

## TURUNÇİLLER VE TAKSONOMİK PROBLEMLERİ

Osman GÜLŞEN<sup>(1)</sup>

### GİRİŞ :

Turunçiller (*Citrus*) taksonomisi uzun yıllar taksonomistler arasında tartışmalara sebebi olmuştu ve son otuz yılda moleküler teknoloji ve sistematik ilişkileri tespitte kullanılan metodların da geliştirilmesiyle daha fazla kabul edilebilir sonuçlar elde edilmiştir. Son zamanlara kadar en yaygın kullanılan taksonomik sistemler oldukça çelişecek durumdaydı. Buki yaygın taksonomi sisteminden ilki turunçillerde iki ayrı alt cins içerisinde toplam 16 turunçgil türü olduğunu iddia etti (Swingle ve Reece, 1967), diğer sistem ise yıllar içerisinde turunçillerde önce 145 daha sonra 162 tür bulduğunu iddia etti (Tanaka, 1977). Bu taksonomistlerden çok uzun yıllar öncesinde bu tartışmalar başlamıştı. Araştırmacılar tarafından bulunan ve bazı farklılıklara sahip tipler bazı araştırmacılar tarafından yeni tür olarak kabul edilmesine yol açmasına rağmen diğer bazıları turunçillerde bulunan tür sayısını üç veya dört ile sınırlamıştır (Linnaeus, 1753; Hooker, 1875). Oliver (1861), Engler (1896), Lushington (1910), Guillaumin (1911), Swingle (1943), Bhattacharya ve Dutta (1956), Hodgson (1961), Singh ve Nath (1969) ise kendi görüşleri doğrultusunda turunçgil taksonomisini ve buna bağlı olarak tür sayısını belirlemişler ve genellikle tür sayısının Swingle ve Tanaka tarafından önerilen sayının ortalamasına yakın olduğunu kabul etmişlerdir. Son yıllara kadar tartışmalar süregelmiştir.

Birkaç faktör vardır ki, bunların turunçgil taksonomisinde karışıklığa neden olduğu düşünülmektedir. İlk olarak, turunçgil ve akraba cinslerinden bazıları birbirleri arasında kolayca melezlenebilirler ve yaşayabilen bireyler üretebilirler. Iwamasa ve ark. (1988) turunçgil (*Citrus*) ve akraba cinsler olan *Fortunella*, *Eremocitrus*, *Poncirus* ve *Microcitrus*'ları melezlemişler ve bunların yaşayabilen bireyler meydana getirdikleri tesbit etmişlerdir. Turunçgil taksonomisinde karışıklığa neden olan bir diğer faktör ise bazı turunçgil guruplarında yaygın olarak görülen apomiksle embriyo oluşumudur. Bu durumda embriyo zigotik değil ana bitki dokusundan gelişmektedir ve genetik olarak beklendiği gibi ana bitkininkinin aynısıdır. Birbirinden farklı hatta heterozigotluk oranı bir hayli yüksek aynı genetik yapıdaki iki turunçgil ağacı arasındaki melezlemeyle elde edilen bireyler apomiksis yolu ile kendi fenotipik özelliklerini koruyarak nesillerini büyük guruplar oluşturarak devam ettirirler. Zaman ilerledikçe sayıları büyüyen bu yeni gurup, araştırmacılar tarafından yeni tür olarak adlandırılabilir. Aynı zamanda göz mutasyonlarında apomiksis yoluyla gelecek nesillere aktarılabilir ve bu,

(1) Zir. Yük. Müh. Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, Erdemli / İÇEL

gurup içi bir varyasyon kaynağı oluşturabilir (Gülsen ve Roose, basımda)

Turunçillerde taksonomistler tarafından öngörülen tür sayısındaki büyük farklar araştırcıları, turunçillerde tür düşüncesi (species concept)'ni oluşturmaya zorladı. Tür olarak kabul edilmek için turunçiller şu özelliklere sahip olmalıdır :

1. Turunçiller nispeten düşük heterozygosity göstermelidir,
2. Eşsiz morfolojik, biyokimyasal ve DNA yapısına sahip olmalıdır,
3. Nispeten düşük apomiktik embriyo oranına sahip olmalıdır.

Bu doğrultuda yapılan araştırmalar ve guruplandırma sonucunda elde edilen bulgular daha fazla kabul görmüş ve sonuçlar, son on yılda yapılan moleküller seviyedeki çalışmalarla da doğrulanmıştır. Aşağıda bununla ilgili bulgular gözden geçirilecektir.

### **SON ZAMANLARADA ÖNERİLEN TURUNÇİL TÜRLERİ**

Scora (1975) ve Barett ve Rhodes (1976) daha erken zamanlarda yaşayan taksonomistlerin aksine, turunçillerde daha az sayıda tür olduğunu iddia etti. Barett ve Rhodes 200 bitki karakterini, test edilen 45 turunçıl türü, 3 bilinen hibrit, 6 akraba cinsinde içeren 88 örnek arasındaki ilişkileri tesbit etmek için kullandı ve ağaç kavunu (*Citrus medica*), şadok (*Citrus maxima*) ve mandarin (*Citrus reticulata*)'ın üç gerçek tür olduğunu önerdi.

#### **Ağaç kavunu veya sitron (*C. medica*) :**

Bu genotipin eşsiz morfolojik, biyokimyasal (Torres ve ark., 1978 ; Handa ve ark., 1986) ve DNA yapısına (Yamamoto ve ak., 1993; Federici ve ark 1998) sahip olduğu pek çok araştırcı tarafından kabul edildi. Gerçekten de ağaç kavunu çok düşük heterozygosity seviyesine sahipti. (Federici ve ark., 1998), kloroplast (Gülsen ve Roose, basımda) mitakondriya RFLP (restriction fragment length polymorphism) paternleri (Yamamoto ve ark., 1993) çalışılan diğer bütün turunçıl ve akraba cinslerden farklı olduğu saptanıldı.

#### **Şadok veya pummelo (*C. maxima*):**

Şadoklar diğer turunçıl tiplerinden oldukça farklı gurup oluşturmaktadır. Çoğunluğu fenotipik, 200 çalışan karakterden numerik guruplandırma yoluyla elde sonuçlar şadokların ağaç kavunu ve diğer turunçıl akrabalıyla benzerliklerinin çok düşük veya negatif olduğunu gösterdi (Barett ve Rhodes, 1976). Heterozygosity seviyeleri ağaç kavununda olduğu son olarak yapılan bir çalışmada değişik yörelerden Amerika Birleşikleri Tarım Bakanlığı koleksiyonunda toplanan turunçıl türlerin genetik olarak ne kadar çeşitli oldukları çalışıldı ve kaba limonlarla birlikte diğer bazı turunçillerin çoğu birbirine benzer bulunduğu halde şadokların her birisinin farklı genetik yapılarına sahip olduğu tespit edildi (Gülşen ve Kruger, yayınlanmadı). Bu sonuçlar, şadoklarda aseksuel yada nusellar yol değilde seksuel çoğalmanın (zigotik) en yaygın

çoğalma yolu olduğunu göstermektedir.

#### **Mandarin (*C. reticulata*):**

Mandarinler diğer turunçgiller, *Eremocitrus glauca*, *Microcitrus* ve *Poncirus trifoliata* türleriyle negatif benzerlik göstermesine rağmen turunç (*C. aurantium*) ve Valensiya portakali (*C. sinensis*) ile azda olsa benzerlik gösterir (Barrett ve Rhodes, 1976). Heterozigosity seviyesi ağaç kavunu ve şadoklara göre mandarinler arasında değişmekte beraber diğer turunçgillere göre daha düşüktür. Kloroplast RFLP'lerinin ise diğer önemli turunçgil guruplarından oldukça farklı olduğu saptanmıştır (Gülşen ve Roose, basımda).

Stone ve ark. (1973) tarafından turunçgiller içinde tür olarak önerilen *C. halimi*'nin ise moleküler markörleride kullanarak bu guruba giren diğer turunçgillerle birlikte kapsamlı olarak çalışmasına ihtiyaç bulunmaktadır. *C. halimi*'nin kloroplast RFLP paternleri oldukça farklı bulunmuştur (Gülşen ve Roose, basımda). Ancak bu guruba ait çalışılan genotip sayısında yetersizlik görülmektedir.

### **HİBRİT ORJİNE SAHİP OLDUĞU ÖNE SÜRÜLEN ÖNEMLİ TURUNÇGİL GRUPLARI**

**Turunç (*C. aurantium*):** Scora (1975) biyokimyasal markörler işliğinde turuncun şadok (*C. maxima*) x mandarin (*C. reticulata*) melezisi (hibrit) olduğunu önerdi. Kloroplast ve mitokondriya RFLP çalışması turuncun şadok maternal ebeveynine sahip olduğunu gösterdi (Gülşen ve Roose, basımda; Yamamoto ve ark. , 1993). Her iki ebeveyne ait SSR ve izoenzim markörlerinin turunç markörlerini olası bir seksuel hibridizasyonla oluşturabileceğini göstermiştir (Kijas ve ark. , 1995 ; Gülşen ve Roose, basımda ; Federici, kişisel görüşmede). Ancak turunç ve şadokların her iki organelinden de elde edilen moleküler markörlerdeki küçük farklılık, büyük olasılıkla gerçek turuncun oluşumuna yol açan hibridizasyonda rol alan şadok tipinin yeryüzünden yok olmuş olabileceğini veya henüz çalışılan kolleksiyonlara girmemiş olabileceğini önermektedir.

**Portakal (*C. sinensis*):** Portakalın da bir şadok x mandarin melezisi olduğu öne sürülmüştür (Scora, 1975). Turunçlarda olduğu gibi şadok maternal ebeveynine sahip olduğu kloroplast ve mitokondriya gibi organel DNA markörleri tarafından doğrulanmıştır (Gülşen ve Roose, basımda. Yamamoto ve ark. , 1993). Bu sonuçlar portakalı oluşturan muhtemel hibridizasyon olayında mandarin veya onun yakın bir akrabasının baba olarak yer almış olabileceğini göstermiştir.

**Kaba limon (*C. jambhiri*):** Pek çok ülkede anaç olarak kullanılan ve yüksek oranda nusellar embriyo oluşturma özelliğine sahip bir turunçgil grubudur (Frost ve Scoost,1968).

Bu turunçgiliin ağaç kavunu x mandarin hibriti olduğu önerilmiştir (Scora, 1975). Kloroplast RFLP paternleri ise kaba limonun maternal ebeveyninin mandarin olduğunu ortaya koymuştur (Gülşen ve Roose, basımda). Ana ve babadan eşit oranlarda kalıtlanan nükleer DNA markörleri ise kaba limonun ağırlıklı olarak ağaç kavunu DNA'larına sahip olduğunu (Federici ve ark., 1998) ve mandarinin kaba limonu yaratan hibridizasyon olayında direkt olarak rol almadığını ve bir hibriti yolu ile yer almış olabileceğini önermektedir.

#### **Limon (*C. limon*):**

Bu güne kadar limonun orjini ile ilgili en kapsamlı çalışmalarдан biri olan ve Malik ve ark. (1974) tarafından biyokimyasal markörler kullanılarak yapılan çalışma limonun ağaç kavunu x laym (*C. aurantifolia*) hibriti olduğunu önermesine rağmen son olarak yapılan çalışmalar limonun turunç x ağaç kavunu hibriti olduğu saptanmıştır (Gülşen ve Roose, basımda; Nicolosi ve ark. , 1998). Gülşen ve Roose tarafından yapılan çalışma anadan kalıtlanan kloroplast organeli ve dominant ve kodominant DNA markör kullanımında içeren limonun orjini ile ilgili en kapsamlı çalışmalardan birisidir. Buna ilave olarak mitakondriyal RFLP markörleri dahil(Yamamoto ve ark. , 1993) bütün DNA ve izoenzim markörleri bu sonucu doğrulamaktadır. Dünyada yetişiriciliği yapılan 58 adet limon çeşitinden 48 tanesinin seksuel olarak değilde nusellar yolla ve küçük mutasyonları içeren DNA değişiklikleri sonucunda olduğu tespit edildi (Gülşen ve Roose, basımda)

#### **Greyfurt (*C. paradisi*):**

Hodgson (1967) fenotipik markörleri kullanarak önerdiği sonuçlara göre greyfurtun bir şadok (*C. maxima*) x portakal melezi olduğunu önerdi. Gerçekte Kloroplast RFLP paternleri şadoğunkilerle bir hayli benzer olmakla birlikte %10 farklılık tespit edildi. Ancak nükleer DNA'yı içeren RFLP çalışmásında iki adet greyfurtun mandarinler ve portakalın bulunduğu gurupta yer aldığı tespit edilmiştir (Federici ve ark. ,1998). Daha detaylı bilgilere sahip olabilmek için greyfurtu hedef alan daha spesifik çalışmalarla ihtiyaç bulunmaktadır.

### **SONUÇ**

Yukarıda önerildiği gibi turunçgillerde en yaygın olarak kullanılan iki taksonomik sistem tarafından kabul edildiği gibi 16 (Swingle ve Reece, 1967) veya 162 (Tanaka, 1977) değil çok daha az sayıda tür mevcuttur. Bu sonuçları elde etmede veya önerileri test etmede moleküler markörler eşsiz bir rol oynamıştır. Gerçekte moleküler markörleri kullanarak yapılan çalışmalarla hibrit orjine sahip olduğu önerilen turunçgillerin tamamı, yukarıda gerçek tür olarak önerilen üç turunçgil türünden (şadok, mandarin ve ağaç kavunu) daha yüksek heterozgosty göstermiştir. Aseksuel embriyo oranının ise hibrit orsinli turunçgillerde %15 ile 100 arasında değişen oldukça yüksek oranlarda olduğu saptanmıştır (Frost ve Soost, 1968)

Turunçgillerin *Microcitrus* ve *Eremocitrus* gibi diğer akraba cinslerle ilişkilerinde bazı moleküler veriler baz önemli turunçgil guruplarının oluşumunda bu akraba cinslerin rol almış olabileceğini önermesine rağmen daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bazı limon, kaba limon ve tatlı limon gibi önemli turunçgil guruplarının oluşumunda rol aldığı düşünülen ağaç kavununun kloroplast RFLP paternlerinin *Microcitrus* ve *Eremocitrus* cinsleriyle benzerliklere sahip olduğu düşünüldüğünde (Gülşen ve Roose, basında) bunun gibi çalışma lara duyulan ihtiyaç daha bir önem kazanacaktır.

Ticari öneme sahip turunçgillerde hibridizasyonla ıslahın daha etkin bir şekilde kullanımı kesin ebeveynleri veya ona en yakın genotipte olanları tanımla mümkün olabilir. Bunun yapılabilmesi için etkin bir turunçgil örmekmemesinin yanısıra ki bu bütün muhtemel hibritleri ve muhtemel ebeveyn adaylarını içermelidir. Ve bitek organel markörü tahlillardan veya nükleer genomda olduğu gibi her iki ebeveynden katılan dominat veya tercihen kodominant markörleride içermektedir. Bunun için yardımcı olacak bilgisayar programları (NTSYS (Rohlf, 1993) ve PAUP (Swofford, 1998) ile henüz hazırlanan ve analiz için kodominant markörleri kullanan programlar (Xu ve Roose, kişisel görüşmeden) mevcuttur.

## ÖZET

Bu çalışmada son gelinen haliyle uzun yıllar tartışmalara maruz kalmış turunçgil (*Citrus*) taksonomisindeki gelişmeler vurgulandı. Şadok (*C. maxima*), ağaç kavunu (*C. medica*) ve mandarin (*C. reticulata*)'ın turunçgil cinsi içerisinde 3 temel tür olduğu önerildi. Moleküler verilerinde desteklediği turunçgillerde 3 yada 4 temel tür düşüncesi, diğer ticari olarak yetiştirciliği de yapılan önemli guruplarında dahil olduğu bir kısım turunçgilinde bu çok az sayıdaki türlerin iki bazan içinde belki de diğer akraba cinsleride içeren hibridizasyonlar sonucundaoluştugu genel kabul görmüş durumdadır. Turunçgil cinsine akraba olan diğer cinslerle ilişkileri ise ihtiyaç duyulan çalışma alanlarındandır.

## SUMMARY

### CITRUS AND THEIR TAXONOMIC PROBLEMS

In this study, recent advances on the *Citrus* taxonomy subject to prolonged discussions were summarized. Pummelo (*C. maxima*), citron (*C. medica*) and mandarin (*C. reticulata*) were suggested to be basic species in Genus *Citrus*. Molecular data support that there are very few basic species in Genus *Citrus* and all other *Citrus* groups including commercially important *Citrus* fruits originated by hybridization involving these three basic species and possibly related genera. Understanding their relationships with members of the related genera is essential in the *Citrus* breeding.

## KAYNAKLAR

- BARRETT, H. C., A.M. RHODES, . (1976).** A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated *Citrus* and its close relatives. *Sys. Bot.* 1: 105-136.
- BHATACHARYA, S. C., DUTTU, S. (1956).** Classification of *Citrus* Fruits of Assam. *Sci. Monogr. No. 20.* ICRA, New Delhi, India.
- FEDERİCİ, C. T., D.Q., FANG, R.W., SCORA, M.L ROOSE, (1998).** Phylogenetic relationships. Within the genus citrus (Rutaceae) and related genera as revealed by RFLP and RAPO analysis. *Theor. App. Genet.* 96:812-822.
- FROST, H.B., R.K. SOOST, (1968).** Seed reproduction: development of gametes and embryos. P.29-324. In: Reuther W. Batchelor LD, and Webber HJ (eds.). *The Citrus Industry*, Vol. 2, rev. ed. Div. Agric Sci., Univ. of California, Berkeley.
- HANDA, T., Y, ISHIZAWA, C, OOGAKİ (1986).** Phylogenic study of Fraction I protein in the genus *Citrus* and its close related genera. *Jpn. J. Genet.* 61:15-24.
- HOOKER, J.D. (1875).** Flora of British India. London (Rutaceae, 1:484-517.
- HODGSON, R.W. (1961).** Taxonomy and Nomenclature in *Citrus*. *Intern. Org. Citrus Virol. Proc.* 2:1-7.
- HODGSON, R.W. (1967).** Horticultural Varieties of *Citrus*. In : Reuther W, Webber HJ, Batchelor LD (eds). *The Citrus Industry*. University of California Press, Berkeley, pp. 431-591.
- IWAMASA, M., N. J.T, NITO, J.T., LING, (1988).** Intra-and Intergeneric Hybridization in the Orange Subfamily, *Aurantioideae*. In: Goren RK, Mendel K (eds) 6th Proc. Int Citrus, Cong, Vol. 1, Margraf Publishers. Weikersheim. Germany, 123-130.
- KIJAS, J.M.H., J.C., FOWLER, S., M.R., THOMAS. (1995).** An evaluation of sequence tagged microsatellite site markers for genetic analysis within *Citrus* and related species. *Genome* 38:349-355.
- LINNAEUS, C. (1753).** Species Plantarum. Vol. II. Holmiae (Stockholm), Impensis Laurentii Salvii. (printed for the Ray Society, London, in 1959).
- LUSHINGTON, A.W. (1910).** The genus *Citrus*. *The Citrus Industry*. 39:323-53.
- MALİK, M.N., SCORA, R. W., R.K., SOOST, (1973).** Studies on the origin of the lemon. *Hilgardia* 42:361-382.
- NICOLOSI, E., Z.N., DENG, A., GENTILE, S., LA MALFA, CONTINELLA, G., TRIBULATO, E. (1998).** Investigation of the origin of citrus species by using RAPD and SCAR markers. 1 st int. Citrus Biotech. Symp. Program and Abstracs. p.17.
- OLIVER, D. (1861).** The natural order Aurantiaceae with a synopsis of the Indian species. *J. Linn. Soc., Bot.* 5:1-44.

**STONE, B. C., J.B.,LOWRY, R.W., K.,SCORA, JONG,(1973).** *C. halimi* : A new species from Malaya and Peninsular Thailand. *Biotropica* 5: 102-110.

**SWINGLE, W. T. (1943).** The botany of *Citrus* and its wild relatives. In : Reuther W, Webber HJ, Batchelor LD (eds). *The Citrus Industry*, vol. 1. University of California, Berkeley, pp. 190-430.

**SIWINGLE, W.T, P.C. (1967).** The botany of Citrus and its wild relatives. In Reuther W, Webber HJ , Batchelor LD (eds). *The citrus Industry*, vol. 1. Universty of California, Berkeley pp. 190-430

**TANAKA, T. (1977).** Fundamental Discussion of *Citrus* Classification. *Stud. Citrol.* 14:1-6

**Torres, a.m. soost, r.k., diedenhofen, u. (1978).** Leaf isozymes as genetic markers in *Citrus*. *Amer. J. Bot.* 65:869-881.

**YAMAMOTO, M.,S., KOBAYASHI, Y., NAKAKURA, Y., YAMAMADA, (1993).** Phylogenetic relationships of *Citrus* revealed by diversity of cytoplasmic genomes. In: Hayashi T, Omura M, Scott NS (eds). *Techniques on gene diagnosis and breeding in fruit trees*. Fruit Trees Research Station, Okitsu, Japan, pp. 39-46.

**ROHLF, F.J. (1993).** *NTSYS-PC, Numerical Taxonmy and Multivariate Analysis System*. Version 180. Exeter Software, Setauket, New York

**SWOFFORD, D.L. (1998).** *Phylogenetic Analysis Using Parsimony Version 4.0*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, MA.