

Üç Yapraklı Portakal Çöğürlerinin Büyümesi Üzerine Mikoriza ve Solucan Gübresinin Etkisi, Nagami Kamkatı Aşısı Kalemlerinin Kobalt-60 Işınlanmasına Dayanımının Belirlenmesi ve Farklı Genotiplerin RAPD Belirteçleri ile Tanımlanması

Cennet KARA ÖZBEK¹, Zeynel DALKILIÇ^{*1}

¹Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, AYDIN.

Özet: Çalışmada Nagami kamkatı aşısı kalemi (*Fortunella margarita* L.) ve üç yapraklı portakal (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) anaç olarak kullanılmıştır. Çöğürler Aralık 2012'den itibaren 4 farklı harç ortamında (kontrol, mikoriza, solucan gübresi, mikoriza+solucan gübresi) büyütülmüştür. Temmuz 2013'te anaçlarda en fazla boy artışı kontrol grubunda olurken, çap kalınlığı mikorizalı grupta, yan dal sayısı ise solucan gübresi grubunda daha fazla bulunmuştur. Temmuz 2013'te Nagami kamkatının aşısı kalemleri 0, 15, 30, 45, 60 Gy ⁶⁰Co (kobalt-60) gama ışınına tabi tutulmuşlardır. Işınlanan gözler naylon yüksek tünelde saklı içerisinde yetiştirilen iki yaşındaki üç yapraklı portakal anaçları üzerine T göz aşısı ile aşılanmışlardır. 248 bitkiden 48 adedinin aşısı tutmuştur. Böylece M₁V₁ bitkileri elde edilmiştir. Ancak meyve tutumuna kadar geçen zamanda hayatta kalan bitki sayısı 30'a düşmüştür. Yüksek tünel şartlarında büyütülen bitkilerde aşidan 21 gün sonra aşısı tutma oranı %18.8 60 Gy-%43.8 15 Gy arasındadır. Aşıdan yaklaşık 16 ay sonra sürgün boyu 20.98 cm 45 Gy-39.02 cm 0 Gy, sürgün çapı 4.78 cm 30 ve 45 Gy-5.72 cm 60 Gy, yaprak sayısı 26 adet 30 ve 45 Gy-47 adet 0 Gy, meyve sayısı 2.40 adet 60 Gy-5.50 adet 45 Gy, meyve çapı 16.20 mm 60 Gy-18.99 mm 0 Gy arasında değişmiştir. Klorofil miktarı yaprak üst ve alt yüzeylerinde sırasıyla 0.6254 30 Gy-0.6735 0 Gy ve 0.4003 30 Gy-0.4224 0 Gy arasında değişmiştir. 12 nolu bireyin (S-26-45) diğer bireylerden farklı olduğu RAPD primerleri ile belirlenmiştir. Farklılığı ispat eden PM2, PM3, PM4, PM5, PM7, PM8 primerleri ile 4 polimorfik, toplam 14 bant elde edilmiştir. Nagami kamkatı aşısı kalemlerinin 60 Gy ⁶⁰Co gama ışınına dayanabileceği gözlenmiştir. Bu nedenle daha yüksek dozların denenmesi tavsiye edilebilir.

Anahtar Kelimeler: *Fortunella margarita*, *Poncirus trifoliata*, ⁶⁰Co ışınlanması, fidan özellikleri, PCR, RAPD belirteçleri

Effects of Mycorrhiza and Vermicompost on the Growth of Trifoliolate Orange Seedlings, and Determination of Tolerance of Nagami Kumquat Budwoods to Cobalt-60 Irradiation and Identification of Different Genotypes with RAPD Markers

Abstract: Nagami kamquat (*Fortunella margarita* L.) and trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) were used as scion and rootstock, respectively, in this study. Seedlings have been grown in four different groups of potting mixtures such as control, mycorrhiza, vermicompost, and mycorrhiza+vermicompost since December 2012. While the highest increase in seedling length was in control group, that of in seedling diameter was in mycorrhiza group and that of in side-branches was in vermicompost in July 2013. Nagami kamquat scionwoods were treated with 0, 15, 30, 45, 60 Gy ⁶⁰Co (cobalt-60) gamma irradiation in July 2013. Irradiated budwoods were T-budded on two-year-old trifoliolate orange rootstocks grown in high plastic tunnel. Total of 248 budded plants, only 48 were bud-taken. Thus, M₁V₁ plants were obtained. However, only 30 plants survived until fruit set time. Bud take ratio in plants grown in high plastic tunnel was between 18.8 60% Gy and 43.8 15% Gy 21 days after budding. The morphological measurements were ranged as follows: shoot length 20.98 cm 45 Gy-39.02 cm 0 Gy, diameter 4.78 cm 30 and 45 Gy-5.72 cm 60 Gy, leaf number 26 no. 30 and 45 Gy-47 no. 0 Gy, fruit number 2.40 no. 60 Gy-5.50 no. 45 Gy and diameter 16.20 mm 60 Gy-18.99 mm 0 Gy in approximately 16 months after budding. Chlorophyll contents were changed in the upper and lower side of the leaf as 0.6254 30 Gy-0.6735 0 Gy and 0.4003 30 Gy-0.4224 0 Gy, respectively. Plant no: 12 (S-26-45) was determined as different from other plants using RAPD primers. PM2, PM3, PM4, PM5, PM7, and PM8 primers gave four polymorphic and 14 total bands proving the difference. It was observed that Nagami kamquat scionwood resist to 60 Gy ⁶⁰Co gamma irradiation. Therefore, it is advisable to apply higher doses of ⁶⁰Co.

Keywords: *Fortunella margarita*, *Poncirus trifoliata*, ⁶⁰Co irradiation, nursery tree characteristics, PCR, RAPD markers

GİRİŞ

Turunçgiller, *Citrus* spp., 2n=18, Rutaceae familyası içerisinde herdem yeşil bitki türleridir. Turunçgillerin birinci derecede anavatanı Güneydoğu Asya'dır (Davies ve Albrigo, 2005). Turunçgiller toplam 123,755,751 ton üretim ile dünyada en fazla üretilen meyve grubudur. Dünyada en büyük üretici ülkeler Çin ve Brezilya olup bunları sırasıyla Hindistan, ABD, Meksika ve İspanya izlemektedir (Anonim, 2012). Kamkatlar (*Fortunella* spp.) sınırlı miktarda yetiştirilir (Davies ve Albrigo, 2005). Dünya üretiminin %56'sı portakal, %17'si mandarin, %12'si limon %6'sı altıntop ve %9'u turuncun da bulunduğu diğer turunçgillerdir (Anonim, 2012). Türkiye'nin de içerisinde yer aldığı Akdeniz havzasında dünya turunçgil üretiminin %22'si gerçekleştirilmektedir. Ülkemizdeki ekolojik şartlar, Akdeniz ve Ege bölgelerinde turunçgil yetiştiriciliğinin son derece başarılı şekilde yapılmasına olanak sağlamaktadır (Seday ve Eti, 2011). Kamkat, "turunçgiller ailesinin küçük mücevheri" olarak isimlendirilmektedir (Hocagil, 2012). Fortunella adını, 1812-1880 yılları arasında yaşamış İskoçyalı bahçecilik uzmanı Robert Fortune'un soyadından almaktadır. Robert Fortune, Çin'de yaşadığı yıllarda sürekli ilginç bitkileri toplamış ve İngiltere'ye dönüşünde de bu koleksiyonunu beraberinde götürmüştür.

Batı dünyası, bu birikimin içinde yer alan kamkatla, Fortune sayesinde tanışmış ve onu onurlandırmak amacıyla bu bitkilerin cins adına 'Fortunella' denmiştir. "Kumquat ya da komquat" adlarıyla anılan meyveye "altın portakal" da denilmektedir. Meyve şekli, elipsten ('Nagami', *Fortunella margarita*) küresele ('Meiwa', *F. crassifolia*; 'Marumi', *F. japonica*) kadar tür ve çeşide göre değişir (Davies ve Albrigo, 2005; Hocagil, 2012). Bütün meyvenin genellikle kabuğu da dahil yenmesi kendisine ayrı bir özellik kazandırır. Ağaç, dikine büyüme gösteren habitüsüyle orta derecede kuvvetli büyür. Yapraklar, mızraktan elipse kadar değişen yaprak ayasıyla küçüktür ve oldukça indirgenmiş yaprak ayasına sahiptir. Yaprak ayasının alt yüzeyi, karakteristik gümüşü renktedir. Kamkatlar, diğer ticari turunçgillerden çok daha geç çiçeklenmeye eğilim gösterir.

***Sorumlu Yazar:** zdalkilic@adu.edu.tr

Bu çalışma, yüksek lisans tezi ürünü olup, ADÜBAP (ZRF13057) tarafından desteklenmiştir.

Geliş Tarihi: 20 Temmuz 2016

Kabul Tarihi: 5 Mayıs 2017

Tam olarak kışa alıştığı zaman, yapraklar ve odun dokusu dona oldukça dayanıklıdır (Davies ve Albrigo, 2005).

Turunçgillerde varyasyonu sınırlayan temel sebepler apomiksis ve poliembriyoni olaylarına olan yüksek eğilimdir. Tür içerisindeki varyasyonlar ise çoğunlukla doğal mutasyonlar sonucu oluşmuştur (Gökçe, 2011). Turunçgiller doğal melezlemeye ve mutasyona eğilimli bitkiler olmasından dolayı yeni çeşitler ortaya çıkarmaya elverişlidir (Davies ve Albrigo, 2005). Geleneksel ıslah yöntemleri ile çok sayıda yeni çeşit üreticilerin hizmetine sunulmuştur. Ancak bu yöntemlerle çeşit geliştirmede uzun zamana, fazla emeğe ve kaynağa gerek duyulmaktadır. Bu nedenle bitki ıslahçıları daha kolay ve daha hızlı varyasyon sağlayacak yeni yaklaşımlar üzerinde durmaktadırlar. Bunlardan biri de mutasyon ıslahıdır (Başer ve ark., 2007).

Mutasyon oluşturma ve mutant tiplerden yararlanma düşüncesi ilk kez 1901 yılında Hugo de Vries isimli araştırmacının "Mutasyon Teorisi" adlı eserinde ortaya atılmıştır (Değirmenci, 2006). Mutasyon ıslahında temel nokta iyi özelliklere sahip çeşitlerin 1-2 olumsuz özelliğinin, olumlu özellikler korunarak iyileştirilmesidir.

Mutasyonlar çoğunlukla resesif ve öldürücü olmaktadır. Mutagenler popülasyonlara uygulandığında büyük çapta varyasyon ortaya çıkarmaktadır. Bu varyasyondan ıslah amaçlarına uygun, değişimi istenen özellikler yönünde sonuçlar veren bitkiler seçilebilmektedir (Çiftçi ve Şenay, 2005). Günümüzde mutasyon ıslahı çalışmalarında genetik çeşitlilik açısından çok sayıda kimyasal ve fiziksel mutagenler kullanılabilir (Değirmenci, 2006).

Fiziksel mutagenler yavaş ve hızlı iyonize olmalarına göre ikiye ayrılır. Mutasyon meydana getirmek için UV ışınları ile birlikte iyonize radyasyon olarak da adlandırılan X ve gama ışınları, alfa ve beta parçacıkları, proton ve nötronlar da kullanılmaktadır. Bunların ortak özelliği enerjilerini vermeleri olup bu olaya da "iyonize radyasyon" denmektedir. Yavaş iyonize olanlar ultraviyole ışık kaynağından elde edilen ultraviyole radyasyon, X ışın kaynağından elde edilen X ışınları, Cobalt-60 (⁶⁰Co) veya Cesium-137 (¹³⁷Cs) gibi radyoaktif izotoplardan elde edilen gama ışınlarıdır. Bu mutagenler, bitki dokusuna kolay girebilirler. Doğrudan DNA üzerinde etkili olmalarıyla birlikte gen (nokta) mutasyonlarını ortaya çıkarmaktadırlar. Fiziksel mutagenlerden en çok gama ışını tercih edilmektedir. Çünkü gama ışınlarının uygulamada kolay yapılabilmesi ve geçirgenliği yüksek olması sonucu hedef hücrelere kolay ulaşabilmekte, toksik bir etki bırakmamaktadır (Değirmenci, 2006). Gama ışınları kullanılarak meyve türlerinden elma (*Malus domestica*), fındık (*Corylus avellana*), ceviz (*Juglans regia*), vişne (*Prunus cerasus*), badem (*Amygdalus communis*), zeytin (*Olea europaea*), muz (*Musa cavendishii*) ve turunçgillerde (*Citrus* spp.) olumlu sonuçlar alınmıştır (Kunter ve ark., 2009).

Turunçgil tür ve çeşitlerini DNA düzeyinde belirlemek için izoenzim, melezlemeye dayalı RFLP (Kesilen Fragmentlerin Uzunluk Polimorfizmi), PCR'a dayalı RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA), SCAR (Baz Dizisi Belirlenen Çoğaltılmış Bölgeler), AFLP (Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi), SSR (Basit Dizi Tekrarı), ISSR (Kısa Dizi Tekrarları Arası) ve SRAP (Baz Dizilimine Bağlı Çoğaltılmış Polimorfizm) kullanılmaktadır (Göçmen ve ark., 2003; Gulsen ve ark., 2007).

Altıntopta birincisi Walters'tan (beyaz etli bir çeşit) köken alan Foster, Hudson ve Star Ruby ile ikincisi Thompson (Pink Marsh)'dan köken alan Redblush, Ruby Red, Ray Ruby, Rio Red, Flame (Henderson) ve Burgundy olmak üzere mutasyonla elde edilmiş çeşitler bulunur (Davies ve Albrigo, 2005).

Limonda tomurcuklara ⁶⁰Co gama ışını uygulanmış Villafranca'dan Ayalet ve Euraka'dan Galya elde edilmiştir (Spiegel-Roy ve ark., 2007). Femminello limon çeşidinin aşı kalemlerine 0, 30, 50, 70, 90 Gy dozlarında ⁶⁰Co gama ışını uygulanmıştır. Elde edilen 'Gülşen', 'Alata' ve 'Uzun' çeşitlerinde 50 Gy dozunda uçkurutana hassas bulunmuş ve çekirdeksizlik elde edilmiştir. 70 Gy dozunda ise elde edilen Eylül çeşidinin erken olgunlaşan, uçkurutana karşı toleranslı ve çekirdekli olduğu tespit edilmiştir (Uzun ve ark., 2008).

Mandarinde Kinnow'un tohumlarına 0, 20, 30, 40, 50, 100, 150 ve 200 Gy dozlarında gama ışını uygulanmış, LD₅₀ 50 Gy olarak bulunmuştur. Sonuç olarak morfolojik karakterlerde önemli varyasyonlar, fidanların büyüme oranında azalma, tohum kabuğunun uzaklaştırıldığı deneyde tohumun çimlenme süresinde kısalma görülmüştür (Ahmad ve ark., 1992). Kinnow'un (25±5 çekirdek) dormant haldeki tomurcuklarına 0, 20, 40, 60, 80, 120 Gy dozlarında ⁶⁰Co gama ışınlanması yapılmış ve 5±3 çekirdek sayısına sahip mutant Kinnow elde edilmiştir (Khalil ve ark., 2011).

Willowleaf mandarinin nusellar embriyogenik kallusu MT ortamında 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 Gy dozlarında 60Co gama ışınına maruz bırakılmıştır. 90 Gy dozuna kadar farklılık görülmemiştir. Bu kallusların 1-2 alt kültüre alınması 160 ve 180 Gy dozlarında yaşam oranlarını olumlu etkilemiştir (Ollitrault, 1992). Orah ve Murcott çekirdekli mandarinlerine 32.5 ve 40 Gy dozlarında ⁶⁰Co gama ışını uygulanarak Orri ve Moria çeşitleri elde etmişlerdir (Vardi ve ark., 2008).

Pera (5-6 çekirdek) portakalının tomurcuklarına 40 Gy dozunda gama ışını uygulayarak çekirdeksiz mutant elde edilmiştir (Latado ve ark., 2001).

Washington Navel'in dalında oluşan doğal mutasyonla koyu kahverengi kabuk yapısına sahip, et rengi aynı olan ancak meyvesi biraz daha büyük olan Navel Negra ortaya çıkarılmıştır (Alós ve ark., 2008).

Turunçgil gen kaynakları (Göçmen ve ark., 2003; Gülşen ve ark., 2005), mandarin (Machado ve ark., 1996; Yeşiloğlu ve ark., 2002), altıntop (Varol, 2007) ve limon (Şimşek, 2009) RAPD belirteçleri ile ilgili çalışmalar yapılmıştır.

Mikoriza, diğer bitkilerde olduğu gibi üç yapraklı portakal anacının büyüme ve gelişmesine de doğrudan etki etmektedir. Mikorizanın toprakta bulunuşu, bitki kökleri içindeki oluşumu ve aktivitesi toprak verimliliğine özellikle de ortamın fosfor konsantrasyonuna bağlı olarak farklılık göstermektedir (Ortaş, 1998). Taştekin ve Dalkılıç (2008)'in yaptığı çalışmada, mikoriza uygulaması yapılan turunç kontrol ve kaba limona göre daha iyi bir saçak kök yapısı ve buna bağlı olarak uygun, sağlıklı bir çöğür elde edilmiştir.

Son yıllarda bitki yetiştiriciliğinde solucan gübresinden yararlanılmaya başlanmıştır. Solucan kompostu (vermicompost) oksijenli ortamda solucanlar tarafından organik maddenin ayrıştırılmaya uğratılması ile elde edilir (kest) (Kara, 2013). Toprak solucanları Annelida şubesinin Oligochaeta sınıfının Lumbricidae ailesindedir. Kırmızı solucanlar (*Eisenia fetida*) ticari amaçla en çok kullanılır. Ege bölgesinde zeytinin yağa

işlenmesi sırasında ortaya çıkan karasu kekinin %20 ve %40 oranında karıştırılması ile elde edilen ortamlarda kokon ve solucan sayısı ile solucan ağırlığı artmıştır (Göçmez, 2013). Yapılan kaynak taramasında, üç yapraklı portakalın solucan gübresi uygulamasına verdiği tepki ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amaçları, (1) üç yapraklı portakal çöğürlerinin büyümesi üzerine mikoriza ve solucan gübresinin etkisi, (2) Nagami kamkatı aşı kalemlerinin hayatta kalabileceği en uygun kobalt-60 (⁶⁰Co) gama ışını LD₅₀ dozunun belirlenmesi ve (3) elde edilen mutant bireylerdeki morfolojik değişikliklerin tespit edilerek yaşayan bireylerin moleküler düzeyde RAPD belirteçleri ile tanımlanmasıdır.

MATERYAL ve YÖNTEM

2013-2014 yıllarında yapılan denemede kullanılan 2 yaşındaki 160 tane üç yapraklı portakal (*Poncirus trifoliata*) anacı İzmir ilinin Ödemiş ilçesinden temin edilmiş ve 12.12.2012 tarihinde Ödemiş'teki özel bir fidanlıkta Nagami kamkatı (*Fortunella margarita*) aşı kalemleri ile aşılanmıştır. Mikoriza karışımı 1×10^4 (w/w) *Glomus intraradices*, *G. aggregatum*, *G. mosseae*, *G. clarium*, *G. monosporum*, *G. deserticola*, *G. brasilianum*, *G. etunicatum*, *Gigaspora margarita* ticari firmadan temin edilmiştir (ERS® Endo Roots Soluble, BioGlobal, Antalya). Solucan gübresi Doç. Dr. Ayhan YILDIZ'dan elde edilmiştir.

Anaçların Hazırlanması ve Uygulamalar

12.12.2012 tarihinde 2 yaşındaki 248 tane anacı saksıya dikmek için kök kısaltması ve tepe budaması yapılmıştır. Ortalama boyları 70 cm olan anaçlar 28-25 cm'e kadar kısaltılmıştır. Kökler çeşme suyuyla yıkanmış ve 2 litre hacmindeki saksılara dikilmiştir.

Her uygulamada 62 adet üç yapraklı portakal anacı olacak şekilde 4 grup oluşturulmuştur. Bu gruplar kontrol, mikoriza, solucan gübresi, mikoriza+solucan gübresi uygulamalarıdır. Saksı harcı olarak eşit hacimde bahçe toprağı, torf, curuf, keçi gübresi karışımı kullanılmıştır. Harç 2 litrelik siyah plastik fidan saksılarına doldurulmuştur (62x2=124 litre). Mikoriza grubu 500 ml suya 25 gram mikoriza eklenerek karıştırılmıştır (%5 w/v). Anaçlar dikilmeden önce kökleri mikorizaya 1 dakika süreyle bandırılmıştır. Solucan gübresi 124 litrelik harcın içine 5 gram solucan gübresi ilave edilerek karıştırılmış ve 2 litrelik saksılara doldurulmuştur. Mikoriza+solucan gübresi karışımı, mikoriza solusyonuna bandırılan anaçlar içerisinde solucan gübresi bulunan harca dikilmişlerdir.

Aşı Kalemlerinin Hazırlanması ve ⁶⁰Co Işınlaması Uygulaması

02.07.2013 tarihinde 20 adet aşı kalemi ıslak havluya sarılarak içinde buz olan styrofoam köpük kutuya yerleştirilmiştir. Aşı kalemleri 03.07.2013 tarihinde Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Radyasyon Onkoloji Ana Bilim Dalı'na ulaştırılmıştır. 20 adet aşı kalemi rastgele olarak her doza 5'er adet düşecek şekilde 4 gruba ayrılmış ve 15, 30, 45, 60 gray dozlarında ⁶⁰Co gama ışını uygulaması yapılmıştır. Plastik paket lastiği ile demet haline getirilen aşı kalemleri 1.5 litre hacmindeki su şişesine konup alttan pamukla sabitlenmiştir. İçine geçirgenliği arttırmak için çeşme suyu konulmuştur. Hazırlanan şişe oda sıcaklığında (22-23°C) Theratron Elite 80 (510 K) (MDS Nordion, Ottawa, Ontario, Canada) ⁶⁰Co gama cihazı önüne yerleştirilmiştir. Uygulama doz ve süresi Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Kamkat aşı kalemlerine ⁶⁰Co uygulama süresi

Doz	⁶⁰ Co uygulama süresi (dk:sn)		
	Ön yüz	Arka yüz	Toplam
0	0	0	0
15	12:19	12:15	24:34
30	23:58	23:51	47:49
45	35:37	35:26	71:03
60	47:16	47:02	94:18

Aşılama

0, 15, 30, 45, 60 gray dozlarında ⁶⁰Co gama ışınlaması yapılan Nagami kamkatı aşı kalemleri her uygulamada 32 adet olmak üzere (toplam 160 adet) 05.07.2014 tarihinde yüksek plastik tüneline bulunan üç yapraklı portakal anaçları üzerine T göz aşısı ile aşılanmışlardır. Üç yapraklı portakal anacının yetiştirilmesi sırasında yapılan her bir kontrol, mikoriza, solucan gübresi, mikoriza+solucan gübresi uygulamalarında 8'er adet aşı yapılmıştır.

Fidanlarda Yapılan Ölçümler

12.12.2012 tarihinde 19 cm boyunda olan 240 adet üç yapraklı portakal anaçları saksıya dikildikten sonra gövde çapları ölçülmüştür. 02.07.2013 tarihinde aşı kalınlığına gelen anacın boy uzunluğu (cm), gövde çapı (mm), yan dal sayısı (adet) ölçülmüştür. Anaçların 7 ay içerisindeki 4 farklı harç ortamındaki büyüme durumları karşılaştırılmıştır. 05.07.2013 tarihinde üç yapraklı portakal anacı üzerine T göz aşısı şeklinde aşılanan 5 farklı dozdaki Nagami kamkatı aşı kalemlerinin 26.07.2013 tarihinde tutma oranları hesaplanmıştır. 06.12.2013 ve 02.11.2014 tarihlerinde 0, 15, 30, 45, 60 gray dozlarına ait bitkilerde tutan aşı sürgünlerinin boyu (cm), çapı (mm) ve yaprak sayısı (adet) 2 kez ölçülmüştür. 17.12.2013 tarihinde her bir gama dozuna ait olan bitkilerin yapraklarının alt ve üst yüzeylerindeki klorofil (a+b) miktarları normalize edilmiş büyüme indisi (normalized difference vegetation index) ile ölçüm yapan Plantpen NDVI 300 (PSI [Photon System Instruments], spol. s r.o., Drasov, Çek Cumhuriyeti) ölçülmüştür. 02.11.2014 tarihinde meyve sayısı ve meyve çap değerleri ölçülmüştür.

DNA Çıkartılması

2013 yılında 0, 15, 30, 45, 60 gray dozlarında ⁶⁰Co gama ışını uygulanmış 30 adet bitkinin her birinden 2'şer adet yaprak örneği 18.12.2013 tarihinde toplanıp poşetler içerisine yerleştirilerek en kısa sürede ADÜ-TARBIYOMER, Aydın laboratuvarına getirilip buzdolabına (4°C) yerleştirilmiştir. Kullanılan Phire Plant Direct PCR Kit® (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA) solüsyonlarıyla doğrudan yaprak DNA çıkartılması amacıyla 0.5 cm çapında yaprak diskleri kullanılmıştır.

2014 yılında 21-23.08.2014 tarihleri arasında 29 adet bitkinin DNA'sı GeneJET® Plant Genomic DNA Purification Mini Kit #K0791 (Thermo Fisher Scientific) kullanılarak çıkartılmıştır. DNA miktarı, DNA'lar %1.0'lik agaroz jelde yürütülerek belirlenmiştir (veri verilmemiştir).

RAPD Analizi Yapılması

Toplam 9 primer kullanılmıştır. PCR solusyonu her bir örnek için 0.2 ml'lik Eppendorf® tüp içerisinde 3.00 µl steril ddH₂O, 1.5 µl 10× Buffer Taq tampon, 1.5 µl MgCl₂, 2.0 µl dNTP, 1.2 µl BSA, 0.2 µl Taq DNA polymerase, her bir primerden 0.6 µl (Çizelge 2) ve 5.0 µl genomik DNA eklenmiştir. Örnekler PCR

cihazına (CI1000 Thermal Cycler™, Bio-Rad, Berkeley, CA, USA) yerleştirilmiştir. PCR cihazında kullanılan program: 94°C 5 dakika başlangıç denatürasyonu ve 94°C 30 saniye, 35°C 30 saniye, 72°C 1 dakika olmak üzere 34 döngü, döngü sonunda 72°C 5 dakika son uzama Welsh ve McClelland (1990) ve Williams ve ark. (1990)'dan değiştirilerek yapılmıştır.

Çizelge 2. RAPD analizlerinde kullanılan rastgele primerler ve baz dizilimi

No	Primer	Baz Dizilimi
1	PM1	5'-GTACCGGTCC-3'
2	PM2	5'-GTACCGGTTCG-3'
3	PM3	5'-GTACCGGTCA-3'
4	PM4	5'-GTACCGGTCT-3'
5	PM5	5'-GTACCGGTGC-3'
6	PM6	5'-GTACCGGTAC-3'
7	PM7	5'-GTACCGGTTC-3'
8	PM8	5'-GTACCGGCC-3'
9	PM9	5'-GTACCGGCC-3'

Jel Elektroforezi

PCR örnekleri %1.8'lik agaroz jelde (1.8 g agaroz Biomax, Selangor, Malaysia, 100 ml 0.5×TBE) yürütülmüştür. Örneklerin içerisine 2 µl 6× yükleme boyası eklenmiştir. PCR ürünleri jelin kuyucuklarına 2 µl 6× yükleme boyası + 15 µl PCR ürünü 0.2 ml'lik tüp içerisinde karıştırılarak tüpten 10 µl karışım alınıp jelin kuyucuklarına pipetlenmiştir. Agaroz jel 150 V, 200 mA, 20–40 dakika süresince yürütülmüştür. Jel EasyVision® ile boyanmıştır. Jel UV ışık (Infinity VX2, Vilber Lourmat, Marne-la-Vallée, Cedex, France) ile fotoğraflanmıştır.

Verilerin Analizi

Jelde gözlenen bantlar var (1), yok (0) şeklinde sayılarak kayıt edilmiştir. Üç yapraklı portakal anacının mikoriza ve solucan gübresi uygulamaları denemesi tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Bitki morfolojik ölçümlerindeki yüzde değerler Arcsin transformasyonu yapılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklılık LSD 0.05 seviyesinde değerlendirilmiştir. PCR analizi ve jel yürütülmesi iki kez tekrar edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Üç Yapraklı Portakal Anacında Yapılan Çalışmalar

Üç yapraklı portakal anaçlarının denemenin başlangıcındaki gövde çap değerleri 5.00–6.00 mm arasındadır. 02.07.2013 tarihinde aşılardan önce 4 grupta yapılan üç yapraklı portakal anacının boy, çap ve yan dal sayısı ölçümleri yapılmıştır (Çizelge 3). Boy bakımından en yüksek değeri rakamsal olarak kontrol grubu verirken, istatistiki olarak mikoriza ve mikoriza+solucan gübresi ile aynı grupta yer almıştır. Gövde çapı bakımından en yüksek değeri rakamsal olarak mikoriza grubu göstermesine rağmen saksı harcı ortamları arasında istatistiki yönden farklılık yoktur. Yan dal sayısı bakımından en yüksek değer solucan gübrelili grupta gözlenmesine rağmen, saksı harcı ortamları arasında istatistiki yönden fark görülmemiştir.

Çizelge 3. Üç yapraklı portakal anacında 02.07.2013 tarihinde aşılardan önceki boy (cm), gövde çapı (mm), yan dal sayısı (adet) verileri

Uygulama	Boy (cm)	Çap (mm)	Yan Dal Sayısı (adet)
Kontrol	43.64a	6.56	4.03
Mikoriza	42.55a	7.01	4.03
Solucan Gübresi	36.95 b	6.72	4.30
Mikoriza + Solucan Gübresi	40.77ab	6.79	3.80
Ortalama	40.97	6.77	4.04
LSD 0.05	4.42	ö.d.	ö.d.

Yapılan bir çalışmada, mikoriza ve fosfor gübresinin uygulandığı turunç anacında bitki boyunun azaldığı, mikorizasyız fosfor gübre uygulamasında bitki boyunun arttığı gözlenmiştir. Turunçgil fidanlarının köklerine dikim sırasında uygulanırsa mikoriza inokulumu hem daha az gübre uygulamamızı hem de bitkinin yaşamı süresince mikoriza ile ilişkisi sayesinde çevre faktörlerine karşı daha dayanıklı olacağı tespit edilmiştir (Ortakçı, 1999).

Aşı Tutma Oranı

05.07.2013 tarihinde üç yapraklı portakal anacı üzerine aşılardan 0, 15, 30, 45, 60 gray dozlarında ⁶⁰Co gama ışını uygulanmış Nagami kamkatı aşı kalemlerinin 26.07.2013 tarihinde tutma oranları hesaplanmıştır (Çizelge 4). Toplam 248 bitkiden 48 tanesinde aşı tutmuştur. Doz oranı olarak bakıldığında, tutan aşı sayısı 15 gray'de daha fazla bulunmuştur. En az 60 gray'de tespit edilmiştir. Ayrıca aşı tutma oranları; kontrol, mikoriza, mikoriza+solucan gübre, solucan gübre gruplarının içerisinde de değerlendirme yapılmıştır. Her gruptaki 60 adet bitkiden çoktan aza doğru sırasıyla kontrol grubunda %37.5, mikorizalı grupta %32.5, solucan gübresi+mikoriza grubunda %27.5, solucan gübresi grubunda %22.5 oranında aşı tutmuştur. 12.09.2013 tarihinde aşı tutmayan 0 gray dozundaki 19 bitki tekrar aşılanmıştır ve 20 gün sonra bakıldığında hiçbirinin tutmadığı gözlenmiştir. Aşılardan meyve tutumuna kadar geçen zamanda hayatta kalan bitki sayısı 30'a düşmüştür. Bu şekilde M₁V₁ bitkileri elde edilmiştir.

Aşı Sürgünlerine Ait Ölçümler

06.12.2013 tarihinde 0, 15, 30, 45, 60 gray dozlarına ait bitkilerde tutan aşılarıdaki sürgün boyu, gövde çapı ve yaprak

Çizelge 4. 12.12.2012 tarihinde kontrol, mikoriza, solucan gübresi, mikoriza+solucan gübresi uygulanan, 05.07.2013 tarihinde T göz aşı ile aşılanan Nagami kamkatının 26.07.2013 tarihindeki aşı canlılığı (%)

Doz (Gy)	K	M	SG	M+SG	Ort.
0	25.0	25.0	12.5	37.5	25.0
15	62.5	62.5	25.0	25.0	43.8
30	50.0	37.5	37.5	37.5	40.6
45	50.0	0.0	25.0	12.5	21.9
60	0.0	37.5	12.5	25.0	18.8
Ort.	37.5	32.5	22.5	27.5	30.0
LSD 0.05	ö.d.				

K: kontrol, M: mikoriza, SG: solucan gübresi, M+SG: mikoriza+solucan gübresi

Çizelge 5. Kamkat aşı sürgünlerine ait boy, gövde çapı, yaprak sayısı değerleri

Doz (Gy)	Boy (cm)		Çap (mm)		Yaprak sayısı (adet)	
	06.12.2013	02.11.2014	06.12.2013	02.11.2014	06.12.2013	02.11.2014
0	11.16	39.02	2.44	5.00	14	47
15	9.94	29.11	2.40	5.57	15	41
30	10.31	21.71	1.91	4.78	9	26
45	9.60	20.98	2.41	4.78	11	26
60	11.54	34.43	2.14	5.72	13	44
Ort.	10.51	29.05	2.26	5.17	12	37

Çizelge 6. Yaprakların klorofil miktarları

Doz (Gy)	Klorofil (üst yüzey)	Klorofil (alt yüzey)
0	0.6735	0.4224
15	0.6450	0.4116
30	0.6254	0.4003
45	0.6500	0.4199
60	0.6436	0.4104
Ort.	0.6475	0.4129
LSD 0.05	ö.d.	ö.d.

Çizelge 7. Meyve sayısı ve meyve çapı değerleri

Doz (Gy)	Meyve sayısı (adet)	Meyve çapı (mm)
0	3.00	18.99
15	4.56	18.73
30	3.25	18.10
45	5.50	18.00
60	2.40	16.20
Ort.	3.71	18.08
LSD 0.05	ö.d.	ö.d.

sayısı hesaplanmıştır (Çizelge 5). Aşı sürgünü boyu, 60 Gy'de, gövde çapı 0 Gy'de, yaprak sayısı 15 Gy'de yüksek tespit edilmiştir. Bitkilere uygulanan ⁶⁰Co dozları birbirine yakın değerler vermiştir. 02.11.2014 tarihinde yapılan aynı ölçümlerde boy ve yaprak sayısı bakımından en fazla 0 Gy 2. sırayı ise 60 Gy takip etmiştir. 15, 30, 45 Gy dozlarında sayıca ani düşmeler görülmüştür. Gövde çapının 60 Gy'de fazla olduğu belirlenmiştir (Çizelge 5).

Yaprak Klorofil Miktarı

17.12.2013 tarihinde her doz grubundaki klorofil değerleri Çizelge 6'da verilmiştir. Yaprak klorofil miktarları üst yüzeyde 0.6254–0.6735 ve alt yüzeyde 0.4003–0.4224 arasında değişmektedir. Yaprak üst ve alt yüzeyleri klorofil miktarı 0 Gy dozunda daha yüksek bulunmuştur.

Ling ve ark. (2008)'nin araştırmasında, Washington Navel'in tohumlarına 0, 10, 20, 30, 40, 50 Gy dozlarında ⁶⁰Co gama ışını uygulanmış ve hiç uygulama yapılmayan bitkilerde klorofil miktarı daha yüksek bulunmuştur.

Meyve Ölçümleri

02.11.2014 tarihinde meyve sayısı ve meyve çapı değerleri arasındaki farklılık istatistiki olarak (P=0.05) önemli değildir (Çizelge 7). Ancak rakamsal olarak, meyve sayısı 2.40 adet 60 Gy ile 5.50 adet 45 Gy arasında, meyve çapı ise 16.20 mm 60 Gy ile 18.99 mm 0 Gy arasında değişmiştir.

RAPD Analizi

29 adet bitkide 9 değişik tesadüfi nükleotid diziliminden oluşan 10'merlik (bazlık) RAPD primerlerinin kullanıldığı çalışmada toplam 14 adet bant elde edilmiş, bunların 4 adedi polimorfik bulunmuştur (Çizelge 8). Her primerden elde edilen bant profilleri ayrı olarak değerlendirilmiştir.

PM1, PM6 ve PM9 primerlerinde hiç bant oluşmamıştır. PM2 primeri toplam 3 bant oluşturmuştur. 11 bireyde hiç bant oluşmamıştır. PM2 primeri çalışmış ancak bant oluşturan bireylerde bant sırası farklılığı görülmediğinden polimorfizm göstermemiştir. PM3 primerinde 1 bant elde edilmiştir ve hiç polimorfizm gözlenmemiştir. PM4 primeri toplam 3 bant oluşturmuştur ve 4 ve 17 nolu 2 adet bireyde bant oluşturmamıştır. 12 nolu tahmini mutant bireyde (S-26-45) polimorfik bant sayısı 1 olarak bulunmuştur. PM5 primerine bakıldığında toplam bant sayısı 4'tür. Diğer bireylerde 4 adet bant bulunurken 12 nolu bireyde (S-26-45) 1 adet bant bulundurmamıştır ve polimorfizm göstermiştir. PM7 primerinde toplam bant sayısı 3 bulunmuş ve 1 bireyde hiç bant oluşmamıştır. Tahmini mutant 12 nolu bireyde (S-26-45) 2 adet polimorfik bant bulunmuştur. PM8 primerinde toplam bant sayısı 1'dir ve 2 bireyde hiç bant oluşmamıştır. Polimorfizm göstermemiştir.

SONUÇ

Yüksek plastik tünel şartlarında 4 farklı saksı harç ortamına (kontrol, mikoriza, solucan gübresi, mikoriza+solucan gübresi) dikilen üç yapraklı portakal anacının bu ortamlardaki boy ve gövde çap gelişimi incelenmiştir. Aralarında belirgin fark gözlenmemekle beraber boy bakımından kontrol grubu yüksek bulunurken, gövde çapı açısından mikorizalı grup öne çıkmıştır.

Çizelge 8. PCR amplifikasyonları sonucu elde edilen toplam bant sayısı (adet), polimorfik bant sayısı (adet), bant büyüklüğü (bp)

Primer	Elde edilen toplam bant sayısı	Polimorfik bant sayısı	Yaklaşık bant büyüklüğü (bp)
PM1	0	0	–
PM2	3	0	200–400
PM3	1	0	100–200
PM4	3	1	100–400
PM5	4	1	100–300
PM6	0	0	–
PM7	3	2	200–400
PM8	1	0	100–400
PM9	0	0	–
Toplam	14	4	

Üç yapraklı portakal anacı üzerine 0, 15, 30, 45, 60 Gy dozlarına tabi tutulmuş Nagami aşı kalemlerinden alınan gözlerin T göz aşı şeklinde aşılmasında aşı tutma oranı düşük olmuştur. Tutma oranını etkileyen nedenlerin; yüksek plastik tünel şartlarında büyüme ve gelişme için gerekli yeterli ortamın (sıcaklık ve nemin) sağlanamaması, Nagami kamkatı için ideal anacın üç yapraklı portakal olmaması, asimilat maddelerinin yeterince köke ulaşmaması sonucu anacın zayıf ve cılız kalması olduğu düşünülebilir.

Kaynak araştırması sonucunda Nagami kamkatı çeşidinde uygulanan, farklı gama ışını dozlarının anaç ve aşılı fidan gelişimi üzerine etkilerinin belirlendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fidanın morfolojik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla aşı tutma oranı, aşı sürgünü boyu, gövde çapı, yaprak sayısı, yaprak klorofil miktarı, meyve çapı, meyve sayısı incelenmiştir.

Nagami kamkatının gama dozlarına verdiği tepkideki aşı tutma oranı %43.8 (15 Gy) ile %18.8 (60 Gy) arasında değişmiş ve dozlar arasında önemli morfolojik farklılık görülmemiştir.

Yaprak klorofil miktarı hiç gama ışını uygulanmayanlarda daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen bulgular RAPD-PCR tekniğinin mutant bireylerin ayırımında başarılı olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Ayrıca daha fazla primer kullanılması halinde, daha yüksek oranda polimorfizm elde edilebilecektir.

RAPD analizlerinde elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, mutant adayı bireylerde, RAPD polimorfizminin düşük düzeyde ortaya çıkmasının aşağıdaki nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir:

- Mutasyon genom içerisinde oldukça küçük bir alanda meydana gelmiş olabilir (nokta mutasyonu).
- Belirli morfolojik özelliği kodlayan gen bölgesinde amplifiye edilen alan oldukça küçük olabilir.

Bu çalışma ile ⁶⁰Co gama ışını uygulanan Nagami kamkatının aşı gözlerinden elde edilen 12 nolu bireyin (S-26-45) diğer bireylerden farklı olduğu RAPD primerleri ile belirlenmiştir. Gelecekte ⁶⁰Co gama ışını ile yapılacak çalışmalarla Nagami kamkatı meyvesindeki tohumların da yok edilebilmesi veya en aza indirilmesi üzerinde çalışmalara devam edilebilir. Ayrıca aşı gözleri 60 Gy dozunda hayatta kalabiliyorsa daha yüksek dozlarda da hayatta kalabilme ihtimalinin değerlendirilmesine olanak sağlayabilecektir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma ADÜBAP ZRF13057 numaralı proje tarafından desteklenmiştir. Nagami kamkatı aşı kalemlerinin gama ışınlamasına imkan sağlayan Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Durmuş ETİZ'e teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Ahmad W, Farooqi WA, Sattar A (1992) Effect of gamma irradiation on the morphology of Kinnow seedlings. Proceedings of the 1st International Symposium on Citriculture Pakistan I: 163-168.
- Alós E, Roca M, Iglesias DJ, Minguez-Mosquera MI, Damasceno CMB, Thannhauser TW, Rose JKC, Talón M, Cercós M (2008) An evaluation of the basis and consequences of a stay-green mutation in the navel negra citrus mutant using transcriptomic and proteomic profiling and metabolite analysis. Plant Physiology 147: 1300-1315.

- Anonim (2012) Food and Agriculture Organisation, <http://www.fao.org> Erişim Tarihi: 01.05.2012
- Başer İ, Bilgin O, Korkut KZ, Balkan A (2007) Makarnalık buğdayda mutasyon ıslahı ile bazı kantitatif karakterlerin geliştirilmesi. Tarım Bilimleri Dergisi 13: 346-353.
- Çiftçi CY, Şenay A (2005) Makarnalık buğdayda (*Triticum durum* Desf.) gama ışını ve EMS'in farklı dozlarının ayrı ayrı ve birlikte uygulanmasının M2 bitkilerinde etkileri. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi 14: 41-49.
- Davies FS, Albrigo LG (2005) Turuncgiller (Çeviren: Z. Dalkılıç), Adnan Menderes Üniversitesi Yayın No: 22, Aydın, 272s.
- Değirmenci D (2006) Sultani Çekirdeksiz ve Kalecik Karası üzüm çeşitlerinde uyarılmış mutasyon etkilerinin sitolojik ve moleküler tanımlanması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Göçmen M, Polat İ, Çakır Ç (2003) Turuncgil türlerine uygun RAPDs markörlerin belirlenmesi. Derim 20: 43-47.
- Göçmez S (2013) Karasu kekinin vermikompost üretiminde kullanım olanakları. In: Tema Vakfı Ulusal Vermikültür Çalıştayı, 16 Nisan 2013, Ankara, 34-43.
- Gökçe M (2011) Tuzcu turuncgil koleksiyonunda bulunan portakal ve mandarin genotiplerinin morfolojik karakterizasyonu. Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi 26: 29-36.
- Gülşen O, Uzun A, Canan İ, Seday Ü, Cahıhoş R (2010) A new citrus linkage map based on SRAP, SSR, ISSR, POGP, RGA and RAPD markers. Euphytica 173: 265-277.
- Gulsen O, Uzun A, Pala H, Canihos E, Kafa G (2007) Development of seedless and Mal Secco tolerant mutant lemons through budwood irradiation. Scientia Horticulturae 112: 184-190.
- Hocagil MM (2012) Kamkat Yetiştiriciliği. (www.alata.gov.tr), Erişim Tarihi: 01.10.2013.
- Kara H (2013) Organik tarım ve çevre koruma açısından; solucan kültürü ve kompostunun değerlendirilmesi. Tema Vakfı Ulusal Vermikültür Çalıştayı, 16 Nisan 2013, Ankara, 46-70.
- Khalil SA, Sattar A, Zamir R (2011) Development of sparse-seeded mutant Kinnow (*Citrus reticulata* Blanco) through budwood irradiation. African Journal of Biotechnology 10: 14562-14565.
- Kunter B, Kantaoğlu Y, Baş M, Burak M (2009) Mutasyon ıslahıyla kirazda yeni tiplerin geliştirilmesi. X. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, 6-9 Ekim 2009, Muğla, 321-332.
- Latado RR, Neto AT, Ando A, Iemma AF, Junior JP, Figueiredo JO, Pio RM, Machado MA, Namekata T, Ceravolo L, Rossi AC (2001) Mutantes de laranja- 'Pera' com numero reduzido de sementes, obtidos atraves de mutações induzidas. [Sweet orange 'Pera' mutants with low number of seeds obtained through mutation induction] Revista Brasileira de Fruticultura 23: 339-344.
- Ling APK, Chia JY, Hussein S, Harun AR (2008) Physiological responses of Citrus sinensis to gamma irradiation. World Applied Sciences Journal 5: 12-19.
- Machado MA, Coletta Filho HD, Targon MLPN, Pompeu Jr. J (1996) Genetic relationship of Mediterranean mandarins (*C. deliciosa* Tenore) using RAPD markers. Euphytica 92: 321-326.
- Ollitrault P (1992) Research of seedless 'Willowleaf' mandarin (*Citrus deliciosa*) by in vitro gamma irradiation of nucellar calli. Proceedings of the International Society for Citriculture 1: 113-116.

- Ortakçı D (1999) Değişik mikoriza türlerinin turunç bitkisinde fosfor ve çinko alımına olan etkilerinin araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- Ortaş İ (1998) Toprak ve Bitkide Mikoriza. Workshop, Çukurova Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü, 20-22 Mayıs 1998, Adana 61 s.
- Seday Ü, Eti S (2011) Seleksiyonla elde edilen bazı Klemantin mandarin tiplerinde 4 farklı tozlayıcıların meyve tutumu ve büyümesi üzerine etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi 25: 172-179.
- Şimşek Ö (2009) Bazı turunçgil alanlarında demir (Fe) klorozuna dayanıklılıkta sorumlu genlerin SSCP markörleriyle allelik çeşitliliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Spiegel-Roy P, Vardi A, Yaniv Y, Fanberstein L, Elhanati A, Carmi N (2007) 'Ayelet' and 'Galya': new seedless lemon cultivars. HortScience 42: 1723-1724.
- Taştekin E, Dalkılıç Z (2008) Turunç (*Citrus aurantium* L.) ve kaba limon (*Citrus jambhiri* Lush.) çöğürlerinde mikoriza ve fosfor uygulamasının fidan gelişimi üzerine etkileri. ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 5: 61-73.
- Uzun A, Gulsen O, Kafa G, Seday U (2008) 'Alata', 'Gulsen', and 'Uzun' seedless lemons and 'Eylül' early-maturing lemon. HortScience 43: 1920-1921.
- Vardi A, Levin I, Carmi N (2008) Induction of seedlessness in citrus: from classical techniques to emerging biotechnological approaches. Journal of the American Society for Horticultural Science 133: 117-126.
- Varol İ (2007) Bazı turunçgil türlerinde embriyogenik kallusların *in vitro* muhafazası ve genetik kararlılıklarının RAPD markörleri ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Welsh J, McClelland M (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. Nucleic Acids Res. 18: 7213-7218.
- Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18: 6531-6535.
- Yeşiloğlu T, Tuzcu Ö, Onus N, Şeker M, Yıldırım B, Göksel Ç, Açıkalın E (2002) Turunçgil cins tür ve akrabalarının RAPD markerleriyle tanılanması. TARP-2010 nolu TÜBİTAK Projesi Sonuç Raporu, Ankara.