

**BAZI KEÇİBOYNUZU(*Ceratonia siliqua* L.)
GENOTİPLERİNİN SSRs (BASİT
DİZİ TEKRARLARI)'A DAYALI
GENETİK KARAKTERİZASYONU**

İlyas KARAHAH

Yüksek Lisans Tezi

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Meyve Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı

Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ

2014

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI KEÇİBOYNUZU(*Ceratonia siliqua* L.) GENOTİPLERİNİN
SSRs (BASİT DİZİ TEKRARLARI)'A DAYALI GENETİK
KARAKTERİZASYONU

İlyas KARAHAN

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
Meyve Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı

ERZURUM
2014

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

BAZI KEÇİBOYNUZU (*Ceratonia siliqua* L.) GENOTİPLERİNİN SSRs (BASİT SIRA TEKRARLARI)'A DAYALI GENETİK KARAKTERİZASYONU

Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ danışmanlığında, İlyas KARAHAN tarafından hazırlanan bu çalışma 22/12/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı – Meyve Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (3/3)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Güleray AĞAR

İmza :

Üye : Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Atilla DURSUN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 25/12/2014 tarih ve 51/1726 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU
Enstitü Müdürü

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI KEÇİBOYNUZU(*Ceratonia siliqua* L.) GENOTİPLERİNİN SSRs (BASİT DİZİ TEKRARLARI)'A DAYALI GENETİK KARAKTERİZASYONU

İlyas KARAHAN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Meyve Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ

Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua*), baklagiller (Fabaceae) familyasından olup Akdeniz ikliminin hüküm sürdüğü yerlerde doğal olarak yetişen ve baklaları (meyveleri) yenen, herdem yeşil çalı ya da ağaç formunda olan bir bitki türüdür. Bu çalışmada Hırvatistan, Türkiye ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden temin edilen 50 adet keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) genotipinin genetik ilişkileri araştırılmış ve tartışılmıştır. Çalışmada SSR (Simple Sequence Repeat) markırları kullanılmıştır. SSR analizlerinde keçiboynuzu genotipleri için geliştirilmiş toplam 5 SSR primeri çalışılmıştır. SSR analizleri için PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiş ve PCR ürünleri poliakrilamid jel elektroforezinde görüntülenmiştir. SSR analizleri sonucunda elde edilen toplam allel sayısı 16 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen 16 allelin tamamının polimorfik sonuçlar verdiği gözlenerek polimorfizm oranının %100 olduğu tespit edilmiştir. SSR analizleri sonucu oluşturulan dendrogram incelendiğinde, genotipler arasındaki genetik benzerlik oranının 0,46 ile 1,00 arasında değiştiği görülmüştür. Dendrogram iki ana gruba ayrılmış ve bu ana kolların birinde Adana-Kozan'dan temin edilen bir genotip ile ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyetinden elde edilen Kalkanlı 4 genotipi yer almıştır. Diğer ana kolda ise çalışmada kullanılan diğer tüm genotipler kümelenmiştir. Bu iki ana kolun birbirine olan yakınlığı yaklaşık olarak %46 oranında tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan değişik orjinli genotiplerin birbirinden tam olarak ayrılmadığı tespit edilmiştir.

2014, 35 sayfa

Anahtar Kelimeler: Keçiboynuzu, SSR, Moleküler karakterizasyon

ABSTRACT

Master Thesis

GENETIC CHARACTERIZATION OF SOME CAROB (*Ceratonia siliqua* L.) GENOTYPES BY USING SSRs (SIMPLE SEQUENCE REPEATS) MARKERS

İlyas KARAHAN

Ataturk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture
Fruit Cultivation and Breeding Department

Supervisor: Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ

Carob (*Ceratonia siliqua*) belongs to Fabaceae family is an evergreen shrub or tree naturally found in Mediterranean climate areas produced for its fruits. In the study, genetic relationships among 50 carob (*Ceratonia siliqua* L.) genotypes sampled from Turkey, Croatia and Turkish Republic of Northern Cyprus were investigated. In the study a total 5 SSR markers that developed specially for carob has been used. In SSR studies, PCR reactions done and PCR products has been visualized on polyacrylamide gel electrophoresis. According to SSR analyze results, a total 16 alleles were determined. All 16 alleles were found to be polymorphic and polymorphism ratio was 100% for all markers. A dendrogram was obtained based on SSR analysis and similarity ratio was between 0,46 and 1,00 among genotypes. On the dendrogram, the genotypes were placed on two main clusters, and one cluster included two genotypes sampled from Adana-Kozan and Turkish Republic of Northern Cyprus (Kalkanlı 4 genotype). The other cluster included the other 48 genotypes sampled from Turkey, Croatia and Turkish Republic of Northern Cyprus. The similarity ratio between two main clusters was 46%. The results also showed that there is no geographical isolation among countries in terms of carob genotypes used.

2014, 35 Pages

Keywords: Carob, SSR, Molecular Characterization

TEŞEKKÜR

Bu konuda bana çalışma olanağı veren, çalışmalarım esnasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Sezai ERCİŞLİ'ye; yüksek lisans dönemlerimde manevi desteğini her zaman gördüğüm çok değerli Hocam Sayın Prof. Dr. Şaban KORDALI'ye teşekkürlerimi sunarım.

Tez konumun belirlenmesinden bitimine kadar geçen süreç içinde her aşamada yardımlarını gördüğüm Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Hocam Sayın Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR'a sabır ve yardımlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim. Aynı Laboratuvarıda araştırmam süresince benimle birlikte çalışan, tüm bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Doktora Öğrencisi Sayın Özhan ŞİMŞEK'e teşekkürü borç bilirim.

Her türlü yardımlarını ve desteklerini yanımda gördüğüm Sayın Arş. Gör. Doğan TÜRKYILMAZ'a ve diğer bölüm arkadaşlarıma teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında maddi ve manevi desteğiyle her zaman yanımda olan, başta sevgili babam İdris KARAHAN'a ve çok değerli aileme en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

İlyas KARAHAN

Aralık, 2014

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
3. MATERYAL ve METOD.....	18
3.1. Bitkisel Materyal	18
3.2. DNA İzolasyonu.....	19
3.2.1. DNA izolasyonu için gerekli solüsyonların hazırlanması	19
3.2.2. DNA kalitesi ve kantitesinin belirlenmesi.....	21
3.3. SSR (Simple Sequence Repeats-Basit Dizi Tekrarları) Markörleri ile Moleküler Çalışmalar	21
3.3.1. SSR- PCR Koşulları	22
3.2.2. SSR Primerlerinin Belirlenmesi	22
3.3.3. Li-Cor için poliakrilamide jel hazırlığı	23
3.3.4. Li-cor elektroforez koşulları.....	23
3.4. Veri Analizi	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	26
5. SONUÇ	31
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	36

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
AG	: Ayırma Gücü
bç	: Baz çifti
CTAB	: Setil Trimetil amonyum bromit
dATP	: deoksi adenzin trifosfat
dCTP	: deoksi sitidin trifosfat
dGTP	: deoksi guanozin trifosfat
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dTTP	: deoksi timidin trifosfat
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
EST	: Esteraz
HCl	: Hidroklorik asit
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat
M	: Molar
MA	: Moleküler ağırlık
MDH	: Malat dehidrogenaz
MgCl ₂	: Magnezyum klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
Na ₂ S ₂ O ₅	: Sodyum metabisülfid
NaCl	: Sodyum klorür
ng	: Nanogram
PBDPBS	: Primer başına düşen polimorfik bant sayısı
PBDTBS	: Primer başına düşen toplam bant sayısı
PBI	: Polimorfizm Bilgi İçeriği
PBS	: Polimorfik bant sayısı
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PGM	: Fosfoglukomutaz

PO	: Polimorfizm oranı
PRO	: Peroksidaz
PVP	: Polivinilpirolidon
QTL	: Kantitatif özellik lokusu
RAPD	: Randomly Amplified Polymorphic DNA
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
rpm	: Revolutions per minute
SAMPL	: Selective amplification of microsatellite polymorphic loci
SSR	: Simple Sequence Repeat
Taq	: <i>Thermus aquaticus</i>
TBE	: Tris/borat/EDTA (tampon çözeltisi)
TBS	: Toplam bant sayısı
Tris	: Tris (hidroksil metil) aminometan
Tris-HCl	: Tris hidroklorür
UBC	: University of British Columbia
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average
UV	: Ultraviolet
λ DNA	: Lamda deoksiribonükleik asit
μ l	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Keçiboynuzu bitkisinin dünyada dağılım alanları	3
Şekil 1.2. Keçiboynuzu bitkisi	4
Şekil 1.3. Keçiboynuzu bitkisinin ağaç ve meyvesi	5
Şekil 1.4. Keçiboynuzu bitkisinin meyve ve tohumu	6
Şekil 3.1. A. poliakrilamide jelin döküleceği camlar B. poliakrilamide jelin dökülmesi C. jel polimerize olduktan sonra tarağın jel içerisine yerleştirilmesi D. yüklemenin yapılması	24
Şekil 3.2. 50-350 bp uzunluğundaki DNA marker (MWG Biotech AG, Ebersberg, Germany)	25
Şekil 4.1. SSR Analizleri sonucu oluşturulan dendrogram	27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Yıllar itibariyle ülkelere göre keçiboynuzu üretimi (Ton)	10
Çizelge 1.2. Türkiye’de yıllar itibariyle keçiboynuzu üretim miktarı (Ton)	10
Çizelge 1.3. Türkiye’de 2012-2013 yılları itibariyle keçiboynuzu üretimi yapılan önemli iller ve üretim miktarları	11
Çizelge 1.4. Yıllar itibariyle keçiboynuzu elde edilen alanların ülkelere göre dağılımı (ha).....	12
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan keçiboynuzu genotipleri ile alındıkları yerler.....	18
Çizelge 3.2. DNA izolasyon yönteminde kullanılan tampon çözeltisinin içeriği.....	20
Çizelge 3.3. SSR primerleri	23
Çizelge 4.1. SSR analizleri sonucunda elde edilen toplam DNA bant sayısı, polimorfik DNA bant sayısı ve polimorfizm oranı.....	26

1. GİRİŞ

İnsanlık var olduğundan beri, sayıları yaklaşık 6 000'i bulan ve ekonomik değeri olan bitki türlerini çeşitli amaçlarla beslenmede kullanmışlardır. Bununla birlikte bu türlerden çok azı temel gıda zincirinde yer almış ve temel bitkisel ürün olarak adlandırılmıştır (buğday, mısır, vb.). Diğer yandan gıda olarak kullanımı düşük olsa da, üretim miktarı ve coğrafik dağılımı sınırlı olan türler de gıda zincirine önemli katkılar sağlamışlardır (Chaudhury *et al.* 2014).

Dünya'da özellikle gelişmiş ülkelerde tarımsal araştırmalar geleneksel olarak temel bitkisel ürünler üzerinde yoğunlaşmış, özellikle az bilinen veya ihmal edilen diğer ürünlü bitkiler araştırmalarda oldukça ihmal edilmişler ve üretimleri doğal populasyonlarla sınırlı kalmıştır. Az bilinen ürünlü bitkiler bu ülkelerdeki yaygın ulusal ve uluslararası destek imkanlarından da mahrum bırakılmışlardır.

Birçok temel ürünlü bitkinin aksine, üretim ve araştırmada ihmal edilmiş bu türlerin çoğu oldukça marjinal yetiştirme alanlarında (yüksek rakımlı alanlar, kurak alanlar, tuzlu alanlar vb.) yaşam şansı bulmakta ve iklim değişikliği olgusuna karşı adeta bir emniyet subabı olarak karşımıza çıkmaktadırlar (Chen and Murato 2011). Üstelik, dünyada global olarak ihmal edilmiş olan türler aslında ulusal veya bölgesel bazda temel ürün olarak ta karşımıza çıkabilmektedir. Ülkemizde farklı bölgelerde yetiştirilen yenilebilir meyveler örneğin alıç, keçiboynuzu, muşmula, kuşburnu, karayemiş, kocayemiş, iğde bunlara örnek teşkil etmektedir. Bu türler ulusal veya bölgesel bazda gıda zinciri ve çeşitliliğine belirli periyotlar için önemli katkıları bulunmakta yada dengeli bir diyet oluşumunda çok önemli rol oynamaktadırlar.

Bu türlerin çeşitli bahçe bitkileri özellikleri ile ilgili araştırmaların eksikliği, ilgili türlerin gelişimi ve sürdürülebilir korunmasındaki eksiklikte en büyük pay sahibidir. Özellikle bu türlerin germplazmı ile ilgili sınırlı bilgi ve bu bilgi kaynaklarının da bilimsel çalışmalara dayanmaması, farklı yerel dillerde yazılması ve ayrıca bilgi

kaynaklarına kolayca ulaşılamaması, az bilinen türlerle ilgili önemli bir sınırlayıcı faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunlara ilave olarak, bu türlerin genetik çeşitliliği ile ilgili de bilgi eksikliği yaşanmaktadır. Bu durum ihmal edilen türler üzerinde koordineli yapılmayan çalışmaların yanı sıra, bu genetik kaynakların korunması için etkisiz yaklaşımların bir sonucu olarak da karşımıza çıkmaktadır (Ercisli 2004).

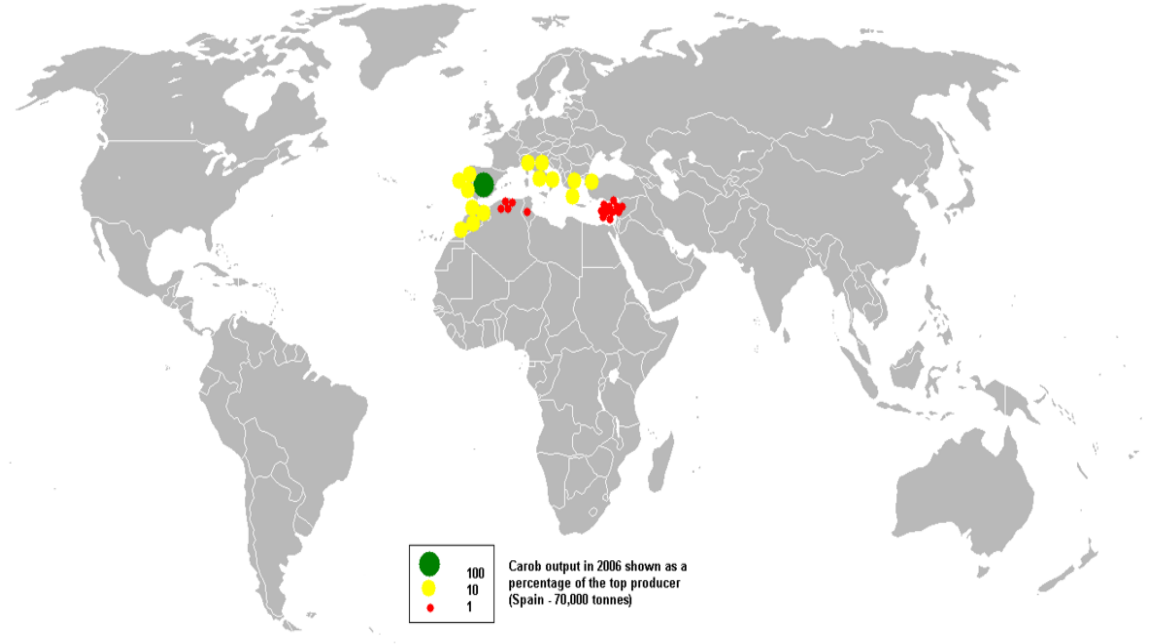
Az bilinen türlerin kullanımı ile ilgili kısıtlar ve olası çözümlerin belirlenmesi, yetiştiriciliği ve bitki ıslah programları için olası kullanılmayan genetik çeşitliliğin tanımlanması, koruma ve kullanım ile ilgili boşlukların tespiti bu bitkilerin gelişimi ve yaygınlaşmasında önemli katkılar sağlayacaktır.

Ülkemiz florasında mevcut olan ve ülkesel-bölgesel anlamda yüksek ekonomik değere sahip olan az bilinen meyve türlerinden birisi de keçiboynuzu'dur.

Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.), Akdeniz ikliminin hakim olduğu yerlerde, bu iklime bağlı olarak yayılış gösteren baklagiller (*Fabaceae*) familyasından maki formunun en tipik tanıtıcısı olan bir meyve türüdür. Son yüzyıllarda artan taşımacılık faaliyetleri ile birlikte dünyanın çok değişik yerlerinde de bu bitkiye rastlanmaktadır. Bu nedenle, Keçiboynuzu Güney Amerika kıtasında Şili'den Akdeniz'de yer alan Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyetine, Orta Amerika'da bulunan Meksika'dan Okyanusya kıtasında yer alan Avustralya'ya kadar Akdeniz iklimine benzer şartlar ihtiva eden yerlerde, maki formunu andıran türlerle birlikte görülmektedir. Bununla birlikte başta Batı Akdeniz olmak üzere Güney Afrika ve Kaliforniya'da ticari plantasyon benzeri bahçeler tahsis edilerek kültüre alınmaya başlanmıştır. Keçiboynuzu tarım, endüstri ve süs bitkisi olarak bu ülkelerde yetiştirilmektedir (Battle and Tous 1997).

Keçiboynuzu tarihi çağlardan beri Akdeniz bölgesinde genellikle fakir toprakları içeren kurak alanlar da yetişmektedir. Yunan uygarlığı döneminde değeri anlaşılmış ve doğal yetişme alanı olan Orta Doğu'dan Yunanistan ve İtalya'ya taşınmışlardır. Daha sonra Araplar tarafından Kuzey Afrika sahili boyunca yaygınlaştırılmış ve yaygınlaştırma Portekiz ve İspanya'yı da içerisine almıştır. Daha sonra Akdeniz iklimine benzer

özellikler taşıyan Kaliforniya, Arizona, Meksika, Şili ve Arjantin'e İspanyol kolonistler tarafından taşınmıştır. Avustralya kıtasına Akdenizli göçmenler tarafından, Güney Afrika ve Hindistan'a ise İngiliz misyonerler tarafından götürülmüştür (Battle and Tous 1997).



Şekil 1.1. Keçiboynuzu bitkisinin dünyada dağılım alanları (Anonymous 2014a).



Şekil 1.2. Keçiboynuzu bitkisi (Anonymous 2014a).

Geniş taçlı yapıya sahip keçiboynuzu ağaçları, Akdeniz ikliminin sert koşullarına uyum sağlayacak şekilde herdem yeşil, sert ve tüylü yaprak yapısına sahiptir. Herdem yeşil olan yapraklarının uzunluğu tiplere ve ekolojiye göre değişmekle birlikte 30-50 mm dolayında olup; ağacın yeşil, küçük çiçekleri vardır ve bu çiçekler 50-60'lı gruplar halinde salkımlar oluşturmaktadır.

Meyveleri başlangıçta parlak yeşil olup olgunlaştıkça kahverengine dönüşen köseleye benzer bir yapı sergiler. Yabani tiplerin meyveleri ince ve mat olup, kültüre alınmış tiplerde yapraklar parlak, daha uzun ve siyaha yakın bir renk almaya başlar. Meyveleri kavisli, düz, sıkışık tohumlu olabilir, uzunlukları ise 10 ila 20 cm arasında değişim gösterir (Günel 1999).

Keçiboynuzu ağacının meyveleri, Haziran-Temmuz aylarına doğru olgunlaşmaya başlar ve hasat Eylül ayından Kasım ayının sonuna kadar devam eder. Meyvelerin uzun sopalarla vurarak toplanması ertesi yılın verimini büyük oranda etkiler. Zira zeytinde olduğu gibi sopalar vasıtasıyla meyveleri toplarken genç sürgün ve filizlerin de kırılması üretim miktarında yıllar arasında önemli ölçüde değişmelere sebebiyet verir. Keçiboynuzu 5-10 yaşlarında meyve vermeye başlarken, 15 yaşında da ticari olgunluğa erişir (Özkaya ve Tunalıoğlu 2003). Bitkinin bir özelliği de her geçen yıl meyve verimi ve kalitesinin artmasıdır (Alexander and Shepperd 1974). Bir keçiboynuzu ağacının ömrü 300 ila 400 yıl kadar olup, yıllık ortalama verimi 90-115 kg arasında değişmekte, bitkinin içinde bulunduğu iklim ve toprak koşullarına bağlı olarak bu değer 300 kg'a kadar çıkabilmektedir (Ghrabi 2005).



Şekil 1.3. Keçiboynuzu bitkisinin ağaç ve meyvesi (Davidson 2013).



Şekil 1.4. Keşiboynuzu bitkisinin meyve ve tohumu (Davidson 2013).

Dünya uygarlıklarının beşiği olan Akdeniz havzası aynı zamanda pek çok bitkinin ilk olarak kültüre alındığı bir yerdir. M.Ö. 4000-5000 yıllarından beri bilindiği saptanan ve ilk olarak Mısır'da kullanılmaya başlandığı tahmin edilen keşiboynuzu insanlık tarihinde adından sıkça söz ettirmiş bir bitkidir (Demirtaş 2007). Çok uzun bir kültürel geçmişe sahip olan keşiboynuzu, bugün de çok çeşitli kullanım alanlarıyla ekonomik açıdan önemini korumaktadır. Meyvesinden, kabuğundan ve çekirdeklerinden ayrı ayrı yararlanılan keşiboynuzunun farklı ülkelerin geleneksel ürünlerinde olduğu gibi birtakım endüstri kollarında da tüketimi söz konusudur.

Keşiboynuzu'nun yıllık ortalama sıcaklık isteği ortalama 24°C olup, özellikle 30-45°C arasında en iyi gelişimi sergilemektedir. Bugün için keşiboynuzunun yayılış gösterdiği alanların genelinde yıllık ortalama sıcaklık 20°C'nin altına düşmemektedir. Kuzey yarım kürede, meyvenin olgunlaşmaya başlaması (Haziran-Temmuz) aylarında ve sıcaklıkların ortalama 26-35°C olmakta, güney yarım küresinde ise aynı durum (Ocak-Şubat) aylarında ve 29-30°C'de gerçekleşmektedir (Grados and Cruz 1996; Günal

1999). Bitki dona karşı oldukça duyarlıdır ve bu durum verime yansımaktadır. Sıcaklık ve ışık isteği yüksek olan bitkinin meyvesi, ideal sıcaklık koşullarına kavuştuğu yerlerde o derece iyi kaliteye sahip olmaktadır. Bu kapsamda, Türkiye’de kuzeye doğru gidildikçe İzmir civarında çalı formunu almakta (Günel 1999), Hırvatistan’ın Adriyatik kıyılarından uzaklaştıkça ise meyveler küçülmektedir. Keçiboynuzu yüksek sıcaklıklara karşı toleranslıdır. Bitki, kuraklığa karşı oldukça dayanıklı olup, oldukça derinlere inen (20-25 m) kök sistemine sahiptir. Bu sayede şiddetli kuraklıkların yaşandığı dönemlerde bile meyve verebilmektedir. Yıllık ortalama su isteği bakımından 500-600 mm yağış ideal olmakla birlikte 100 mm’lik yağışlarla da idare edebilmektedir (Grados and Cruz 1996; Demirtaş 2007). Türkiye’de çeşitli merkezlerden alınan 2008 yılına ait iklim verilerine baktığımızda ortalama yıllık yağış değeri Anamur’da 907 6 mm, Gazipaşa’da 832 8 mm, Finike’de 872 mm, Silifke’de 549 mm ve Köyceğiz’de 1 061 mm’yi bulmaktadır. Keçiboynuzu mineral bakımından zengin topraklardan hoşlanmaz; fakir topraklar bitkinin gelişmesi için ideal olup, nötr, asit düzeyi düşük ve hafif bünyeli topraklar bu bakımdan oldukça uygundur. Nemli toprakları da sevmeyen bitki, çoğunlukla tuzlu, kumlu ve alüvyal topraklardan hoşlanır. Bilindiği üzere, Akdeniz Bölgesi’nde geniş bir yayılıma sahip olan terra-rossa tipi topraklar bu bitkinin gelişmesi için en uygun zemini oluştururlar. Yine, çeşitli etkenler nedeniyle yıkanmaya bağlı olarak kireçten arınan kırmızı toprakları seven keçiboynuzu rendzinalar ve regosol topraklar üzerinde de gelişebilmektedirler. Keçiboynuzunun ışık isteğinin yüksek olması, bulutlu gün sayısının az olmasına bağlıdır. Bunu bağlı olarak su ihtiyacını karşıladığı yağışlı günlerin kısalığı ise oldukça önemlidir. Nitekim yağışlı gün sayısı, Mersin’de 72.2, Antalya’da 77.3, Muğla’da 96.3 ve Adana’da 81.6 gün olarak belirlenmiştir.

Keçiboynuzunun anavatanı hakkında kesin bir bilgi olmamakla birlikte çoğu araştırmacı tarafından Akdeniz havzasının doğusu işaret edilmektedir. De Candolle (1883) ve Vavilov (1951) Türkiye ve Suriye’yi bitkinin anavatanı olarak nitelendirmişler; Schweinfurth (1894) bitkinin Yemen’in yüksek yaylalarından dünyaya yayıldığını belirtmiş; Zohary (1996) ise delice, defne ve mersin gibi türlerle birlikte alanı daha da genişleterek tüm Arap Yarımadasını merkez olarak addetmiştir. Tüm bu görüşlerle

birlikte bugünde başta Türkiye olmak üzere bitkinin yabancı türlerinin sıklıkla karşımıza çıktığı yerleri esas ekolojik alanı olarak nitelendirebilir. Türkiye, Kıbrıs adasının tamamı, Suriye, Lübnan, İsrail, Mısır, Ürdün'ün güneyi keçiboynuzunun asıl yayılım alanı içerisinde değerlendirilebilmektedir. Bununla birlikte bugün tüm Kuzey Afrika boyunca yayılım gösteren keçiboynuzu Tunus, Libya ve Cezayir'in kuzeyi ile Fas'ın kuzeyi ve Atlas okyanusu boyunca güneyine doğru olan sahaya Araplar tarafından getirilmiş ve bu bölgelere oldukça iyi uyum sağlamıştır.

Türkiye'deki yayılımına bakıldığında ise İzmir'de çalı formundaki keçiboynuzu Urla yarımadasından başlayarak tüm Ege ve Akdeniz sahil şeridi boyunca Erdemli'ye kadar devam eder, Toros Dağlarının güneye bakan yamaçları boyunca yer yer ormanlar oluşturarak yayılan bitki Hatay-Samandağ'a kadar uzanır. Türkiye'de en geniş yayılma alanı Antalya-Silifke ve Antalya-Alanya arasındaki kuşaktır. Kozan (Adana)'da 90 km'ye kadar iç kesimlere sokulduğu gözlenmiştir. Kızılçam (*Pinus brutia*), fıstıkçamı (*Pinus pinea*) ve Servi (*Cupressus sempervirens* var. *horizontalis*)'nin tahribi ve yer yer ortadan kalkması sonucu bunların yerlerini keçiboynuzu almaktadır. Suriye'de Ansariye Dağları'nın batıya bakan yamaçları boyunca yayılışına devam eden keçiboynuzu güneye doğru Lübnan ve İsrail'in kıyı kuşağı boyunca deniz düzeyi ile 300-400 m arasında Mısır'a kadar uzanır (Zohary 1996). Nadiren de olsa, Lübnan'da 700 m ye kadar çıkan keçiboynuzu Türkiye'de gelişimi için optimum koşulları bulmasından ötürü 800-1 000 m'ye kadar yükselebilmektedir (Günel 1999).

Akdeniz havzası dışındaki beşeri faaliyetler sonucundaki yayılımı ise daha lokaldır. Araplar tarafından Kuzey Afrika boyunca taşınan keçiboynuzu İspanya ve Portekiz'e oradan İtalya (özellikle Sicilya)'ya, Balear Adalarına, Hırvatistan ve Yunanistan'a kadar yayılma göstermiştir. İspanyol ve Portekizliler Amerika'nın keşfinin ardından gidip yerleştikleri Güney Amerika'ya keçiboynuzunu götürmüşlerdir. Bitki, özellikle Şili'nin merkezi kesimlerinde ve başkent Santiago'da uygun yetişme alanı bulmuş ve bugüne kadar ulaşmıştır. Bitki, aynı dönemlerde Yeni Dünya'nın çeşitli yerlerine götürülmüş, bunlardan Kaliforniya, Arizona, Meksika ile Arjantin'de uygun yetişme koşulları bulmuş ve bazı yerlerde bahçeler kurularak kültüre alınmıştır. İngilizler ise Hindistan,

Güney Afrika Cumhuriyeti ve Avustralya'ya keçiboynuzunu götürmüş ve bitki buralarda da uygun iklim ve toprak koşullarında yayılma olanağı yakalamıştır (Yıldız 1995).

Avustralya, Güney Afrika ve Hawaii ile birlikte Akdeniz iklimine benzer iklim koşullarının görüldüğü lokal bölgelerde “scrub, scrubland, brush” gibi adlarla anılan maki formasyonunu oluşturan türlere benzeyen bitkilerin oluşturduğu topluluklara rastlanmaktadır. Tür ve topluluklarına bağlı olarak bölgelere göre farklı adlarla da anılan bu birliklerle beraber keçiboynuzu da yayılma olanağı bulabilmektedir. Güney Afrika'nın batısı, Orta Şili ve Avustralya'nın güneybatısı tipik “Akdeniz scrub” (*Mediterranean scrublands*) alanı olarak bilinmektedir.

Maki formasyonunun karakteristik elemanı olan keçiboynuzu kızılçam (*Pinus brutia*), fıstıkçamı (*Pinus pinea*), Halep çamı (*Pinus halepensis*), Finike ardıcı (*Juniperus phoenica*) ve Servi (*Cupressus sempervirens* var. *horizontalis*)'nin ormanlar oluşturduğu yerlerde ağaççık formunda olup (3-4 m) bu türlerin tahrip edildiği alanlarda hakim duruma geçip 10-12 m'ye kadar boylanabilen ve yer yer ormanlar oluşturan bir görünüme sahiptir (Günel 1999).

Ekonomik açıdan dünyada keçiboynuzu üretiminin dağılışına baktığımızda en büyük üretici ve aynı zamanda ihracatçı konumundaki İspanya'da Valencia, Katalonya, Balear Adaları ve Murcia; Portekiz'de Algarve (%60'ı), Faro; İtalya'da Sicilya Adası, Apulia ve Campania; Fas'ta Fas, Marakeş ve Agadir; Avustralya'da Yeni Güney Galler ve Victoria'da; Güney Afrika'da batı kıyıları önemli üretim merkezleridir (Anonymous 2014b).

Çizelge 1.1. Yıllar itibariyle ülkelere göre keçiboynuzu üretimi (Ton) (Anonymous 2014b)

Ülkeler	2000	2005	2010	2011	2012
İspanya	93 863	59 900	56 286	38 380	40 000
İtalya	38 079	31 665	25 337	44 749	30 841
Portekiz	19 238	13 902	22 452	23 000	23 000
Yunanistan	20 192	14 815	15 105	20 901	22 000
Fas	18 356	25 000	20 000	20 500	20 500
Türkiye	14 000	12 000	14 000	14 172	14 218
Kıbrıs Adası	7 300	6 942	10 560	10 560	5 186
Cezayir	3 952	3 003	2 829	2 865	3 136
Tunus	1 000	1 000	858	860	855
Hırvatistan	572	413	400	553	500
İsrail	200	200	185	190	190
Toplam	236 229	193 830	168 012	166 730	161 708

Türkiye’de ekonomik anlamda keçiboynuzu üretimi 5 ilde yapılmaktadır. Bunlar 2013 yılı üretim miktarı bakımından sırasıyla Mersin (7 775 ton), Antalya (5 074 ton), Adana (1 098 ton), Muğla (242 ton) ve Burdur (72 ton) illeridir. 2013 yılı itibariyle Türkiye’de toplam 377 749 ağaçtan 299 925’u meyve verecek yaş grubunda olup aynı yıl 14 261 ton ürün elde edilmiştir. Ağaç başına verim ise 48 kg olarak gerçekleşmiştir (Anonim 2014).

Çizelge 1.2. Türkiye’de yıllar itibariyle keçiboynuzu üretim miktarı (Ton) (Anonim 2014)

Yıllar	Toplu Meyveliklerin Alanı (dekar)	Üretim (Ton)	Ağaç Başına Ortalama Verim (Kg)	Meyve Veren Yaşta Ağaç Sayısı	Meyve Vermeyen Yaşta Ağaç Sayısı	Toplam Ağaç Sayısı
2000	2 150	14 000	45	308 000	51 000	359 000
2005	3 040	12 000	43	282 000	58 000	340 000
2009	2 714	14 003	49	284 933	38 714	323 647
2010	3 323	14 172	55	256 855	48 457	305 312
2011	4 940	13 978	48	291 354	97 802	389 156
2012	5 449	14 166	45	311 889	77 783	389 672
2013	5 119	14 261	48	299 925	77 824	377 749

Çizelge 1.3. Türkiye’de 2012-2013 yılları itibariyle keçiboynuzu üretimi yapılan önemli iller ve üretim miktarları (Anonim 2014)

Yıl	İller	Toplu meyveliklerin alanı (dekar)	Üretim (ton)	Ağaç başına ortalama verim (kg)	Meyve veren yaşıta ağaç sayısı	Meyve vermeyen yaşıta ağaç sayısı	Toplam ağaç sayısı
2012	Mersin	2 645	7 631	56	136 402	19 072	82 006
	Antalya	282	4 930	45	109 102	17 825	126 927
	Adana	2 522	1 099	27	41 250	40 756	23 615
	Muğla	0	434	18	23 535	80	155 474
	Burdur	0	72	45	1 600	50	1 650
2013	Mersin	2 118	7 775	58	133 012	15 072	148 084
	Antalya	297	5 074	45	111 922	16 870	128 792
	Adana	2 704	1 098	27	41 250	45 606	86 856
	Muğla	0	242	20	12 141	226	12 367
	Burdur	0	72	45	1 600	50	1 650

Keçiboynuzu son derece sağlıklı ve kullanım alanı bir o kadar geniş bir ürün olmasına karşılık, dünya genelinde üretimi sürekli azalmaktadır (Anonymous 2014b). 1945 yılında 650 000 ton civarında olan üretim 1961’de 656 877 ton olarak gerçekleşmiş ve bu yıldan itibaren 2013 yılına kadar sürekli olarak azalmıştır. 2010 yılındaki 154 012 tonluk üretimin ardından yaklaşık %6’lık bir artışla 2011 yılında 162 558 tonluk bir üretim gerçekleşmiştir. Toplam üretimin yaklaşık %30’luk kısmı İspanya tarafından temin edilmiştir. İspanya tarih boyunca en büyük keçiboynuzu üreticisi olmuş buna rağmen ülkenin üretimi de her geçen yıl gerileme göstermiştir. 1970’te 299 600 tonluk üretimin ardından 1980’de 197 000 tona kadar gerileyen üretim 2012’te 161 708 ton olarak gerçekleşmiştir (Anonymous 2014b).

Modern anlamda özel bahçeler tesis edilmek suretiyle keçiboynuzu yetiştiriciliği yapılmaya başlansa da bu sahaların miktarı oldukça düşüktür. Üretimin büyük çoğunluğu doğal ortamdaki ağaçlardan temin edilmektedir. Üretimde olduğu gibi 2012 yılında keçiboynuzu elde edilen sahalarının genişliğinin de İspanya 43 000 hektarla ilk sırada yer almakta olup onu sırasıyla Portekiz (9 800 ha), Fas (9 750 ha), İtalya (5 672

ha) ve Yunanistan (5 600 ha) takip etmektedir. Türkiye ise 3 110 hektarla 6. sırada yer almaktadır (Anonymous 2014b).

Çizelge 1.4. Yıllar itibariyle keçiboynuzu elde edilen alanların ülkelere göre dağılımı (ha) (Anonymous 2014b)

Yıllar	2000	2005	2010	2011	2012
Ülkeler					
İspanya	66 981	61 600	46 243	43 883	43 000
Portekiz	5 213	4 415	9 033	9 800	9 800
Fas	11 000	12 000	9 700	9 750	9 750
İtalya	16 816	8 704	10 823	9 183	5 672
Yunanistan	9 762	4 861	5 769	5 284	5 600
Türkiye	3 080	2 820	2 570	2 910	3 110

İnsanların başta gıda olmak üzere temel ihtiyaçlarını karşılamasında vazgeçilmez bir yeri olan canlı kaynakların temeli biyolojik çeşitliliktir. Üretimi yapılan tüm tarım çeşitlerinin, yani kültüre alınmış bitki ve hayvan türlerinin, temeli doğada bulunan yabani akrabalarına dayanır.

Günümüzde de yeni çeşitler elde etmek veya mevcut olanları insanların ihtiyaçlarına göre iyileştirmek (ıslah etmek) için yabani türlerden yararlanılmaktadır.

Ekosistemler de yabani türlerin varlıklarını sürdürmesi, çeşitlenmesi ve yeni genetik özellikler kazanması için canlı ve cansız varlıkların birbirleriyle ve kendi içlerinde etkileşimleri sonucu, çevresel şartlara da bağlı olarak karmaşık ve her biri diğerinden farklı yapılar ve işlevler kazanmıştır.

Gıda ve tarım için önem taşıyan ve giderek azalan canlı kaynaklar, bu gün bir ülkenin sahip olabileceği önemli avantajlar arasında sayılmaktadır. Dünyanın tarım yapılabilecek nitelikteki alanları ve su kaynakları hızla kirlenmekte ve yok olmaktadır.

Bilim adamları yakın gelecekte insanların ciddi bir gıda sorunu ile karşı karşıya kalacağı görüşündedir.

Bu gelişmeler ışığında, ülkelerin sahip olduğu biyolojik çeşitlilik, özellikle genetik kaynaklar anlamında büyük bir güç durumuna gelmektedir.

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de meyve türlerine ait gen kaynaklarının belirlenmesi amacı ile koleksiyon oluşturma ve bunlar içerisinde daha üstün özellikli bireylerin seleksiyonuna yönelik çalışmalar uzun yıllardır yapılmaktadır.

Bitki gen kaynaklarımızın zenginliği kadar, tanımlanması ve korunması da büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda biyoteknolojide görülen hızlı gelişmeler, bitki genetik kaynaklarına ait çalışma alanlarının tümünde, özellikle genetik çeşitliliğin muhafazası, üretimi, yenilenmesi, karakterizasyonu, ıslah ve çeşit geliştirme gibi amaçlar doğrultusunda kullanımında doğrudan ve çok büyük katkılar sağlamıştır.

Genetik kaynaklar meyve ıslahı açısından önem taşıyan genleri içermektedir. Bu genlerin farklı kombinasyonları yapılacak olan bitki ıslahı çalışmaları için son derece önemli olan genetik çeşitliliğin oluşumunu sağlamaktadır.

Meyvecilikte seleksiyonla seçilen tiplerin birbiriyle akrabalık düzeyinin belirlenmesinde fenotipik gözlemler ve morfolojik ölçümler yeterli sonuçlar vermemektedir. Çünkü fenotipik özellikler üzerine çevre şartlarının önemli etkisi bulunmaktadır. Akrabalık düzeyinin belirlenmesinde son yıllarda genetik analizler başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Kafkas *et al.* 2005; Thomas *et al.* 2006; Ercisli *et al.* 2008; Kafkas *et al.* 2008; Halasz *et al.* 2010; Turkoglu *et al.* 2010).

Ülkemizde son yıllarda biyoteknoloji konusundaki çalışmalar hız kazanmakta ve önem arz etmektedir. Bitki genetik kaynakları ile ilgili çalışma alanlarında, özellikle genetik çeşitliliğin muhafazası, üretimi, yenilenmesi, karakterizasyonu, ıslah ve çeşit geliştirme

gibi amaçlar da gelişen biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması büyük katkı sağlamıştır (Tan vd. 2005).

Farklı yerlerden toplanıp getirilen ve değişik yöresel isimlere sahip belki de birbirinin aynı olan çeşitleri (sinonim) ayırmak zordur. Gen kaynaklarındaki genetik varyasyonu anlamada ve gen kaynaklarını tanımlamada moleküler markörler çok önemlidir. Özellikle koleksiyonda tekrarlanan bitkilerin tespiti ve çeşitlerin doğrulanması bakımından yararlıdır (Kaçar 2004).

Biyoteknoloji alanındaki gelişmeler son 20 yılda markörler konusunda da yeni bir çağ açmıştır. Öncelikle birbirinden ayrılabilir formları olan enzimlerin (izoenzimler) veya depo proteinlerinin markör olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur. Daha sonra DNA'nın kendisinin doğrudan olarak kullanılma fikri ortaya çıkmıştır. DNA markörleri, teorik olarak genomun her noktasını temsil etme yeteneğine sahiptirler ve sonsuz sayıdadırlar. Günümüzde moleküler DNA markörleri ile yapılan bağlantı haritaları birçok kültür bitkisi için geliştirilmiş olup, arzulanan genlerin doğrudan takibi ve seleksiyonu mümkün olmaktadır. Çevrenin baskısından bağımsız olan bu işlem genlerin kolayca takip edilebilen markörlerle bağlantı durumları incelenerek yapılabilmektedir. Moleküler DNA markörleri tekniklerinin bitki ıslahında kullanımı:

- 1) Arzulanan genlerin çeşitler veya türler arasındaki hareketini hızlandırmış,
- 2) Akraba yabancı türlerden yeni genlerin aktarılmasına izin vermiş,
- 3) Çok gen tarafından idare edilen karmaşık karakterlerin analizini mümkün kılmış,
- 4) Genlerin klonlanması çalışmalarını kolaylaştırarak hızlandırmış,
- 5) Birbiriyle çaprazlanamayan bitkiler arasındaki genetik ilişkileri açığa çıkarmıştır (Yıldırım ve Kandemir 2001).

Bu amaçla kullanılan metotlar dikkate alındığında; bunların genetik yapısının değişmeyen kalıp materyali DNA'yı baz alan teknikler olduğu görülmektedir. DNA markörler olarak adlandırılan bu teknikler ise genel olarak; RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple

Sequence Repeats), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SNP (Single Nucleotide Polymorphism) şeklinde gruplandırılmaktadır.

Bu çalışma da Hırvatistan, Türkiye ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden temin edilen keçiboynuzu genotipleri arasındaki genetik ilişki SSR markörleri kullanılarak araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Barracosa *et al.* (2008), Portekiz’de yürüttükleri bir çalışmada keçiboynuzu genotiplerini morfolojik ve moleküler markörler kullanarak karakterize etmeye çalışmışlardır. Morfolojik çalışmada genotipler 31 adet meyve ve tohum özellikleri göz önüne alınarak, moleküler çalışmada ise 68 genotip RAPD ve AFLP markörleri kullanılarak da moleküler olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan seçilmiş 18 adet RAPD primerlerinin 68 genotip üzerinde kullanılmasıyla toplam 235 adet fragment elde edilmiştir. Bu fragmentlerin boyutları 200 ile 2000 bp arasında değişmiş olup polimorfizm oranı %40 olarak elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan 4 adet seçilmiş AFLP enzim-primer kombinasyonu kullanılmış ve toplam 346 adet fragment elde edilmiş olup bu fragmentlerin 110 adeti polimorfik bulunmuştur. 4 AFLP enzim-primer kombinasyonu %31,8 oranında polimorfizm oluşturmuştur. Çalışmada RAPD ve AFLP’nin uygulanması sonucu oluşan soy ağaçları birbirleriyle benzerlik göstermiş ve ayrıca morfolojik özelliklerden yararlanılarak hazırlanan soy ağacı moleküler markörler ile elde edilen soy ağacı ile de benzerlik taşımıştır.

Konate *et al.* (2009), Fas’ta yetiştirilen 10 keçiboynuzu genotipi üzerinde yürüttükleri çalışmada genotipleri ISSR markörleri yardımıyla moleküler olarak karakterize etmeye çalışmışlardır. Çalışmada kullanılan 16 ISSR primeri toplam 176 bant oluşturmuş olup, polimorfizm oranı %77,27 olarak elde edilmiştir. Bütün primerler (F3 hariç) yüksek polimorfizm sağlamıştır. Çalışmada ISSR markörleri genotipleri coğrafik olarak da sınıflandırabilmiştir.

Konate *et al.* (2007), Fas’ta yaptıkları bir çalışmada 10 adet keçiboynuzu genotipini RAPD markörleriyle karakterize etmişlerdir. Çalışmada toplam 67 adet RAPD primeri kullanmışlar ve bunlardan 52 tanesi tekrarlanabilir bantlar oluşturmuştur. RAPD analizi genotipler arasında yüksek oranda genetik çeşitlilik olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca morfolojik değerlendirme sonucu oluşan dendogram RAPD markörleriyle oluşan dendogramdan tamamen farklılık göstermiştir. RAPD analizi genotipler arasında coğrafik izolasyon olmadığını da ortaya koymuştur.

La Malfa *et al.* (2014), İtalya’da yapılan bir çalışmada İtalya, Malta ve İspanya’dan toplanan 72 adet keçiboynuzu çeşidi EST-SSR markörleriyle değerlendirilmiştir. 20 markörden 9 tanesi polimorfizm oluşturmuş, lokus başına allel sayısı 2 ile 7 arasında değişmiş yine lokus başına genotip 3 ile 13 arasında değişmiştir. 9 EST-SSR markörü analiz edilen genotiplerin çoğunu birbirinden ayırt etmeyi başarmıştır. Ancak çalışmada bazı homonomi grupları da belirlenmiştir. Oluşturulan dendogramda üç ana kol oluşmuş ancak farklı ülkeleri genotipleri üç ana kola rastgele dağılmışlardır. Bununla birlikte bazı ülkelerde aynı coğrafik alanlarda alınan örneklerde ortaya çıkan yüksek genetik benzerlik bu genotiplerin vejetatif olarak çoğaltıldığını ortaya koymuştur.

Afif *et al.* (2008), Tunus’un farklı yerlerinde bulunan 10 adet keçiboynuzu popülasyonlarından örnekler alarak RAPD markörleriyle moleküler karakterizasyon çalışması yürütmüşlerdir. Popülasyonlar arasında oldukça yüksek oranda genetik çeşitlilik ortaya çıkmıştır. Rakımı yüksek yarı kurak koşullardan alınan örnekler arasında daha yüksek varyasyon elde edilmiştir. Çalışmada elde edilen dendogramda 2 ana grup ortaya çıkmıştır. İlk ana kolda ki genotipler kendi aralarında iki alt gruba ayrılmıştır. Birinci ana kol yüksek rakımdaki genotipleri ikinci ana kol ise alçak rakımdaki genotipleri içermiştir.

3. MATERİYAL ve METOD

3.1. Bitkisel Materyal

Tez çalışmasında kullanılan bitkisel materyaller Hırvatistan, Türkiye ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden temin edilen keçiboynuzu genotipleridir. Hırvatistan'dan temin edilen bitkisel materyaller direk olarak DNA izole edilmiş şekilde tarafımıza ulaştırılmıştır. Türkiye ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden temin edilen keçiboynuzu genotiplerine ait yapraklardan DNA izolasyonu tarafımızdan gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan bitkisel materyallere ait bilgiler Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan keçiboynuzu genotipleri ile alındıkları yerler

No	Genotip	Alındığı Ülke	No	Genotip	Alındığı Ülke
1	8ko	Hırvatistan	26	10pe	Hırvatistan
2	10-1ko	“	27	8pe	“
3	3pe	“	28	12pe	“
4	7po	“	29	3ko	“
5	9ko	“	30	10dr	“
6	10-2ko	“	31	1dr	“
7	13pe	“	32	10v	“
8	9pe	“	33	3v	“
9	1po	“	34	8br	“
10	1pe	“	35	16ko	“
11	8v	“	36	2du	“
12	18pe	“	37	7pe	“
13	14pe	“	38	Çayırova 1	KKTC
14	15ko	“	39	Çayırova 2	“
15	15pe	“	40	Çayırova 3	“

Çizelge 3.1. (devam)

16	5pe	Hırvatistan	41	Çayırova 5	KKTC
17	17pe	“	42	Çayırova 6	“
18	4pe	“	43	Kalkanlı 1	“
19	11pe	“	44	Kalkanlı 2	“
20	20pe	“	45	Kalkanlı 3	“
21	5ko	“	46	Kalkanlı 4	“
22	19ko	“	47	Kalkanlı 5	“
23	2pe	“	48	Adana	Türkiye
24	1du	“	49	Kozan (Adana)	“
25	6pe	“	50	Muğla	“

3.2. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için bitkisel materyallere ait yapraklar saf su altında yıkanmış, alüminyum folyo ile sarılmış ve ardından örnekler sıvı azot içerisine batırılmıştır. Her genotipe ait örnekler porselen havan içerisinde sıvı azot ile öğütülerek 0,1 g olacak şekilde 1,5 ml’lik santrifüj tüplerine yerleştirilmiştir.

3.2.1. DNA izolasyonu için gerekli solüsyonların hazırlanması

Bu çalışmada MiniPrep DNA izolasyon yöntemi kullanılmıştır (Dellaporta *et al.* 1983). DNA izolasyonu aşamasında kullanılan tampon çözeltinin içeriği Çizelge 3.2’de gösterilmiştir. İzolasyon sırasında ekstraksiyon tampon çözeltiler dışında kloroform:izoamilalkol (24:1 oranında), Tris-EDTA (Tris 1 M pH:8, EDTA: 0.5 M pH:8), RNase A (10 mg/ml) solüsyonu, izopropanol ve etil alkol (%99) kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. DNA izolasyon yönteminde kullanılan tampon çözeltisinin içeriği

Solüsyon	Konsantrasyon
CTAB	%2,0
NaCl (5 M)	1,4 M
EDTA (0,5 M) pH 8,0	0,2 M
TRIS-HCl (1 M) pH 8,0	0,1 M

DNA İzolasyon Aşamaları;

Hazırlanmış olan ekstraksiyon solüsyonundan her tüpe 396µl ve 4µl β-merkaptoetanol eklenmiştir.

- Bir pipet aracılığıyla tüpler homojenlik sağlanana kadar karıştırılmıştır. Daha sonra tüpler 65°C’de 20 dakika bekletilmiştir ve iki defa karıştırılmıştır.
- Her tüpe 400µl kloroform:izoamilalkol eklenmiş ve 15 dakika karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır.
- Tüpler 5 dakika 13 000 devirde santrifüj edilmiştir. Bekleme sırasında her örnek için yeni temiz bir santrifüj tüpü hazırlanıp etiketlenmiştir ve her birinin içine 400 µl soğuk (-20°C) izopropanol eklenmiştir.
- Santrifüj tamamlandığında tüplerin üst kısmındaki sıvı kısım steril pipet aracılığıyla 400 mikrolitre soğuk (-20°C) izopropanol içeren santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler dikkatli bir şekilde karıştırılarak 1 saat süreyle –20°C’de bekletilmiştir.
- Bir saatin ardından tüpler 5 dakika 13 000 devirde santrifüj edilmiştir.
- Süpernatant dikkatli bir şekilde dökülmüştür. Pelletin kuruması için tüpler ters bırakılarak bekletilmiştir (bu işlem 10-15 dakika sürebiliyor).
- Kuruyan Pellet 100 µl TE (Tris-EDTA) içerisinde çözölmüştür. Her tüpe 4 µl RNAase A eklenmiştir ve 15 dakika oda sıcaklığında tüpler bekletilmiştir.
- Her tüpe 500 µl soğuk EtOH (%100) (buzluktan çıkmış) eklenmiştir ve tüpler dikkatli bir şekilde karıştırılarak 1 saat süreyle –20°C’de bekletilmiştir.
- 5 dakika 13 000 devirde santrifüj edilmiştir.

- Süpernatant dikkatli bir şekilde dökülmüştür ve pelletin kuruması için tüpler ters çevirilmiştir (yaklaşık 10 dakika).
- Pellet 100 µl TE (Tris-EDTA) içerisinde çözülmüştür.
- Örnekler –20°C’de saklanmıştır.

3.2.2. DNA kalitesi ve kantitesinin belirlenmesi

İzolasyonu gerçekleştirilen DNA’ların kalitesi ve miktarları spektrofotometre ile (NanoDrop ND 100) ölçümler yapılarak belirlenmiştir.

3.3. SSR (Simple Sequence Repeats-Basit Dizi Tekrarları) Markörları ile Moleküler Çalışmalar

SSR markırları 1-4 arasında tekrarlanmakta olan nükleotid desenlerini içermektedir. Oluşan bu bölgeler “Mikrosatellit” olarak adlandırılmaktadır (Aka Kaçar 2001). Bu gruplar (AT)_n veya (GT)_n şeklinde gösterilebilmekte ve buradaki “n” ardışık tekrar sayısını işaret etmektedir (Yıldırım vd 2001). SSR, biyolojik çeşitliliğin tespit edilmesi çalışmalarında genetik haritalama ve kantitatif lokusların belirlenmesi çalışmalarında başvurulmuş moleküler markırlardan bir tanesidir (Ovesena *et al.* 2002). SSR yöntemine başvurulma sebepleri arasında yüksek oranda bilgi içermesi ve kodominant olmaları gelmektedir. Ayrıca, PCR yöntemiyle kolayca tespit edilebilmeleri tercih edilme nedenleri arasındadır. Yöntemin sınırlayıcı etkisi ise zaman alıcı ve fazla işgücü gerektirmesi ile bir türe ait yeni mikrosatellitlerin elde edilmesidir (Büyükcünal Bal 2003). SSR Analizlerinde ki aşamalar; DNA İzolasyonu, DNA Amplifikasyonu, Poliakrilamide Jel Elektroforez aşamaları şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. SSR- PCR Koşulları

Bitkisel materyallere ait DNA'lar ve sentetik olarak tasarlanan SSR primerleri ile PCR reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan PCR protokol ve PCR döngü koşulları aşağıda belirtilmiştir.

PCR reaksiyon koşulları;

Kullanılan Kimyasallar	Her örnek için kullanılan miktar (µl)
ddH ₂ O	5,00
PCR Master Mix 2X	8,00
MgCl ₂	0,50
M13 primer (Forward & Reverse)	0,50
F + R primer	1,00
DNA (5ng)	5,00
Toplam Hacim	20 µl

Toplam hacim: 20 µl olacak şekilde aşağıda verilen koşullarda reaksiyon gerçekleştirilmiştir.

PCR Döngü Programı

95°C 5dk	ön “ denaturation ”
95°C 1dk	DNA'nın çift iplikliğinin ayrılması “ denaturation ”
55°C 30sn	primer bağlanması “ annealing ”
72°C 1dk	yeni iplikğin yazılımı “ extension ”
35 döngü,	
72°C 6 dk	son yazılım
4°C ∞	

* Her primer için annealing sıcaklığı ayrı ayrı belirlenmiştir.

3.2.2. SSR Primerlerinin Belirlenmesi

Tez çalışmasında toplam olarak 5 farklı SSR primeri ile çalışılmış ve SSR primerlerine ait bilgiler Çizelge 3.3.'da sunulmuştur.

Çizelge 3.3. SSR primerleri

SSR Primer	Repeat	Sequence	
Cesi-21	(CTTT) ₇	F:	GGGGAAAACAACAAATATAGTTA
		R:	AGGAGATCGAGCGTATGCAG
Cesi-187	(AT) ₁₅	F:	ATACTGGGCGTTCTTTGCTT
		R:	ATTATCTCTTGCTTTGTGGTCCT
Cesi-1187	(AT) ₉	F:	TTCTCGTCGCCCAAAGT
		R:	CTCCCTCATCTCCTTCGTTG
Cesi-98	(GCT) ₆	F:	GCCACCACTTTGAAGGAAAGA
		R:	GCTAGAAGCAGGAGCAGGAG
Cesi-17	(TTA) ₇	F:	AAATGCAACAAAGATGACACG
		R:	GAAGAAAGCTCGGCCTCTG

3.3.3. Li-Cor için poliakrilamide jel hazırlığı

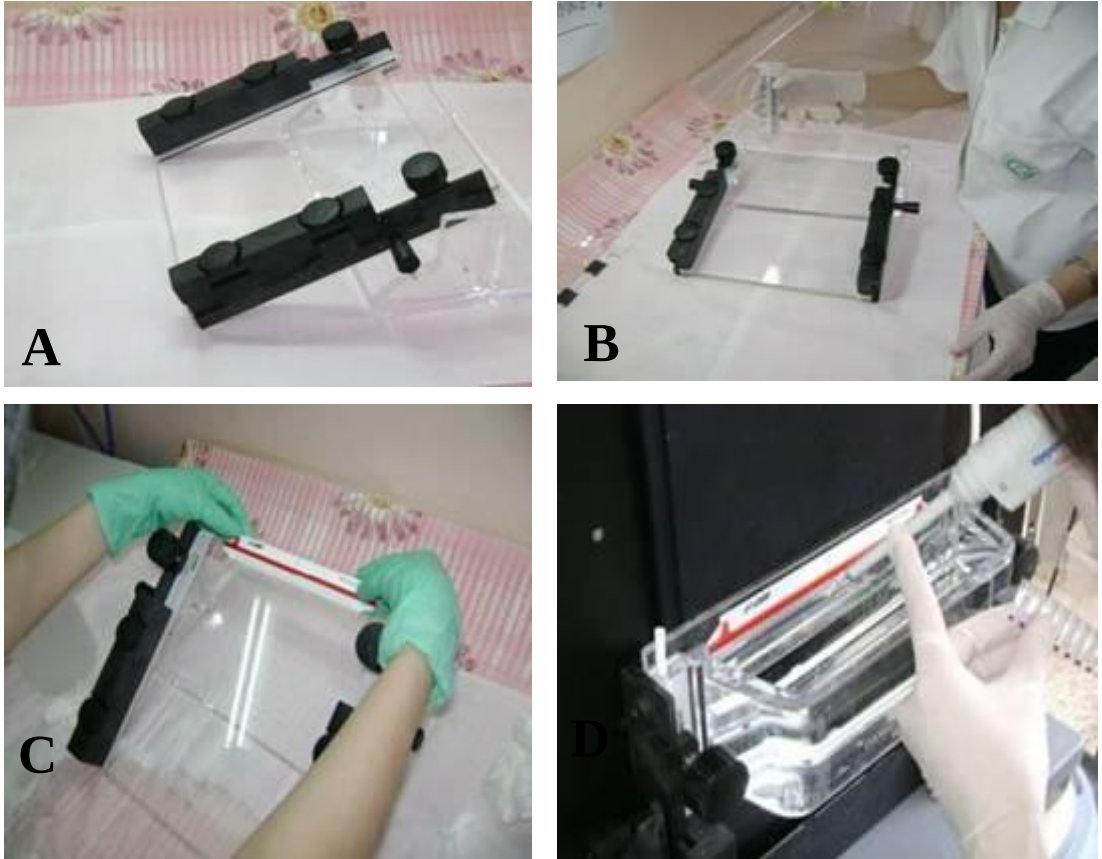
Laboratuvar çalışması sonucunda elde edilen PCR ürünlerini koşturmak amacıyla %6.5 poliakrilamide jel hazırlanmıştır. Bu jelin hazırlanması da kullanılan kimyasalların listesi ve kullanılan miktarları aşağıdaki gibidir;

Üre	8.4 g
%50 Long Ranger Akrilamide	2.6 ml
10X TBE Buffer	2.0 ml
TEMED	15 µl
Amonyum Persulfat (APS-%10)	150 µl

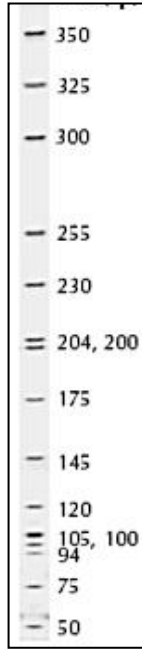
3.3.4. Li-cor elektroforez koşulları

Jel polimerizasyonu tamamlandıktan sonra aparat Li-Cor Elektroforez cihazına yerleştirilmiştir. Cihazda çalışma değerleri; 1000 V, 35 mA, 25 W 45°C’de yaklaşık 30 dk. ön ısıtma yapılarak ardından eşit miktarda formamide yükleme bufferı eklenmiştir ve PCR’da 95°C’de 4 dk denatüre edilen örneklerden 1 µl jel’e pipet yardımıyla yüklenmiştir (Şekil 3.1). Daha sonra cihaz çalışma şartları olan 1500 V, 35 mA, 50 W

48°C’de jel koşullarında 1.5 saat koşturulmuştur. Amplifiye edilmiş ürünler 50-350bp uzunluğundaki DNA markör (MWG Biotech AG, Ebersberg, Germany) kullanılarak hesaplanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. A. poliakrilamide jelin döküleceği camlar B. poliakrilamide jelin dökülmesi C. jel polimerize olduktan sonra tarağın jel içerisine yerleştirilmesi D. yüklemenin yapılması (Orijinal).



Şekil 3.2. 50-350 bp uzunluğundaki DNA marker (MWG Biotech AG, Ebersberg, Germany)

3.4. Veri Analizi

SSR markırları ile yapılan moleküler analizler sonucunda elde edilen jel görüntülerine bakılmış ve bant varlığı durumunda (1), yokluğu durumunda (0) ve amplifikasyonun olmadığı durumlarda (9) değerleri verilerek ikili (binary) matriks veri dosyası hazırlanmıştır. Bantlardan sadece güvenilir olanları değerlendirilmiştir. Dendrogramların oluşturulmasında NTSYS (Numerical Taksonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0) paket programı kullanılmıştır (Rohlf 1998). Öncelikle Jaccard (1908) yöntemi kullanılarak bir benzerlik matriksi oluşturulmuştur. Bu matriks kullanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average) metodu ile kümeleme (Cluster) analizleri yapılmış ve dendrogramlar elde edilmiştir.

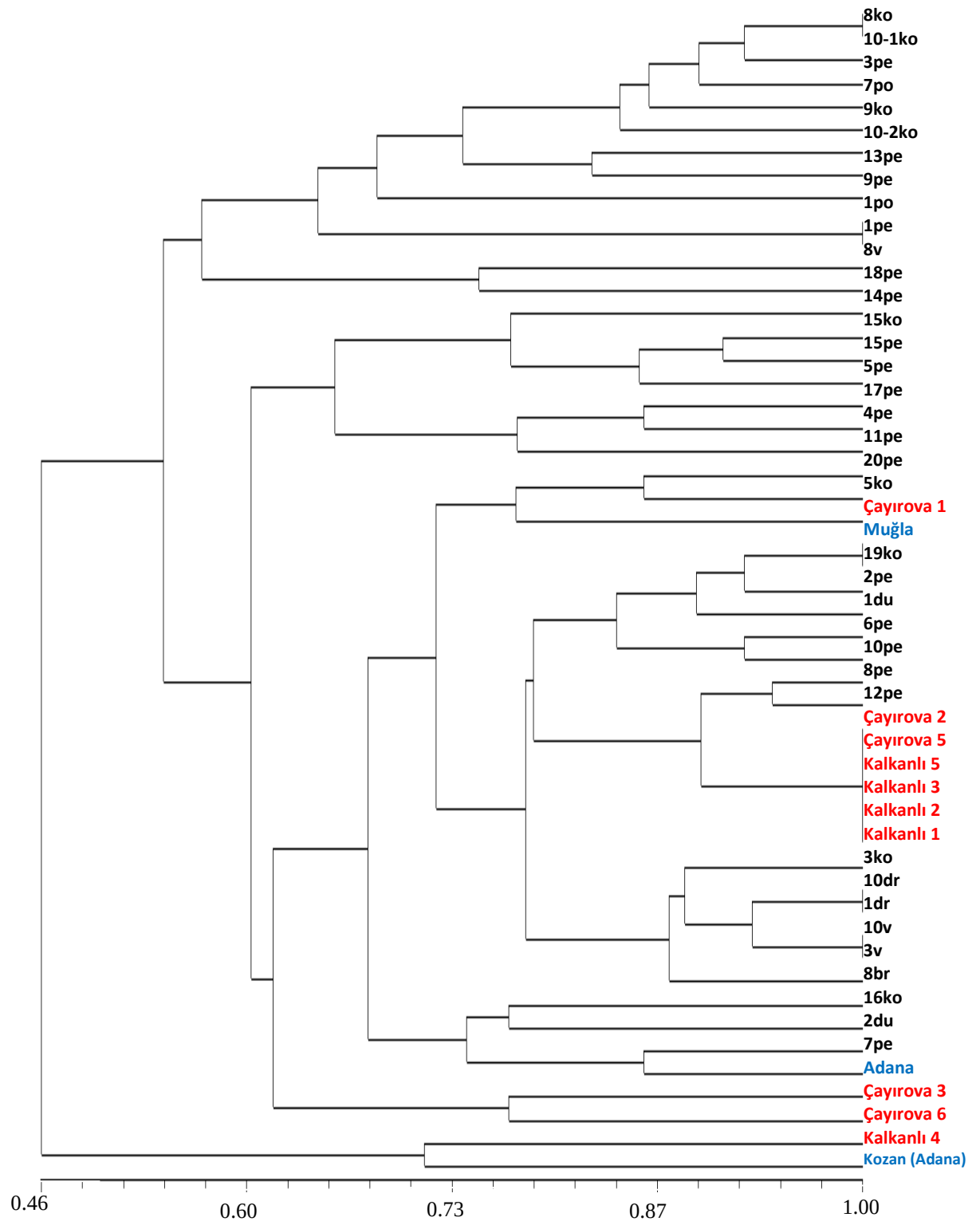
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Tez çalışmasında Hırvatistan, Türkiye ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden temin edilen keçiboynuzu genotipleri ile SSR çalışmaları yürütülmüş ve genotiplerin genetik ilişkileri araştırılmıştır. SSR analizlerinde keçiboynuzu genotipleri için geliştirilmiş toplam 5 SSR primeri kullanılmıştır. SSR analizleri sonucunda elde edilen toplam allel sayısı 16 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen 16 allelin tamamının polimorfik sonuçlar verdiği gözlenerek polimorfizm oranının %100 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. SSR analizleri sonucunda elde edilen toplam DNA bant sayısı, polimorfik DNA bant sayısı ve polimorfizm oranı

SSR Primer	Tekrar Motifi	Bant Büyüklüğü (bp)	Toplam DNA Bant Sayısı	Polimorfik DNA Bant Sayısı	Polimorfizm oranı
Cesi-21	(CTTT) ₇	182-186	2	2	100
Cesi-187	(AT) ₁₅	158-175	5	5	100
Cesi-1187	(AT) ₉	165-170	4	4	100
Cesi-98	(GCT) ₆	180-195	3	3	100
Cesi-17	(TTA) ₇	193-195	2	2	100
Total			16	16	100

Benzerlik indeksinden yararlanılarak UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Average) metodu ile kümeleme (Cluster) analizleri yapılmış ve dendrogram (Şekil 4.1) elde edilmiştir.



Şekil 4.1. SSR Analizleri sonucu oluşturulan dendrogram

SSR analizleri sonucu oluşturulan benzerlik matrisinde genotipler arasındaki genetik benzerlik oranının 0,46 ile 1,00 arasında değiştiği görülmüştür. Dendrogramda genotipler iki ana gruba ayrılmış ve bu ana kolların birinde Adana-Kozan'dan temin edilen bir genotip ile Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyetinden elde edilen Kalkanlı 4 genotipi yer almıştır. Diğer ana kolda ise çalışmada kullanılan diğer tüm genotipler kümelenmiştir. Çalışmada kullanılan ve farklı ülkelerden örneklenen genotiplerin birbirinden tam olarak ayrılarak grup oluşturmadıkları tespit edilmiştir. Fakat Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyetinden temin edilen Çayırova 2 ile Çayırova 5 ve Kalkanlı 1, 2, 3 ve 5 no'lu genotiplerin birbirinden genetik olarak ayrılamadığı tespit edilmiştir. Hırvatistan'dan temin edilen genotiplerin ise farklı gruplar içerisinde dar bir genetik çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir.

Farklı meyve türleri üzerinde daha önce yapılan moleküler çalışmalarda RAPD, AFLP, SRAP, ISSR ve SSR (mikrosatelitler) markörlerinin türlere ait çeşit ve genotipleri birbirlerinden ayırmada ve genetik çeşitliliği belirlemede yüksek tekrarlanabilirlik ve multipleks oranı nedeniyle başarılı bir şekilde kullanıldığı tespit edilmiştir (Ercişli *et al.* 2007; Zamani *et al.* 2007; Kafkas *et al.* 2008; Yılmaz *et al.* 2010; Gulen *et al.* 2010; Pınar *et al.* 2013).

Meyve türlerinde genetik çeşitlilik ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde mikrosatelitler (SSR markörleri) özel bir yere ve öneme sahiptir. Her tür için geliştirilen mikrosatelitler tür içi genetik çeşitlilik ve akrabalığı daha objektif bir şekilde tespit edebilmektedir. Ayrıca bir tür için geliştirilen mikrosatelitler yakın akraba türler için de transfer edilebilir veya kullanılabilir özelliكتedir. Örneğin *Prunus* cinsinde şeftali için geliştirilen bir SSR markörü diğer türler (kayısı, erik, kiraz vs.) içinde kullanılmaktadır (Mnejja *et al.* 2005; Nas *et al.* 2011).

Çalışmamızda kullanılan 5 SSR markörünün tez kapsamındaki genotipler açısından polimorfik sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Fakat bazı genotipler arasında tespit edilen polimorfizm tüm genotiplerin birbirinden ayırt etmek için yeterli olmamıştır. Tez çalışmasında Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyetinden temin edilen Çayırova 2 ile Çayırova

5 ve Kalkanlı 1, 2, 3 ve 5 no'lu genotiplerin %100 benzerlik göstermesi bunların benzer veya ortak genetik geçmişe sahip olduklarını ve bu genotiplerin tek bir kaynaktan vejetatif metotlarla çoğaltılarak Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nde farklı yerlere taşındığını düşündürmektedir. Bu genotipler arasında tek nükleotid düzeyinde farklılığının olup olmadığı keçiboynuzunda daha fazla SSR markörlerinin geliştirilip kullanılması ile veya tek nükleotid düzeyinde farklılığı ortaya koyan SNP markörlerinin kullanımı ile ancak mümkün olabilecektir. Caruso *et al.* (2009) and La Malfa *et al.* (2014) İtalya' da keçiboynuzları üzerinde yaptıkları moleküler çalışmada kullandıkları SSR ve AFLP markörlerinin bazı genotipleri ayırmada yetersiz kaldığı, bazı genotipleri ise birbirlerinden kesin hatlarla ayırt ettiklerini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte üç ülkeden alınan keçiboynuzu genetik kaynakları (Türkiye, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti ve Hırvatistan) üzerinde yürüttüğümüz SSR analizinde, SSR markörleri genotipleri birbirlerinden kesin sınırlarla ayıramamış olması bunların benzer kaynaktan gelmiş olabileceği fikrini de ortaya koymaktadır.

Özellikle Hırvatistan' dan alınan örnekler arasında ortaya çıkan düşük genetik çeşitlilik yine bunların aynı kaynaktan gelmiş olabileceğini, ayrıca keçiboynuzunun ilgili türlerle hibridizasyon eksikliğini ortaya koymaktadır. Düşük genetik çeşitlilik diğer türlerle hibridizasyon eksikliği yaşayan *Prunus spp.*, *Vitis spp.* ve *Citrus spp.* de söz konusudur. Bu çalışma keçiboynuzunun taksonomik olarak izole edilmiş bir tür olduğunu da ifade etmektedir.

Çalışmamızda dendogramda 2 ana kol oluşmuştur. Afif *et al.* (2008), Tunus' ta 10 adet keçiboynuzunu popülasyonlarından örnekler alarak RAPD markörleriyle moleküler karakterizasyon çalışması yürütmüşler ve RAPD markörlerinin oldukça yüksek polimorfizm oranına sahip olduğunu ve ayrıca dendogramda 2 ana grup oluştuğunu belirlemişlerdir.

İtalya'da yapılan bir çalışmada ise İtalya, Malta ve İspanya'dan toplanan 72 adet keçiboynuzu çeşidi EST-SSR markörleriyle değerlendirilmiş, 20 markörden 9 tanesi polimorfizm oluşturmuş lokus başına allel sayısı 2 ile 7 arasında değişmiş yine lokus

başına genotip sayısı 3 ila 13 arasında değişmiştir. Çalışmada bazı homonomi grupları da belirlenmiştir. Oluşturulan dendogramda üç ana kol oluşmuş ancak farklı ülkeleri genotipleri üç ana kola rastgele dağılmışlardır. Ancak bazı ülkelerde aynı coğrafik alanlarda alınan örneklerde ortaya çıkan yüksek genetik benzerlik bu genotiplerin vejetatif olarak çoğaltıldığını ortaya koymuştur (La Malfa *et al.* 2014). Yürütülen tez çalışmasında da 3 farklı ülkeden temin ettiğimiz keçiboynuzu genotiplerinin dar bir genetik çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca ülke bazında net bir gruplaşma olmadığı tespit edilmiştir. Bu yönüyle çalışma bulguları La Malfa *et al.* (2014) ile uyum göstermektedir.

Konate *et al.* (2007), Fas'ta yaptıkları bir çalışmada 10 adet keçiboynuzu genotipini RAPD markörleriyle karakterize etmişlerdir. Araştırmacılar çalışmada toplam 67 adet RAPD primeri kullanmışlar ve bunlardan 52 tanesinin tekrarlanabilir bantlar oluşturduğunu tespit etmişlerdir. RAPD analizi genotipler arasında coğrafik izolasyon olmadığını da ortaya koymuştur. RAPD markörleri PCR'a dayalı ilk markör sistemidir ve bazı sonuçları tekrarlanabilir olamamaktadır. Bu yönüyle SSR markörleri ile karşılaştırıldıklarında dezavantajları söz konusudur. Tez çalışmasında kullandığımız SSR markörleri tekrarlanabilir sonuçlar üretmektedir. SSR markörleri ile elde ettiğimiz sonuçlar Konate *et al.* (2007)'nin bildirdiği gibi genotipler arasında kesin bir coğrafik izolasyon olmadığı yönündedir.

5. SONUÇ

Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.), Akdeniz ikliminin görüldüğü yerlerde, bu iklime bağlı olarak yayılış gösteren baklagiller (Fabaceae) familyasında yer alan bir türdür. Ülkemizde doğal olarak yetişen önemli bir türdür. Birçok alanda tüketim imkanı vardır. Ülkemiz için önemli genetik kaynaklar arasında yer alan Keçiboynuzu genotiplerinin moleküler karakterizasyonu SSR markörleri ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Hırvatistan, Kuzey Kıbrıs ve Türkiye’den temin edilmiş genotipler kullanılmıştır.

Ülkemizde son yıllarda gerek üniversitelerde ve gerekse araştırma enstitülerinde biyoteknoloji konusundaki çalışmalar hız kazanmıştır. Bitki genetik kaynakları ile ilgili çalışma alanlarında, özellikle genetik çeşitliliğin belirlenmesi, genetik haritalama gibi amaçlar incelenen konuların başında gelmektedir. Son yıllarda meyve türlerine ait çeşitler arasındaki akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde moleküler belirleyiciler (markörler) başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Doğan 2011).

Araştırmada kullandığımız SSR markörlerinden elde ettiğimiz polimorfizm oranları oldukça yüksek bulunmakla beraber sözü edilen polimorfizm tüm genotiplerin birbirinden ayırt etmek için yeterli olmamıştır. Ülkemiz keçiboynuzunun genetik çeşitlilik merkezidir. Genotiplerin akrabalık derecelerinin belirlenmesi genetik markırlardan faydalanılarak belirlenmeye çalışılmıştır.

Çalışmada kullanılan değişik orjinli genotiplerin birbirinden tam olarak ayrılmadığı tespit edilmiştir. Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyetinden temin edilen Çayirova 2 ve 5 ile Kalkanlı 1, 2, 3 ve 5 no’lu genotiplerin birbirinden genetik olarak ayrılmadığı tespit edilmiştir. Hırvatistan’dan temin edilen örneklerden ise 8ko ve 10-1ko, 1pe ve 8v, 19ko ve 2pe, 10dr ve 1dr, 10v ve 3v genotiplerinin de birbirinden genetik olarak ayrılmadığı tespit edilmiştir. Adana-Kozan’dan temin edilen genotip ile Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyetinden elde edilen Kalkanlı 4 genotipi ilk ana kolda yer alarak diğer genotiplerden ayrılmıştır.

SSR analizlerinde keçiboynuzu genotipleri için geliştirilmiş toplam 5 SSR primeri çalışılmıştır. SSR analizleri sonucunda elde edilen toplam allel sayısı 16 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen 16 allelin tamamının polimorfik sonuçlar verdiği gözlenerek polimorfizm oranının %100 olduğu tespit edilmiştir.

Keçiboynuzu ile yapılan biyokimyasal çalışmalar sonucunda da önemli farklılıkların tespit edilemediği dar bir genetik çeşitliliğin olduğu gözlenmiştir. Keçiboynuzu genotiplerinin düşük bir genetik çeşitliliğe sahip olmaları ve bu genetik çeşitliliğin olduğu DNA bölgelerinin çoğaltılamamış olması da söylenebilir. Ancak bu tez çalışmasında Hırvatistan, Türkiye ve Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti'nden temin edilen keçiboynuzu genotipleri aynı coğrafik alanlarda alınan örneklerde ortaya çıkan yüksek genetik benzerlik bu genotiplerin vejetatif olarak çoğaltıldığını söyleyebiliriz.

Bu tez çalışmasından çıkan sonuçlara dayalı olarak; kullanılan keçiboynuzu genotiplerinde bazı polimorfizmler tespit edildiği görülmüş fakat coğrafik anlamda bir ayrımın söz konusu olmadığı belirlenmiştir. Bu kesin ayrımı yapabilmek için daha fazla SSR markırının geliştirilmesi ve kullanılması gerekmektedir. SSR markörleri ile birlikte farklı markör sistemlerinin kullanılması da önemli avantajlar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Afif, M., Messaoud, C., Boulila, A. Chograni, H., Bejaoui, A., Rejeb, M.N., Boussaid, M., 2008. Genetic structure of Tunisian natural carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) populations inferred from RAPD markers. *Annals of Forest Science*, Volume 65, Issue 7, p 710.
- Aka-Kaçar, Y., 2001. Türkiye’de Yetiştirilen Önemli Kiraz (*Prunus avium* L.) ve Vişne (*Prunus cerasus* L.) Çeşit ve Tiplerinin DNA Parmakizi Yöntemi ile Sınıflandırılması, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kod No: 640, Adana.
- Alexander, R. R., Shepperd, W. D., 1974. *Ceratonia siliqua* L., Carob, In: Schopmeyer CS, tech. coord. Seeds of woody plants in the United States. Agric. Handbk. 450. Washington DC, USA
- Anonim, 2014. Türkiye İstatistik Kurumu, <http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp/tarimdenge.zul> (03.09.2014).
- Anonymous, 2014a. Academic Dictionaries and Encyclopedias. <http://en.academic.ru/dic.nsf/enwiki/11510793> (03.09.2014).
- Anonymous, 2014b. Food and Agriculture Organization of the United Nations, <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx> (03.09.2014).
- Barracosa, P., Lima, M.B., Cravador, A., 2008. Analysis Of Genetic Diversity İn Portuguese *Ceratonia Siliqua* L. Cultivars Using RAPD And AFLP Markers. *Scientia Horticulturae*, 118, 189-199.
- Battle, I., 1997. Current Situation And Possibilities of Development of The Carob Tree (*Ceratonia siliqua* L.) in the Mediterranean Region. Basılmamış FAO Raporu, Roma, İtalya.
- Battle, I., Tous, J., 1997. Carob Tree – *Ceratonia siliqua* L., The International Plant Genetic Resources Institute, Roma, İtalya.
- Büyükübal Bal, E.B., 2003. Arpa Mikrosatellitlerinin Ekmeklik Buğdaydaki Genetik Çalışmalar için Kullanım Olanaklarının Araştırılması, KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi, 6(2): 34-40.
- Caruso, M., La Malfa, S., La Rosa, G., Gentile, A., Tribulato, E. and Frutos Tomás, D. 2009. Molecular Characterization And Evaluation of Carob Germplasm. *Acta Hort. (ISHS)* 818:95-102.
- Chaudhury, R., Malik, S. K., Reed, B. M., 2014. Implementing cryotechniques for plant germplasm:storing seeds, embryonic axes, pollen and dormant buds. *Acta Horticulturae*, 1039, pp 273-280.
- Davidson, M., 2013. Earth Science Picture of the Day. <http://epod.usra.edu/blog/2013/08/carob-tree.html> (03.09.2014).
- Chen TH-H., Murata N., 2011. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological application. *Plant, Cell & Environment*, 34 (1): 1-20.
- De Candolle, A., 1883. L’origine des Plantes Cultivées. Balière, Paris.
- Dellaporta, S.L., Wood, J. and Hicks, J.B., 1983. A Plant DNA Mini Preparation: Version 11. *Plant Molecular Biology Reporter* 1:19-21.

- Demirtaş, Ö., 2007. Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua*) Çekirdeklerinden Gam Üretim Yollarının Araştırılması. Basılmamış Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
- Doğan, A., Moleküler Tekniklerin Kirazda (*Prunus avium* L.) Genetik İlişki ile F1 Bireylerde S Allellerinin Belirlenmesinde Kullanımı, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi.
- Ercisli S., Agar G., Orhan E., Yildirim N., Hizarci Y., 2007. Interspecific variability of RAPD and fatty acid composition of some pomegranate cultivars (*Punica granatum* L.) growing in Southern Anatolia Region in Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology* 35(11): 764-769.
- Ercisli, S., 2004. A Short Review of the Fruit Germplasm Resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 51, 419-435
- Ghrabi, Z., 2005. A Guide to Medicinal Plants in North Africa. IUCN Centre For Mediterranean Cooperation Published, 79 – 81, Malaga, İspanya.
- Grados, N., Cruz, G., 1996. New Approaches to Industrialization of Algarrobo (*Prosopis pallida*) Pods in Peru, p.p. 3.25-3.42. In: *Prosopis. Semiarid Fuelwood and Forage Tree; Building Consensus for the Disenfranchised*. (Eds.) P. Felker and J. Moss. Center for Semi-Arid Forest Resources Kingsville, Texas, USA.
- Gulen H., Ipek A., Ergin S., Akcay MA 2010. Assessment of genetic relationships among 29 introduced and 49 local sweet cherry accessions in Turkey using AFLP and SSR markers. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 85 (5): 427–431.
- Günel, N., 1999. Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.)'nun Türkiye'deki Coğrafi Yayılışı, Ekolojik ve Floristik Özellikleri. *Marmara Coğrafya Dergisi*, 2, 60 – 74.
- Halasz, J., Pedryc, A., Ercisli, S., Yilmaz, K.U., Hegedus, A., 2010. S-genotyping supports the genetic relationships between Turkish and Hungarian apricot germplasm. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 135 (5):410-417.
- Kaçar, Y. A., 2004. Moleküler Markörlerin *Prunus* Türlerinde Kullanımı. *Alatarım*, 3(2), 15-22.
- Kafkas S., Ozgen M., Dogan Y., Ozcan B., Ercisli S. and Serce S., 2008. Molecular characterization of mulberry accessions in Turkey by AFLP markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 133: 593–597.
- Kafkas, S., Özkan, H. and Sütyemez, M., 2005. DNA Polymorphism and Assessment of Genetic Relationships in Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes Based on AFLP and SAMPL Markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130:585-590.
- Konate, I., Berraho, E.B., Filali-Maltouf, A., 2007. Diversity analysis of Moroccan carob (*Ceratonia siliqua* L.) accessions using phenotypic traits and RAPD markers. *Acta Botanica Malacitana*, Vol. 32: 79-90.
- Konate, I., Berraho, E.B., Filali-Maltouf, A., 2009. Inter-Simple Sequence Repeat Markers Variation among Natural Accessions of Moroccan Carob Tree (*Ceratonia siliqua*). *Int. J. Agric. Biol.*, Vol. 11: 168-172.
- La Malfa, S., Curro, S., Douglas, AB., Brugaletta, M., Caruso, M., Gentile, A., 2014. Genetic diversity revealed by EST-SSR markesrs in carob tree (*Ceratonia siliqua* L.). *Biochemical Systematics and Ecology*, DOI:10.1016, Vol:55, Pages:205-211.

- Mnejja M, Garcia-Mas J, Howad W and Arús P 2005. Development and transportability across *Prunus* species of 42 polymorphic almond microsatellites. *Molecular Ecology Notes* 5: 531–535.
- Nas MN, Bolek Y and Bardak A 2011. Genetic diversity and phylogenetic relationships of *Prunus microcarpa* C.A. Mey. subsp. *tortusa* analyzed by simple sequence repeats (SSRs). *Scientia Horticulturae* 127(3): 220-227.
- Ovesena, J., Polakova-leona, K., Leisova, L., 2002. DNA Analysis and Their Applications in Plant Breeding. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 38, 2002 (1): 29–40.
- Özkaya, M. T., Tunalıoğlu, R., 2003. Keçiboynuzu. T.E.A.E. Bakış, Sayı: 3, Nüsha: 5, Haziran 2003, Ankara.
- Pinar H., Unlu M., Ercisli S., Uzun A., Bircan M., Yilmaz K.U., Agar G., 2013. Determination of genetic diversity among wild grown apricots from Sakit valley in Turkey using SRAP markers. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 86, 55-58.
- Rohlf, F. J., 1998. NTSYS-pc Numerical Taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.00. Exeter software, Setauket, New York.
- Schweinfurth, G., 1894. Sammlung Arabisch-aethiopischer Pflanzen, Ergebnisse von Reisen in den Jahren 1881, 1888-89, 1891-92. *Bull. Herb. Boissier* 2:1 – 114.
- Tan, A., İnal, A., Taşkın, T., 2005. Bitki Genetik Kaynakları ve Biyoteknoloji. Teknik Broşür, No: 6, ETAE Matbaası, Menemen, İzmir.
- Thomas, J., Vijayan D., Joshi S.D., Lopez S.J. and Kumar R.R., 2006. Genetic integrity of somaclonal variants in tea (*Camellia sinensis* (L.) O Kuntze) as revealed by inter simple sequence repeats. *J. Biotechnol.* 123:149-154.
- Tous, J., Olarte, C., Truco, M.J., Aru' s, P., 1992. Isozyme polymorphisms in carob cultivars. *Hortscience* 27 (3), 257–258.
- Turkoglu, Z., Bilgener, S., Ercisli, S., Bakir, M., Koc, A., Akbulut, M., Gercekcioglu, R., Gunes, M., Esitken, A., 2010. Simple sequence repeat-based assessment of genetic relationships among *Prunus* rootstocks. *Genetics and Molecular Research*. 9(4):2156-2165
- Vavilov, N. I., 1951. The Origin, Variation, Immunity, and Breeding of Cultivated Plants Çev. K.S. Chester. The Ronald Press Co., New York.
- Yıldırım, A., Kandemir, N., 2001. Genetik Markörler ve Analiz Metodları. Bitki Biyoteknolojisi Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Basımevi, 334-336 s, Konya.
- Yıldız, A., 1995. “Keçiboynuzunun (*Ceratonia siliqua* L.) Değişik Yöntemlerle Çoğaltılması Üzerinde Araştırmalar”, Basılmamış Doktora Tezi, Çukurova Üniv., Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Yilmaz, KU., Yanar, M., Ercisli, S., Sahiner, H., Taskin, T. and Zengin, Y., 2010. Genetic relationships among some hawthorn (*Crataegus* spp.) species and genotypes. *Biochemical Genetics*. 48 (9-10), 873-878.
- Zamani Z, Sarkhosh A, Fatahi R and Ebadi A (2007) Genetic relationships among pomegranate genotypes studied by fruit characteristics and RAPD markers. *Journal Horticultural Science and Biotechnology* 82: 11-18.
- Zohary, D., 1996. Domestication of the Carob Tree, III. Uluslararası Keçiboynuzu Sempozyumu, Cabanas-Tavira, Portekiz.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Erzincan’da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Erzincan’ın Tercan ilçesine bağlı olan Kargın Kasabasında tamamladım. Lise eğitimimi 2001–2004 yılları arasında Erzincan’da tamamladım. 2007 yılında Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde lisansımı yapmaya hak kazandım. 2011 yılında Ziraat Mühendisi olarak aynı bölümden mezun oldum. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitimime başladım ve halen devam etmekteyim.