700 bç	OPAF07 580 bç	OPC17 760 bç	OPE16 570 bç	OPF19 950 bç	OPG06 900 bç	OPT09 390 bç	OPZ16 650 bç	OPE20 920 bç
1	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+
2	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+
3	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
4	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+
5	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+
6	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+
7	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+
8	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
9	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+
10	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
11	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
12	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+
13	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
14	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+
15	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
16	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	NA	-	+	+	-	-	+	+
17	-	-	+	-	-	NA	+	+	-	-	NA	+	+	+	-	-	+	+
18	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	NA	-	-	-	-	-	+	+
19	+	+	+	+	-	+	+	+	-	NA	NA	-	-	-	-	+	+	+
20	+	+	+	+	-	+	+	+	+	NA	NA	+	+	-	-	-	+	+
21	-	+	+	+	-	-	+	+	-	NA	NA	-	+	+	-	-	+	+
22	+	+	+	+	-	+	+	+	-	NA	NA	+	+	-	-	-	+	+
23	+	NA	+	+	-	-	+	+	-	+	NA	+	+	-	-	-	+	+
25	-	-	+	-	-	+	+	-	+	NA	NA	+	+	+	-	+	+	+
26	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	NA	+	+	-	-	-	+	+
27	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	NA	-	+	-	-	-	+	+
28	-	+	+	-	-	-	+	-	-	NA	NA	+	+	+	-	-	+	+
30	-	+	+	-	-	+	+	-	-	NA	NA	+	+	+	-	-	+	+
32	-	-	+	-	-	-	+	-	-	NA	NA	+	+	+	-	-	+	+
33	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	NA	+	+	+	-	+	+	+
34	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	NA	+	+	+	-	-	+	+
36	-	+	+	-	-	-	+	-	-	NA	NA	+	+	-	+	-	+	+
37	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	NA	+	+	-	+	-	+	+
38	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	NA	+	+	+	-	-	+	+
39	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	NA	+	+	-	-	-	+	+

40	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	NA	+	+	+	-	-	+	+
41	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	NA	+	+	+	-	+	+	+
42	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	NA	-	+	-	+	-	+	+
44	-	-	+	-	-	NA	+	-	-	+	NA	+	+	+	-	-	+	+
46	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	NA	+	+	-	-	-	+	+
47	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	NA	+	+	-	-	-	+	+
Toplam NA	0	1	0	0	0	2	0	0	0	9	26	0	0	0	0	0	0	0
Toplam (+)	21	30	39	25	0	21	41	30	6	11	11	33	35	20	3	6	41	41
Toplam (-)	20	10	2	16	41	18	0	11	35	21	4	8	6	21	38	35	0	0

Ek-10- Sunki mandarini x Rubidoux üç yapraklısı melezlerinde tritezaya dayanıklılık durumları (Mestre ve ark, 1997a ve Mestre ve ark, 1997b)

MELEZLER	OPO07 650 bç	OPG18 1000 bç	OPA15 1200 bç	OPO10 1400 bç	OPW18 450 bç	MELEZLER	OPD07 800 bç	OPE04 750 bç	OPG09 1200 bç	OPG19 1000 bç	OPK16 800 bç
1	+	-	+	+	+	1	+	+	-	+	+
2	+	-	-	+	+	2	-	-	-	+	+
3	+	-	+	+	+	3	-	+	-	+	+
4	+	-	+	+	+	4	-	+	-	+	+
5	+	-	+	+	+	5	+	+	-	+	+
6	+	-	+	+	-	6	+	+	+	-	+
7	+	-	+	+	+	7	+	+	-	+	+
8	+	-	+	+	+	8	-	+	+	+	+
9	+	-	+	+	+	9	-	+	-	-	+
10	+	+	+	+	-	10	+	+	-	-	+
11	+	+	+	+	+	11	+	+	-	+	+
12	+	+	+	+	+	12	+	+	-	+	+
13	+	+	+	+	+	13	-	+	-	+	+
14	+	+	+	+	-	14	-	-	-	+	+
15	+	+	+	+	+	15	+	-	-	-	+
16	+	+	+	+	+	16	+	+	+	-	+
17	+	+	+	+	-	17	+	+	-	-	+
18	+	+	+	+	+	18	+	+	-	+	+
19	+	+	+	+	+	19	+	+	-	-	+
20	+	+	+	+	+	20	+	+	-	-	+
21	+	-	+	+	-	21	-	-	-	+	+
22	+	-	+	+	+	22	-	+	-	+	+
23	+	-	+	+	+	23	-	+	-	-	+
25	+	-	+	+	-	25	+	+	-	-	+
26	+	-	+	+	+	26	+	+	-	-	+
27	+	-	+	+	+	27	+	+	-	-	+
28	+	-	+	+	-	28	-	+	-	+	+
30	+	-	+	+	-	30	-	+	-	+	+
32	+	-	+	+	-	32	+	+	-	-	-
33	+	-	+	+	+	33	-	+	-	+	+
34	+	-	+	+	+	34	+	+	-	+	+

36	+	-	+	+	-	36	+	+	-	-	+
37	+	-	+	+	+	37	-	+	-	+	+
38	+	-	+	+	-	38	+	+	-	-	+
39	+	-	+	+	+	39	+	+	-	+	+
40	+	-	+	+	-	40	-	+	+	+	+
41	+	-	+	+	-	41	+	+	+	-	+
42	+	-	+	+	+	42	+	+	+	-	+
44	+	-	+	+	-	44	+	+	+	-	+
46	+	+	+	+	+	46	+	+	+	-	+
47	+	+	+	+	+	47	-	-	+	-	+
Toplam NA	0	0	0	0	0	Toplam NA	0	0	0	0	0
Toplam (+)	41	13	40	41	27	Toplam (+)	25	36	9	21	40
Toplam (-)	0	28	1	0	14	Toplam (-)	16	5	32	20	1

Ek-11- Sunki mandarini x Rubidoux üç yapraklısı melezlerinde tristeszaya dayanıklılık durumları (Cristofani ve ark, 1999)

MELEZLER	OPW18 450 bç	OPAV12 470 bç	OPE16 510 bç	OPE16 570 bç	OPAV11 1430 bç	OPAT07 400 bç	OPE20 510 bç	OPN08 2750 bç	OPE07 820 bç	OPA04 480 bç	OPN15 1630 bç	OPM05 380 bç
1	+	+	-	+	+	-	+	-	NA	+	-	-
2	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
3	+	+	-	+	-	-	+	-	NA	+	-	+
4	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
5	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
6	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
7	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+
8	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
9	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
10	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
11	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
12	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
13	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
14	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+
15	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
16	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
17	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-
18	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
19	+	+	-	NA	-	-	+	-	-	+	-	+
20	+	+	-	NA	-	+	+	-	-	+	-	+
21	-	+	-	NA	+	-	+	-	-	+	-	-
22	+	+	-	NA	-	-	+	-	-	+	-	-
23	+	+	-	NA	-	-	+	-	-	+	-	+
25	-	+	+	NA	-	+	+	-	-	+	-	-
26	+	+	-	NA	+	-	+	-	-	+	-	-
27	+	+	NA	NA	-	-	+	-	-	+	-	+
28	-	+	NA	NA	+	-	+	-	-	+	-	-
30	-	+	NA	NA	+	-	+	-	-	+	-	+
32	-	+	NA	NA	+	+	+	-	-	+	-	-
33	+	+	NA	NA	-	-	NA	-	-	+	-	-
34	+	+	NA	NA	-	-	+	-	-	+	-	+

36	-	+	NA	NA	NA	-	+	-	NA	+	-	-
37	+	+	NA	NA	-	-	+	-	-	+	-	+
38	-	+	NA	NA	+	-	+	-	-	+	-	-
39	+	+	NA	NA	-	-	+	-	-	+	-	+
40	-	+	NA	NA	NA	-	+	-	NA	+	-	+
41	-	+	NA	NA	+	-	+	-	-	+	-	-
42	+	+	NA	NA	+	-	+	-	-	+	-	+
44	-	+	NA	NA	+	-	+	-	-	+	-	-
46	+	+	NA	NA	+	-	+	-	-	+	-	-
47	+	+	NA	NA	+	-	+	-	-	+	-	-
Toplam NA	0	0	16	23	2	0	1	0	4	0	0	0
Toplam (+)	27	41	5	8	18	3	35	0	0	39	0	19
Toplam (-)	14	0	20	10	21	38	5	41	37	2	41	22

EK-12- Sunki mandarinı x Rubidoux üç yapraklısı melezlerinde trizezaya dayanıklılık durumları (Fang ve Roose, 1998)

MELEZLER	OPAD08- 1100 bç	MELEZLER	OPAD08- 1100 bç
1	-	22	+
2	-	23	+
3	+	25	-
4	-	26	+
5	+	27	+
6	-	28	-
7	+	30	+
8	+	32	-
9	+	33	+
10	+	34	-
11	+	36	-
12	+	37	+
13	+	38	-
14	-	39	-
15	+	40	-
16	-	41	-
17	-	42	+
18	+	44	-
19	+	46	-
20	+	47	+
21	-		
Toplam NA	0		
Toplam (+)	22		
Toplam (-)	19		

Ek-13- Primerler ve elde edildiği ebeveyn bitkiler

Mestre ve ark, (1997a)	Ana Ebeveyn (♀)	Baba Ebeveyn (♂)		
OPO07-650	<i>C. medica</i> var. ethrog Arizona	<i>P. trifoliata</i> var. Flying Dragon		
OPG18-1000				
OPA15-1200				
OPO10-1400				
OPW18-450				
OPE04-750	<i>P. trifoliata</i> var. Flying Dragon	<i>P. trifoliata</i> var. Flying Dragon		
OPG09-1200				
OPG19-1000				
OPK16-800				
OPD07-800				
Mestre ve ark, (1997b)	Ana Ebeveyn (♀)	Baba Ebeveyn (♂)		
OPD07-800	<i>C. medica</i> var. ethrog Arizona	<i>P. trifoliata</i> var. Flying Dragon		
OPE04-750				
OPG09-1200				
OPG19-1000				
OPK16-800				
Cristofani ve ark, (1999)	Ana Ebeveyn (♀)	Baba Ebeveyn (♂)		
OPW18-450	<i>C. sunki</i> Hort. ex. Tan.	<i>P. trifoliata</i> (L.) Raf cv. Rubidoux		
OPAV12-470				
OPE16-570				
OPAV11-1430				
OPAT07-400				
OPE20-510				
OPN08-2750				
OPE07-820				
OPA04-480				
OPN15-1630				
OPM05-380				
Fang ve Roose, (1999)			Ana Ebeveyn (♀)	Baba Ebeveyn (♂)
OPAD08-1100			<i>C. maxima</i> var. Chandler	<i>P. trifoliata</i> var. Roubidoux
	<i>C. maxima</i> var. Chandler	<i>P. trifoliata</i> var. Webber Fawcett		

Ek-13- Devamı

Fang ve ark, (1998)	Ana Ebeveyn (♀)	Baba Ebeveyn (♂)
OPC19-960		
OPJ07-570		
OPJ20-750		
OPL04-370		
OPO04-700,1300	<i>C. taiwanica</i>	<i>P. trifoliata</i> var. Webber Fawcett
OPO12-1000	<i>C. maxima</i> var. Chandler	<i>P. trifoliata</i> var. Roubidoux
OPW18-450	<i>C. maxima</i> var. Chandler	<i>P. trifoliata</i> var. Webber Fawcett
OPAD02-700	<i>C. maxima</i> cv. Tahitian	<i>P. trifoliata</i> var. Flying Dragon
OPAF05-700	<i>C. maxima</i> cv. Tahitian	Carrizo Citrange
OPAF07-580	<i>C. sinensis</i> cv. Ruby	<i>P. trifoliata</i> var. Flying Dragon
OPC17-760	Scaton citrumelo	Troyer Citrange
OPE16-570	<i>P. trifoliata</i> cv. Pomeroy	<i>P. trifoliata</i> cv. Pomeroy
OPF19-950	<i>P. trifoliata</i> var. Flying Dragon	<i>P. trifoliata</i> var. Flying Dragon
OPG06-900	<i>P. trifoliata</i> var. Flying Dragon	C-35 citrange
OPT09-390		
OPZ16-650		
OPE20-600,920		