

Orman Bakanlığı Yayın No: 189
Müdürlük Yayın No: 22

ISBN: 975-8273-50-7

**MOLEKÜLER BELİRTEÇLER YARDIMIYLA KIZILÇAM
(*Pinus brutia* Ten.) TOHUM MEŞCERELERİNDE, TOHUM
BAHÇELERİNDE VE AĞAÇLANDIRMALARINDA BULUNAN
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN KARŞILAŞTIRILMASI**

ODC: 165.3

Comparison of Existing Genetic Diversity in Turkish Red Pine
(*Pinus brutia* Ten.) Seed Stands, Seed Orchards and Plantations Using
Molecular Markers

Ercan VELİOĞLU Dr. Yasemin İÇGEN Burcu ÇENGEL

Dr. Hikmet ÖZTÜRK Prof. Dr. Zeki KAYA

TEKNİK BÜLTEN NO: 10

**T.C.
ÇEVRE VE ORMAN BAKANLIĞI
ORMAN AĞAÇLARI VE TOHUMLARI ISLAH ARAŞTIRMA
MÜDÜRLÜĞÜ**

**FOREST TREE SEEDS AND TREE BREEDING RESEARCH
DIRECTORATE**

ANKARA-TÜRKİYE

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	iii
ÖZ.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	5
3.1. Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi.....	5
3.2. DNA İzolasyonu.....	8
3.3. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	8
3.4. RAPD Primerleri.....	8
3.5. RAPD-PCR Koşullarının Optimizasyonu.....	9
3.6. Jellerin Yorumlanması.....	10
3.7. Veri Analizi.....	11
3.7.1. Allel Frekansları.....	11
3.7.2. Allel Sayısı.....	12
3.7.3. Etkili Allel Sayısı.....	12
3.7.4. Shannon Sabiti.....	12
3.7.5. Heterozigotluk.....	12
3.7.6. Polimorfik Lokus Oranı.....	13
3.7.7. F-İstatistiği.....	13
3.7.8. Genetik Mesafe.....	15
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	16
4.1. Populasyonların Genetik Yapıları.....	16
4.2. Genetik Çeşitlilik.....	16
4.2.1. Allel Sayısı.....	16
4.2.2. Shannon Sabiti.....	17
4.2.3. Heterozigotluk.....	17
4.2.4. Polimorfik Lokus Oranı.....	17
4.3. F-İstatistiği.....	21
4.4. Populasyonlar Arasında Genetik Mesafe.....	23
4.5. Populasyonların Genetik Çeşitliliğinin Karşılaştırılması.....	28
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	29
ÖZET.....	31
SUMMARY.....	32
KAYNAKÇA.....	33
TANIMLAR.....	41

ÖNSÖZ

1994 yılında başlayan Türkiye Milli Ağaç Islahı ve Tohum Üretimi Programı kapsamında başta kızılçam olmak üzere, beş ağaç türümüzde ıslah programı başlatılmıştır. Islah programlarının başlangıcında tür ile ilgili genetik parametrelerin ve genetik çeşitliliğin bilinmesi gerekmektedir. Islah stratejileri ağaç türünün üreme biyolojisine ve genetik parametrelerine göre belirlenmektedir. Genetik çeşitliliğin bilinmesi, programın etkinliğini ve güvenilirliğini artırmaktadır.

Orman ağaçları doğal popülasyonlarının genetik yapılarının araştırılmasında bir çok yöntem kullanılmaktadır. Son yıllarda izoenzim analizi ve DNA teknolojisinin gelişmesiyle birlikte, bir çok orman ağacının genetik yapıları belirlenmiştir. Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi kapsamında yapılan bu çalışma ile, Orman Bakanlığı bünyesinde Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD-Randomly Amplified Polymorphic DNA) yöntemi kullanılarak kızılçamın genetik çeşitliliği ilk defa araştırılmıştır. Elde edilen popülasyonlar arası genetik çeşitlilik ve mesafe değerleri; ıslah, gen koruma ve ağaçlandırma stratejileri açısından uygulamacılara ışık tutacak niteliktedir.

Bu araştırmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden kozalak toplanmıştır. Kozalakların toplanması ve kozalaktan tohum üretimi aşamalarında büyük destek sağlayan Ağaçlandırma ve Erozyon Kontrolü Genel Müdürlüğü'nün merkez ve taşra teşkilatı çalışanlarına çok teşekkür ediyoruz. Müdürlüğümüz laborantlarına, özellikle Özlem SARIGİL'e, karşılaştığımız her aksaklığı en kısa zamanda aşmamızı sağlayan Müdürümüz Sadi ŞIKLAR'a ve emeği geçen tüm mesai arkadaşlarımıza teşekkürü borç biliriz.

Çalışmamızın ülke ve mesleğimize katkıda bulunmasını diliyoruz.

Ankara, 2002

Ercan VELİOĞLU
Dr. Yasemin İÇGEN
Burcu ÇENGEL
Dr. Hikmet ÖZTÜRK
Prof. Dr. ZEKİ KAYA

ÖZ

Bu çalışmada kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) tohum meşcereleri, tohum bahçeleri ve ağaçlandırmalarında bulunan genetik çeşitliliğin miktar ve yapılanmasını belirlemek amacıyla Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA) belirteçleri kullanılmıştır. Bu amaçla Milli Ağaç Islahı Programında belirtilen altı kızılçam ıslah zonundan seçilen altı tohum meşceresi, bu meşcerelerden sağlanan materyalle kurulan altı tohum bahçesiyle, yine bu tohum meşcerelerinden sağlanan tohumlarla kurulan 6 ağaçlandırma alanının genetik yapıları incelenmiştir.

Çalışılan on iki primer ile 86 polimorfik lokus elde edilmiştir. Ortalama polimorfizmin % 77 olarak saptanması, çalışılan kızılçam popülasyonlarında genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu göstermektedir. Genetik çeşitlilik parametreleri karşılaştırıldığında; tohum meşcereleri, tohum bahçeleri ve ağaçlandırmaların sırasıyla, ortalama allel sayısı (1.76, 1.79, 1.75), etkili allel sayısı (1.48, 1.47, 1.46), Shannon sabiti (0.41, 0.41, 0.39) ve polimorfik lokus oranı (76.4, 79.1, 75.00) olarak bulunmuştur. Genetik çeşitliliği belirlemede kullanılan parametrelerden biri olan gözlenen heterozigotluk; tohum bahçelerinde 0.27, ağaçlandırmalarda 0.25 ve tohum meşcerelerinde 0.24 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak tüm grupların yakın değerlere sahip olduğu görülmüştür.

Tohum meşcereleri arasındaki farklılaşmayı gösteren ortalama F_{ST} değeri (0.11), genetik çeşitliliğin önemli miktarının (% 89) popülasyonlar içinde olduğunu göstermiştir. Ancak, popülasyonlar arasında da önemli ölçüde (% 11) genetik farklılaşma olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, çalışılan kızılçam tohum kaynaklarında yüksek genetik çeşitlilik tespit edilmiştir. Doğal meşcerelerdeki genetik yapının tohum bahçelerine ve ağaçlandırmalara aktarılabilirdiği görülmüştür. Ayrıca tohum bahçesi tesisinde kullanılan plus ağaç sayısının (25-30) genetik çeşitliliği korumada yeterli olduğu görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Kızılçam, *Pinus brutia* Ten., RAPD, Genetik Çeşitlilik, Tohum Meşceresi, Tohum Bahçesi, Ağaçlandırma.

ABSTRACT

In this study, Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers were used to determine the magnitude and pattern of genetic variation existing in seed stands, seed orchards and plantations of Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.). For this purpose, populations were determined from 6 natural seed stands and their seed orchards and plantations for each tree-breeding zone of Turkish red pine as indicated in National Tree Breeding and Seed Production Program.

Twelve primers generated 86 polymorphic loci. The mean proportion of polymorphic loci was 77 %, implying high level of variability in the studied Turkish red pine populations. Genetic diversity parameters for seed stands, seed orchards and plantations; mean number of alleles/locus was 1.76, 1.79, 1.75; effective allele number was 1.48, 1.47, 1.46; Shannon's information index was 0.41, 0.41, 0.39; proportion of polymorphic loci was 76.4, 79.1, 75.00. Observed heterozygosity, one of the indicators of genetic diversity was identical for all groups as seed stands (0.24), in seed orchards (0.27) and plantations (0.25). Results have revealed that all groups had similar diversity values.

Mean F_{ST} value (0.11) of seed stands indicated that vast majority (89 %) of genetic diversity contained within populations. Nevertheless, genetic differentiation among populations was considerable (11 %).

These results suggest that studied natural Turkish red pine seed sources have high level of genetic diversity and variation in seed stands have transferred successfully into seed orchards and plantations. Moreover, number of clones (25-30) used in seed orchards are enough for maintaining high levels of variation.

Key words: Turkish Red Pine, *Pinus brutia* Ten., RAPD, Genetic Variation, Seed Stand, Seed Orchard, Plantation.

1. GİRİŞ

Ülkemizde yaklaşık 4 milyon hektar yayılışa sahip olan kızılçam (*Pinus brutia* Ten.), orman alanlarımızın % 20'sini kaplamakta ve ağaçlandırma çalışmalarında kullanım açısından birinci sırada gelmektedir (ANONİM 2001). Kızılçam ülkemizin hızlı gelişen ağaç türü olmasının yanında (USTA 1991; ERKAN 1995), doğal yayılış alanında farklı yetiştirme ortamlarına uyum sağlamış popülasyonlarına rastlanmaktadır (IŞIK 1986). Bu nedenlerden dolayı, kızılçam hem "Türkiye Milli Ağaç Islahı ve Tohum Üretim Programı" (KOSKI ve ANTOLA 1994), hem de "Türkiye Bitki Genetik Çeşitliliğinin Yerinde Korunması Ulusal Planı" (KAYA ve ark. 1998)'nda belirtilen hedef türlerin başında gelmektedir.

Çeşitli orman işletme etkinliklerinin (ıslah, ağaçlandırma vb.) kızılçamları yeni tesis edilen ormanların genetik yapısını nasıl ve ne yönde etkilediği, sürdürülebilir ormancılık için bu türün gen kaynaklarını nasıl korumamız gerektiğini yönlendirecek çalışmalar henüz ülkemizde yapılmamıştır. Bu tür çalışmaların eksikliği; gerek ıslah çalışmalarında, gerekse gen kaynaklarını koruma çalışmalarında etkin yöntem ve program belirlemeyi güçleştirmektedir (CONKLE 1980). Gerek ıslah, gerekse koruma çalışmaları açısından doğal popülasyonların genetik yapısının belirlenmesi önem taşımaktadır (CONKLE 1980; LEDIG 1986).

Islah çalışmaları açısından genetik çeşitliliğinin yüksek olması tercih edilir. Çünkü genetik tabanı geniş popülasyonlarla başlanan ıslah çalışmalarının başarıya ulaşma şansı daha yüksek olacaktır. Genetik çeşitliliği yüksek olan türler ve ırklar, zamana ve yere göre değişen çevre koşullarına uyum gösterme yeteneğine daha fazla sahiptirler. Eğer popülasyonlarda bu değişime uyum sağlayabilecek farklı genotipler varsa, bir sonraki kuşak bu genotiplerin döllerinden oluşacaktır. Ayrıca genetik çeşitliliği yüksek olan türler ve ırklar, bilimsel ve teknolojik gelişmelere bağlı olarak değişen insan isteklerini karşılamada daha etkili ve yararlı olurlar (IŞIK 1996). Genetik çeşitliliğin fazla olması, popülasyonun hastalıklara, aşırı iklim değişikliklerine ve diğer çevre şartlarına dayanıklı genotipler bulundurarak neslini devam ettirmesini sağlamaktadır.

Tür içi genetik çeşitliliğin yüksekliği, değişen çevre şartlarına uyum açısından bir güvencedir. Tür içinde genetik çeşitliliğin yapılanması, yapılacak seleksiyonun şeklini belirlemek açısından önem taşımaktadır. Popülasyonlar arasında genetik çeşitliliğin fazla olması halinde popülasyon seleksiyonu ile, genetik çeşitliliğin popülasyon içinde fazla olması halinde ise; birey ve aile seleksiyonu önemli hale gelir. Ayrıca her iki durumda da genetikçilerin kendi amaçlarına uygun popülasyonları ve genotipleri seçme

şansı da o oranda artacaktır. Bu nedenle genetik çeşitlilikle ilgili araştırmalar orman ağaçları ıslahı programlarında öncelikli çalışma konuları arasındadır. Orman ağacı ıslahında yeterli önlem alınmadığı takdirde, genetik çeşitliliği azaltabilecek bir çok aşama bulunmaktadır. Bunlar seleksiyon, tohum ve fidan üretim aşamalarıdır (El-KASSABY 1995; EL-KASSABY ve NAMKOONG 1995). Ağaç ıslah çalışmalarının ilk aşamalarında doğal meşcerelerde bulunan ağaçlardan çokazı plus ağaç olarak seçilmektedir. Yapılan örnekleme yönteminin belli karakterlere yönelmesi sonucu çok sayıda birey tohum bahçelerine dahil edilmemektedir. Dolayısıyla bu işlemin sonunda varyasyonda bir azalma beklenmektedir. Bu nedenle, gelecekte olabilecek problemleri belirleyip engelleyebilmek için, orman ağacı popülasyonlarının genetik yapısında oluşabilecek istemsiz değişmelerin şeklinin ve miktarının ıslahın ilk safhalarında belirlenmesi gereklidir.

Gen kaynaklarının korunmasında ve ıslah çalışmalarında izlenecek stratejilerin oluşturulmasında ilk basamak olan genetik çeşitliliğin belirlenmesinde moleküler belirteçler önemli bir araçtır. Doğrudan genler veya ürünleri hakkında bilgi edinmek için RFLP, RAPD, AFLP, SSR vb. moleküler belirteçler kullanılmaktadır. Bunlar arasında RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA-Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) belirteçleri PCR teknolojisinden yararlanan bir tekniktir. Bu teknikte tek bir baz değişikliği dahil olmak üzere farklı seviyelerdeki DNA çeşitlilikleri tespit edilebilmektedir. Rasgele belirlenmiş baz dizisine sahip tek primer kullanılarak uygulanan teknikte genom üzerinde araştırmacı tarafından dizisi bilinmeyen birçok gen çoğaltılabilmekte ve farklı bireylere özgü DNA profilleri ortaya çıkmaktadır. Bu metot hızı, teknik kolaylığı ve belirlenen polimorfizmlerin sık olması gibi avantajlarından dolayı insanlarda, hayvanlarda ve bitkilerde farklı birey ve türlerin genotiplerinin belirlenmesinde kullanılmıştır (QUIROS ve ark. 1991). Genellikle dominant özelliğe sahip olan RAPD belirteçleri ibreli megagametofit dokularının haploid yapıya sahip olmasından dolayı ana ağacın heterozigotluk ve homozigotluk ayırımına olanak vermekte ve dolayısıyla koniferlerde kodominant analizini mümkün kılmaktadır.

Bu çalışmayla, doğal kızılçam meşcerelerinde bulunan genetik çeşitliliğin ne kadarının ormancılık etkinlikleriyle tesis edilen kızılçam ormanlarına aktarılabildiği, mevcut tohum meşceresi büyüklüğünün ve tohum bahçelerindeki klon sayısının ağaçlandırma alanlarının yapısını nasıl etkilediği ve gen koruma çalışmalarının stratejisi üzerine bilgi edinilmesi hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Kızılçam halepçamı ile doğal olarak hibritleşebildiği için, bazı taksonomistler tarafından halepçamının varyetesi olarak kabul edilmekteydi (DUFFIELD 1952). Pek çok araştırmacı bu türlerin doğal hibritlerini bildirmişlerdir (PAPAJOANNOU 1936; PAPAJOANNOU 1954; PANETSOS 1975; YALTIRIK ve BOYDAK 1993). Ancak daha sonra yapılan pek çok araştırmayla (morfolojik parametreler, karyotip analizi, izoenzimler vb.) bu iki türün ayrı türler olduğu kanıtlanmıştır (SAYLOR 1964; DEBAZAC ve TOMASSONE 1965; CONKLE ve ark. 1988; KAMMACHER ve ZYGOMOLA 1989; GONCHARENKO ve ark. 1998; BUCCI ve ark. 1998; MORGANTE ve ark. 1998).

Kızılçamın Türkiye'deki yayılış alanı içerisinde form ve yetiştirme özellikleri açısından pek çok araştırma yapılmıştır (SELİK 1958; ARBEZ 1974; IŞIK 1986; IŞIK ve ark. 1987). Ülkemizde bu türün bazı karakterler bakımından değişik alanlardaki tür içi çeşitlilik miktarını ve dağılımını belirlemek ve performanslarını test etmek için ilk denemeler Güney Bölgelerimizde kurulmuş (IŞIK 1986; IŞIK ve ark. 1987) ve daha sonraları bu denemeler üzerinde değişik çalışmalar yapılmıştır (IŞIK ve ark. 1999; IŞIK ve IŞIK 1999).

IŞIK (1983, 1986) tarafından yapılan araştırmalarda, Toroslarda farklı rakımlarda yer alan populasyonlar 16 morfolojik karakter bakımından incelenmiş ve sonuç olarak lokal adaptasyona sahip populasyonlar olduğu görülmüştür. IŞIK ve KARA (1997) tarafından yapılan çalışmada izoenzim seviyesinde kızılçamın yükseltiye bağlı olarak genetik çeşitliliğinin değiştiği ve orta zonda (500-900m) yer alan populasyonlarda toplam genetik çeşitliliğin daha fazla olduğu belirtilmiştir. Diğer bir çalışmada, 6 populasyona ait bireyler 13 ve 17 yaşlarında aralanmış ve sonuç olarak büyüme, kalite ve biyokütle özellikleri bakımından aileler arası ve populasyonlar içi genetik eşitliliğin yüksek olduğu belirlenmiştir (IŞIK ve ark. 1999).

Son yıllarda izoenzim analizi ve DNA teknolojisinin gelişmesiyle birlikte pek çok orman ağacının genetik yapıları çalışılmıştır (COPES ve BECKWITH 1977; DEVEY ve ark. 1991; EASTMAN ve ark. 1991; BESSE ve ark. 1993; YEH ve ark. 1995; NKONGOLO 1999). Ülkemizde ise kızılçamda yapılan izoenzim çalışmaları bulunmaktadır.

Antalya'daki dokuz kızılçam populasyonunda yapılan izoenzim çalışmasında ortalama polimorfik lokus oranının % 67.65 olduğu ve toplam genetik çeşitliliğin % 5.3'ünün populasyonlar arası farklılaşmadan kaynaklandığı tespit edilmiştir (KARA 1996).

Kazdağı yöresi doğal kızılçamlarında yapılan çalışmada ortalama polimorfik lokus oranı % 86.51, Nei'nin genetik mesafe katsayısı ortalama 0.0139 olduğu, genetik çeşitliliğin % 97.2'sinin populasyon içinden kaynaklandığı görülmüştür (DOĞAN 1997). GÜLBABA ve ÖZKURT (1998) ise; Bolkar Dağları doğal kızılçam populasyonlarındaki genetik çeşitliliğin büyük oranda populasyon içinde olduğunu (% 97.6), polimorfik lokus oranını % 61.9 olarak bulmuşlardır.

RAPD (Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) analizi PCR teknolojisinden yararlanılan bir moleküler belirteç tekniğidir (WILLIAMS ve ark. 1990). Bu belirteç, genetik çeşitlilik belirlemede, ıslah ve koruma stratejilerinin oluşturulmasında oldukça sık kullanılmaktadır (KAZAN ve ark. 1993; RUSSEL ve ark. 1993; CHALMERS ve ark. 1994; KEIL ve GRIFFIN 1994; NESBITT ve ark. 1995; ROSETTO ve ark. 1995). Ülkemizde de moleküler belirteçler yardımıyla yapılan orman genetiği çalışmaları bulunmaktadır.

KAYA ve NEALE (1995), RAPD belirteçlerinin kızılçam türünde kullanılabilirliğini araştırdıkları çalışmada 40 primer deneyerek, bunların % 82'sinin çalıştığını ve ortalama polimorfik lokus oranını % 41.6 bulmuşlardır.

LİSE (2000), Akdeniz Bölgesindeki altı kızılçam populasyonunda RAPD çalışarak polimorfik lokus oranını % 86.29, toplam genetik çeşitliliğin % 91.45'inin populasyonlar içinde olduğunu bulmuştur. Aynı populasyonlarla yapılan SSR çalışmasında polimorfik lokus oranı % 95.9, toplam genetik çeşitliliğin % 96.3'nün populasyonlar içinde olduğu bulunmuştur (ÖZEL 2001). Bu iki çalışmada da yüksek oranda heterozigotluk tespit edilmiştir (% 28-29). Aynı populasyonlarla kuraklık ve soğuk stresi ile bağlantılı olarak fizyolojik ve morfolojik 17 karakterle yapılan çalışmada populasyonlardan kaynaklanan varyasyon % 0-45, aileden kaynaklanan varyasyon ise % 4-23 arasında değişmiştir (KANDEMİR 2002).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi

Türkiye Milli Ağaç Islahı ve Tohum Üretim Programı (KOSKI ve ANTOLA 1994) kapsamında belirlenen 6 kızılçam ıslah zonundaki birer tohum meşçeresi ve bu meşçerelerden seçilen plus ağaçlarla kurulmuş olan 6 adet tohum bahçesi ile yine bu tohum meşçerelerinden sağlanan tohumlarla kurulan 6 kızılçam ağaçlandırmasında çalışılmıştır (Çizelge 1). Örneklenen populasyonların konumları (Şekil 1) ve tanımları (Çizelge 2, 3 ve 4) aşağıda verilmiştir. Belirlenen TM, TB ve ağaçlandırmaların herbiri populasyon olarak nitelendirilmiştir.

Belirtilen populasyonların her birinden 100 m aralıkla rastlantısal olarak 25 bireyden açık tozlaşma ürünü tohumlar toplanmıştır. Kozalaklar ağaçların 1/3'lük tepe bölümünden toplanmıştır. Tohum bahçelerinde ise, 25'er klondan örnekleme yapılmıştır. On sekiz populasyonun her birinden 25'er aile olmak üzere toplam 450 ağaçtan kozalak toplanmıştır. Sonuç olarak toplam 2700 örnekle çalışılmıştır (18 populasyon x 25 aile x 6 örnek).

Her ağaç numaralandırılmış ve toplanan kozalaklar her ağaç için ayrı bir torbaya konulmuştur. Tohumlar Kızılcahamam tohum çıkarma evinde Sıcak Oda Metoduyla elde edilmiştir.

Çizelge 1. Çalışılan Tohum Meşçeresi, Tohum Bahçesi ve Ağaçlandırmalar

Table 1. Studied Seed Stands, Seed Orchards and Plantations

Tohum Meşçeresi Ulusal Kayıt No Seed stands	Tohum Bahçesi Kuruluş Yeri ve Ulusal Kayıt No Seed orchards	Ağaçlandırmanın Or. İşl. Şefliği ve Bölme No Plantations	Islah zonu Breeding zone
Marmaris-Çetibeli (34)	Muğla-Gökova (31)	Gökova (80-81)	2-1
Pos-Karsantı (2)	Adana-Kadirli (6)	Osmaniye (140)	1-2
Muğla-Yaraş (35)	Muğla-Ula (14)	Muğla (209-210)	2-2
Kaş-Lengüme (9)	Muğla-Kemer (13)	Lengüme (192)	1-3
Kumluca-Kumluca (39)	Antalya-Antalya (11)	Finike (327)	1-1
Bayramıç-Karaköy (18)	Balıkesir-Bandırma (32)	Lapseki (20)	3-1

Çizelge 2. Çalışılan Tohum Meşcerelerinin (TM) Tanıtımı

Table 2. Description of the Studied Seed Stands

Tohum Meşceresi No ve kodu Seed Stand and Code	Bölge Müdürlüğü Region	İşletme Müdürlüğü District	İşletme Şefliği Subdistrict	Rakım (m) Altitude (m)	Enlem Latitude	Boylam Longitude
Çetibeli TM-34 (1)	Muğla	Marmaris	Çetibeli	60	37°02'30	28°16'20
Karsantı TM-2 (2)	Adana	Pos	Karsantı	735	37°34'30	35°24'00
Yaraş TM-35 (3)	Muğla	Muğla	Yaraş	750	37°06'30	28°32'45
Lengüme TM-9 (4)	Antalya	Kaş	Lengüme	1050	36°24'30	29°30'00
Kumluca TM-39 (5)	Antalya	Kumluca	Kumluca	250	36°26'20	30°15'45
Karaköy TM-18 (6)	Çanakkale	Bayramiç	Karaköy	450	39°50'00	26°55'30

Çizelge 3. Çalışılan Tohum Bahçelerinin (TB) Tanıtımı

Table 3. Description of the Studied Seed Orchards

Tohum Bahçesi No ve kodu Seed Orchard No and Code	Orijini Provenance	Bölge Müdürlüğü Region	İşletme Müdürlüğü District	Enlem Latitude	Boylam Longitude	Klon Sayısı #of Clones
Çetibeli TB-31 (1)	Çetibeli TM	Muğla	Ula	37°01'20	28°30'30	34
Karsantı TB-6 (2)	Karsantı TM	Adana	Kadirli	37°14'97	36°09'79	25
Yaraş TB-14 (3)	Yaraş TM	Muğla	Ula	37°08'30	28°23'20	26
Lengüme TB-13 (4)	Lengüme TM	Muğla	Kemer	36°56'30	29°18'30	30
Kumluca TB-11 (5)	Kumluca TM	Antalya	Antalya	36°52'20	30°37'00	25
Karaköy TB-32 (6)	Karaköy TM	Balıkesir	Bandırma	40°15'40	27°35'00	30

Çizelge 4. Çalışılan Ağaçlandırmaların (A) Tanıtımı

Table 4. Description of the Studied Plantations

Ağaçlandırma Alanı ve kodu Plantation and Code	Orijini Provenance	Bölge Müdürlüğü Region	İşletme Şefliği Subdistrict	Rakım (m) Altitude (m)	Enlem Latitude	Boylam Longitude
Çetibeli A (1)	Çetibeli TM	Muğla	Gökova	300	37°04'45	28°23'30
Karsantı A (2)	Karsantı TM	Adana	Osmaniye	250	37°32'10	35°17'00
Yaraş A (3)	Yaraş TM	Muğla	Muğla	600	37°13'00	28°21'00
Lengüme A(4)	Lengüme TM	Antalya	Lengüme	1100	36°23'30	29°27'30
Kumluca A (5)	Kumluca TM	Antalya	Finike	300	36°17'30	30°01'30
Karaköy A (6)	Karaköy TM	Çanakkale	Lapseki	500	40°22'30	26°50'00



Şekil 1. Çalışılan Populasyonların Konumları. (Kızılçamın İslah Zonları Romen Rakamıyla Gösterilmiştir. Populasyonları Tanımlayan Numaralar Çizelge 2, 3 ve 4'te verilmiştir.)
 Figure 1. Locations of the Studied Populations. (Roman Numerals Indicate the Breeding Zones of Turkish Red Pine. Refer to Tables 2, 3 and 4 for the Codes Used to Describe the Populations.)

3.2. DNA İzolasyonu

On sekiz populasyondaki 450 ailenin (populasyon başına 25 aile) her birinden 6 tohumun megagametofit dokuları ile DELLAPORTA ve ark. (1983) ve KREIKE'in (1990) metotlarının kombinasyonu kullanılarak DNA izolasyonu yapılmıştır. Kullanılan yöntem aşağıda özetlenmiştir.

Tohumlar +4°C'de 24 saat su içerisinde bekletildikten sonra kabukları çıkarılıp embriyosu atılmıştır. Çıkarılan megagametofit 400 µl özütleme tamponuyla 1.5 ml eppendorf tüplerinde ezilerek parçalanmıştır. 400 µl %2 SDS içeren özütleme tamponu eklendikten sonra, karışım 65°C'de 45 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 250 µl 2M'lık potasyum asetat eklenip karıştırılmış ve buz içinde en az 30 dakika bekletilmiştir. +4 °C'de 13000 rpm hızla 15 dakika santrifuj sonunda tüpün üst kısmında bulunan sıvı kısım temiz tüplere aktarılmış ve 500 µl kloroform:oktanol (24:1) ile karıştırılmıştır. +4 °C'de 10 dakika santifuj sonrasında üstte kalan sıvı tabaka temiz tüplere aktarılmıştır. Daha sonra DNA çöktürmesi için 800 µl saf etil alkol/0.3M sodyum asetat karışımı eklenmiş ve tüpler -80°C'de 30 dakika bekletilmiştir. Karışımın +4°C'de 13000 rpm hızla 15 dakika sentrifüjü sonrasında, üstte kalan sıvı tabaka dökülmüş ve DNA çökeltisi 400 µl buzda soğutulmuş % 70'lik etil alkol ile 2 kez yıkanmıştır. Etil alkol uçurularak DNA kurutulmuş ve 50 µl TE tamponunda (10 mM Tris, 1 mM EDTA pH 8.0) çözülmüştür. DNA örnekleri -80°C'de saklanmıştır.

3.3. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyonları CESARONE ve ark. (1979) fluometrik tahlil yöntemiyle belirlenmiştir. Megagametofit başına düşen DNA miktarları 500 ng ile 6000 ng arasında değişmiştir. PCR uygulamaları için DNA konsantrasyonları 3 ng/µl'ye seyreltilmiştir. Seyreltilmiş DNA örnekleri çalışma boyunca -4°C'de saklanmıştır.

3.4. RAPD Primerleri

Rasgele belirlenen 10 bazlı oligonukleotit primer zincirlerinin bilgileri British Columbia Üniversitesinden (BC, Kanada) alınmıştır. Rasgele belirlenen primer dizileri G+C içeriği % 60-70 olacak şekilde ve sonları birbirini tamamlamayacak şekilde sentezlenmiştir. Yaklaşık olarak 100 UBC primeri daha önce kızılçam için denenmiş çalışmadan yararlanılarak kullanılmıştır (LİSE 2000) . Bu çalışmada en yüksek sayıda polimorfik lokus veren primerler seçilerek, tek lokus segregasyon verisi elde etmek amacıyla 2700 örnek (18 populasyon x 25 aile x 6 örnek) 12 RAPD primeri (UBC-119, UBC-121, UBC-122, UBC-124, UBC-131, UBC-138, UBC-144, UBC-149, UBC-159, UBC-168, UBC-178, UBC-190) ile taranmıştır.

3.5. RAPD-PCR Koşullarının Optimizasyonu

KAYA ve NEALE (1995) tarafından belirlenen reaksiyon şartları modifiye edilerek, laboratuvar koşullarına adapte edilmiştir.

RAPD elementlerinin optimizasyonu için yapılan testler değişen DNA ve primer konsantrasyonlarını kapsamıştır. 25 µl reaksiyon hacmi başına 3, 6, 9, 12 ng DNA ve 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 7.0 pikomol primer konsantrasyonları test edilmiştir. Tween 20 ve Bovin Serum Albumin (BSA) etkisi de test edilmiştir. En iyi amplifikasyon ve temiz bantlar 6 pikomol primer, 6 ng DNA, 0.13 µl Tween-20 ve ng DNA başına 0.03 µg BSA ile elde edilmiştir. Optimum reaksiyon koşulları Çizelge 5'te verilmiştir.

Çizelge 5. RAPD Primerleriyle Optimize Edilmiş PCR Koşulları

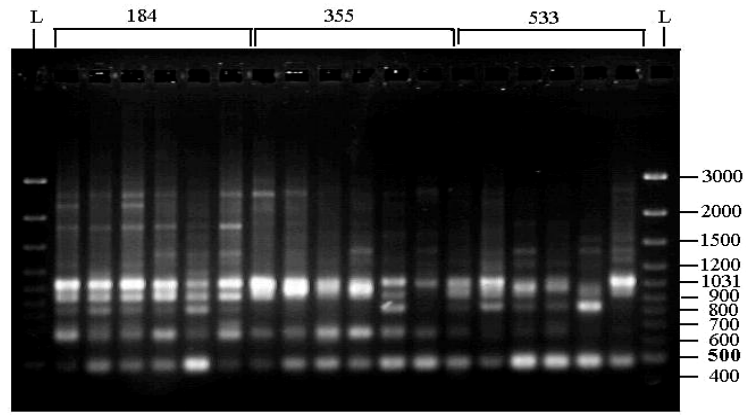
Table 5. Optimized PCR Conditions for RAPD Primers

Element Element	Kullanılan miktar (µl) Quantity used (µl)	Son konsantrasyon Final concentration
10x PCR tamponu	2.4	1x
dNTP karışımı (1.25 mM)	4	0.2 mM
MgCl ₂ (25 mM)	2.5	2.5 mM
Primer (1 pikomol/µl)	6.0	6 picomoles
<i>Taq</i> DNA polimeraz (5 u/µl)	0.2	1u
DNA (3 ng/µl)	2	6 ng
BSA (1.8 µg/µl)	1	1.8 µg
Tween 20	0.13	0.52 %
H ₂ O	6.77	
Toplam reaksiyon karışımı	25	

Çalışmada kızılçam için daha önceden optimize edilen PCR amplifikasyon döngüleri (KAYA ve NEALE 1995) kullanılmıştır:

Basamak	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
1	85°C	15 sn.	1
2	95°C	5 sn.	1
3	92°C	1 dk. 55 sn.	1
4	95°C	5 sn.	45
	92°C	55 sn.	
	37°C	1 dk.	
	72°C	2 dk.	
5	72°C	7 dk.	1

Elde edilen PCR ürünleri 2 µl, % 25'lik formamid yükleme boyasıyla karıştırılarak % 1.7'lik agaroz jellerinde görüntülenmiştir. Jeller 1xTAE (0.4 M Tris Asetat) tamponunda 80 Voltta 3 saat yürütüldükten sonra, 5 µg/ml'lik etidyum bromid solüsyonu ile 30 dakika boyandıktan sonra, fazla boyaları temizlemek için saf su içerisinde 10 dakika bekletilmiştir. UBC-144 primerleriyle elde edilen bantlar Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. 184 (Karaköy TM), 355 (Karaköy TB) ve 533 (Karaköy A) No'lu Ailelerin 6 Megagametofitinde UBC 144 Primeri ile Çoğaltılan RAPD Bantları. L: DNA Standardı

Figure 2. RAPD Fragments Amplified by the Primer UBC 144 in 6 Megagametophytes from 184th (Karaköy Seed Stand), 355th (Karaköy Seed Orchard), 533th (Karaköy Plantation) Families. Lane L is the DNA Standard

3.6. Jellerin Yorumlanması

Amplifikasyon ürünleri görsel olarak değerlendirilmiştir. Verilerin toplanması sırasında RAPD bantlarının büyüklüğünü belirlemek amacıyla 100 ile 3000 baz çifti arasında bantları içeren DNA standardı (GenerulerTM 100 base pair DNA ladder plus, MBI Fermentas, Litvanya) kullanılmıştır.

Her bir ağacın genotipi, her bir lokusta bulunan ve örneklenen 6 endospermdeki bantlardan çıkarılmıştır. Bir örnekte haploid RAPD bantının gözlenmesi durumunda 1 rakamı ve gözlenmemesi durumunda 0 rakamı kullanılmıştır. Haploid megagametofit örneklerinden elde edilen genotipler, 450 ağacın her biri için ve her bir lokus için diploid genotipe çevrilmiştir. Ağaçların genotipini belirlemek için; her bir lokus için bir bantın 6 örneğin hepsinde gözlenmesi durumunda baskın homozigot (AA), en az bir örnekte

olmaması durumunda heterozigot (AB) ve 6 örneğin hiçbirinde olmaması durumunda çekinik homozigot (BB) değerlendirmesi yapılmıştır (Çizelge 6).

Çizelge 6. Diploid Genotip Değerlendirmesi

Table 6. Diploid Genotype Scores

Toplam Örnek Sayısı Total Sample Size	Bant Gözlenen Örnek Sayısı Samples Having Band	Diploid Değerlendirme Diploid Score
6	6	AA
6	5	AB
6	4	AB
6	3	AB
6	2	AB
6	1	AB
6	0	BB

3.7. Veri Analizi

Veri toplama aşaması tamamlandıktan sonra, analiz programları için veri tabanları hazırlanmıştır. Etkili allel sayısı (A_e) ve gözlenen allel sayısı (A), beklenen heterozigotluk (H_e) ve gözlenen heterozigotluk (H_o), Shannon sabiti (I) ve polimorfik lokus oranları (P) POPGENE-Microsoft Window-based Freeware for Population Genetics Analysis (YEH ve ark. 1997) programı kullanılarak hesaplanmıştır. F-istatistiklerinin tahmini GENETIX 4.0 programı (BELKHİR ve ark. 1996-2001) ile yapılmıştır. POPULATIONS 1.0 programı (LANGELLA 2000) ile NEI (1972)'nin genetik mesafelerine göre yakın bağlantı ağaçları (neighbor-joining trees) oluşturulmuştur.

3.7.1. Allel Frekansları

Bant yapılarının belirlenmesinin ardından allel frekanslarının tahmini aşağıdaki formülle yapılmıştır:

$$f(A_i) = \hat{x}_i = \frac{(2N_{ii} + \sum_{j=1}^m N_{ij})}{2N}$$

Bu formüldeki

$f(A_i)$: herhangi bir allelin frekansı,

N : popülasyondaki birey sayısı,

N_{ii} ve N_{ij} : sırasıyla A_{ii} ve A_{ij} genotiplerinin sayısı,

m : bir lokustaki allel sayısını temsil etmektedir (NEI 1987).

3.7.2. Allel Sayısı

Genetik varyasyonun bir diğer göstergesi de lokus başına düşen allel sayısıdır (A). Allelik zenginlik olarak da anılan bu ölçüt örnek sayısından etkilenmektedir.

$$Ortalama(n_a) = \frac{\sum_i n_{a_i}}{r}$$

n_{a_i} : i lokusunun allel sayısı

r : lokus sayısıdır (NEI 1987).

3.7.3. Etkili Allel Sayısı

KIMURA ve CROW (1978) tarafından geliştirilen bu ölçüt homozigotluğun tersidir (devriğidir).

$$N_e = 1 / \sum x_i^2$$

n_e : etkili allel sayısı

x_i : i allelinin frekansısıdır.

3.7.4. Shannon Sabiti

Shannon sabiti her bir populasyondaki varyasyon düzeyini göstermektedir. Allel frekanslarına dayanılarak aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır. Her bir lokus için hesaplanıp, ortalaması alınarak tüm lokuslar için ortalama değeri bulunmaktadır.

$$H_0 = -\sum p_i \ln p_i$$

H_0 : Shannon sabiti

p_i : Allel frekansısıdır (LEWONTIN 1972; YEH ve ark. 1995).

3.7.5. Heterozigotluk

Bir populasyondaki genetik varyasyonun en yaygın kullanılan ölçütü heterozigotluktur. Bir lokusdaki beklenen heterozigotluğun (\hat{h}) tahmininde aşağıdaki formül kullanılmaktadır:

$$\hat{h} = \frac{2N \left(1 - \sum x_i^2 \right)}{2N - 1}$$

N : birey sayısı

X : allel frekansısıdır (NEI 1987).

3.7.6. Polimorfik Lokus Oranı

Bir çalışmada kullanılan örnek sayısı yeterince yüksekse, genetik varyasyon polimorfik lokus oranı ve ortalama heterozigotlukla tespit edilebilir.

En yaygın allelinin (x_i) frekansı 0.99 veya 0.95'e eşit veya az ise o lokusa polimorfik denmektedir. Bu çalışmada 0.99 kriteri kullanılmıştır.

Polimorfik lokus oranı (P) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$P = \frac{n_p}{r}$$

n_p : polimorfik lokus sayısı

r : lokus sayısıdır (NEI 1987).

3.7.7. F-İstatistiği

Heterozigotluk, soy içi eşleşmenin (*inbreeding*) 3 seviyede tepitinde kullanılmaktadır (NEI 1987).

F_{IS} her bir alt-populasyon içindeki fiksasyon endeksini yani her bir alt-populasyondaki heterozigotluğun Hardy-Weinberg dengesinden sapmasını göstermektedir. F_{IS} değeri -1 ile +1 arasında değişir. Negatif değerler heterozigotluk fazlalığına, pozitif değerler ise heterozigotluk azlığına işaretler.

$$F_{IS} = \frac{H_s - H_l}{H_s} = 1 - \frac{H_l}{H_s}$$

H_l = Bir populasyondaki bireyin gözlenen heterozigotluk değeri,

H_s = Bir populasyondaki bireyin beklenen heterozigotluk değeridir.

F_{IT} tüm populasyonlardaki fiksasyon endeksini yani tüm populasyonlardaki heterozigotluğun Hardy-Weinberg dengesinden sapmasını göstermektedir.

$$F_{IT} = \frac{H_T - H_l}{H_T} = 1 - \frac{H_l}{H_T}$$

H_T = Tüm populasyonlardaki bireyin beklenen heterozigotluk değeri.

F_{ST} ise populasyonlar arasındaki allel frekansları farklılıkları nedeniyle meydana gelen fiksasyon endeksindeki azalmayı göstermektedir. Ayrıca, populasyonlar arası genetik farklılaşmayı gösteren en kapsamlı ölçütlerden biridir. Daima 0 ile +1 arasında değişen pozitif değerler alır. F_{ST} değeri 0.05 ve daha azsa populasyon içi genetik farklılaşma ihmal edilebilir

düzeyde, 0.25'den büyükse ciddi ölçüde genetik farklılaşmadan söz edilebilir.

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$$

H_I aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$H_I = \frac{\sum_{j=1}^s \hat{h}_{o_j}}{s}$$

s : popülasyon sayısı

\hat{h}_{o_j} : j popülasyonundaki gözlenen heterozigotluk (Nei, 1987).

H_S aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$H_S = \frac{\sum_{j=1}^s \hat{h}_j}{s}$$

\hat{h}_j : j popülasyonundaki beklenen heterozigotluk değeridir (Nei, 1987).

H_T aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$H_T = 1 - \sum_i x_{ia}^2$$

x_{ia} : i allelinin tüm popülasyonlar için ortalama frekansdır (Nei, 1987).

Bu 3 endeks aşağıdaki şekilde ilişkilidir:

$$1 - F_{IT} = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$$

Ayrıca, F_{ST} kullanılarak popülasyonlar arasındaki gen akışı (N_m) aşağıdaki formülle hesaplanabilmektedir:

$$N_m = 0.25 (1 - F_{ST}) / F_{ST}$$

Her generasyonda 1 bireyin göçü genetik sürüklenmeden kaynaklanan genetik varyasyon azalmasını önleyecektir. Bu değer populasyon büyüklüğünden bağımsızdır. Eğer N_m değeri 1'den küçükse populasyonlar arası farklılaşma gözlenmektedir. (WRIGHT 1951).

3.7.8. Genetik Mesafe

Genetik mesafe populasyon (ya da tür) çiftleri arasındaki gen farklılıklarının büyüklüğüdür. Bu değerler genellikle geometrik uzaklıklarla analogdur, yani 0 mesafe değerinin "0" olması farklılık olmadığına işaret eder. Benzerlik (I) ve mesafe (D) değerleri birbirine komplementerdir ($I+D = 1$).

En fazla kullanılan genetik mesafe değeri Nei'nin Genetik Mesafesidir (NEI 1972).

$$I = \frac{J_{xy}}{(J_x J_y)^{1/2}}$$

$$J_{xy} = \sum_i^m x_i y_i \quad J_x = \sum_i^m x_i^2 \quad J_y = \sum_i^m y_i^2$$

I : x ve y populasyonlarının genetik benzerliğidir.

x_i ve y_i , i allelinin x ve y populasyonlarındaki frekanslarıdır.

Çalışılan tüm lokuslar için J_{xy} , J_x ve J_y toplanıp lokus sayısına bölünerek tüm alleller için ortalaması alınmaktadır. Elde edilen ortalama değerler (J'_{xy} , J'_x ve J'_y) genetik mesafe (D') ve benzerliğin tahmininde kullanılmaktadır.

$$I' = \frac{J'_{xy}}{(J'_x J'_y)^{1/2}} \quad D' = -\ln I'$$

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Populasyonların Genetik Yapıları

Çalışılan 12 primerde 233 polimorfik RAPD bantı gözlenmiştir. Elde edilen ham veri incelendiğinde, bazı bantların her populasyonda gözlenmediği ve frekanslarının çok düşük (<10 %) olduğu görülmüştür. Bu yüzden veri analizinden bu lokuslar ayıklanmış, 86 lokus analizde kullanılmıştır. Monomorfik lokus bulunamamıştır, çünkü kullanılan lokuslar 18 populasyondan en az birinde polimorfiktir. Her bir populasyondaki polimorfik bant sayısı farklılıklar göstermiştir. Polimorfik lokus sayısı tohum meşcerelerinde 62 ile 70, tohum bahçelerinde 64 ile 79 ve ağaçlandırmalarda 61 ile 68 arasında değişmiştir. Belirli bir populasyona özgün bir allele rastlanmamıştır.

4.2. Genetik Çeşitlilik

Populasyonların genetik çeşitliliğini belirlemede gözlenen (A) ve etkili allel sayısı (A_e), beklenen (H_e) ve gözlenen heterozigotluk (H_o), Shannon sabiti (I) ve polimorfik lokus oranı (P) gibi kriterler kullanılmıştır. Bulunan değerler Çizelge 7 ve Çizelge 8’de verilmiştir.

4.2.1. Allel Sayısı

Gözlenen ortalama allel sayısı (A) ve etkili allel sayısı (A_e), tohum meşceresi, tohum bahçesi ve ağaçlandırmalarda birbirine yakındır (Çizelge 7). Aynı orijinli meşcere, bahçe ve ağaçlandırmalarda da standart sapmalar göz önüne alındığında, belirgin bir farklılık yoktur. Bütün populasyonlar ve lokuslar için ortalama gözlenen allel sayısı 1.7 ± 0.42 ’dir. Bütün populasyonlar ve bütün lokuslar için ortalama etkili allel sayısı 1.48 ± 0.04 ’dür. Bu değer kızılçamda yapılan RAPD çalışmasında 1.48 (LİSE 2000), SSR çalışmasında ise 1.42 (ÖZEL 2001), DOĞAN (1997) ve GÜLBABA ve ÖZKURT (1998)’un izoenzim çalışmalarında 1.44 ve 1.4 olarak bulunmuştur. Bulunan ortalama etkili allel sayısı bu değerlerle uyumludur.

Asıl allel sayısı ya da gözlenen allel sayısı sadece bütün alleller aynı frekansta olduğu zaman etkili allel sayısına eşittir (KIMURA ve CROW 1978). Öldürücü genler etkili allel sayısına dahil edilmediği için, etkili allel sayısı gözlenen allel sayısından her zaman daha düşük olacaktır. Bu çalışmada da etkili allel sayısı değerleri gözlenen değerlerden düşük bulunmuştur.

4.2.2. Shannon Sabiti

Shannon sabiti (I) ortalaması tohum meşcereleri ve bahçeleri için 0.41 ağaçlandırmalar için 0.39 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 7). Bu değer; meşcerelerde 0.39-0.44, bahçelerde 0.37-0.50 arasında değişen değerler aldığı, ağaçlandırmalarda ise tüm popülasyonların aynı değerde (0.4) olduğu görülmüştür. Tüm orijinler karşılaştırıldığında, istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir. Bu değerler LİSE'nin (2000) RAPD çalışmasında (0.40) ve ÖZEL'in (2001) SSR çalışmasında (0.45) bulunan değerlere çok yakındır.

4.2.3. Heterozigotluk

Beklenen heterozigotluğun (H_e) meşcere (0.28±0.02), bahçe (0.28±0.02) ve ağaçlandırmalar (0.27±0.02) için ortalamaları birbirine çok yakındır (Çizelge 8). H_e 'nin tohum meşcerelerinde 0.27-0.31, tohum bahçelerinde 0.26-0.28 ve ağaçlandırmalarda 0.25-0.29 değerleri arasında değiştiği görülmüştür. Tüm sonuçlar karşılaştırıldığında, gruplar ve orjinler arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir.

Aynı şekilde, bahçe (0.27±0.02) ve ağaçlandırmaların (0.25±0.03) ortalama gözlenen heterozigotluk (H_o) değerlerinin de meşcerelerinkinden (0.24±0.02) farklı olmadığı görülmektedir. Gruplara bakıldığında H_o değerinin tohum meşcerelerinde 0.21-0.26, tohum bahçelerinde 0.25-0.29 ve ağaçlandırmalarda 0.21-0.28 değerleri arasında değiştiği görülmüştür. Tüm sonuçlar karşılaştırıldığında, gruplar ve orjinler arasında istatistiki açıdan anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir.

Çalışılan bütün popülasyonlarda beklenen heterozigotluk ortalaması 0.28, gözlenen heterozigotluk ortalaması 0.25'tir. Bulunan değerler kızılçamla yapılan RAPD (LİSE 2000) ve izoenzim çalışmalarında (CONKLE ve ark. 1988; KARA ve ark. 1997; DOĞAN 1997; GÜLBABA ve ÖZKURT 1998; PANETSOS ve ark. 1998) belirtilen değerlerle uyumludur. Bununla beraber, kızılçamda yapılan SSR çalışmasında (ÖZEL 2001) beklenen heterozigotluk 0.35 ve gözlenen heterozigotluk 0.28 bulunmuştur. Bu farklılık muhtemelen RAPD ve SSR belirteçlerinin farklı yapısından kaynaklanmaktadır.

4.2.4. Polimorfik Lokus Oranı

Ortalama polimorfik lokus oranı (0.99 kriterinde) tohum bahçelerinde % 79.1, tohum meşcereleri % 76.4 ve ağaçlandırmalara % 75 olarak bulunmuştur (Çizelge 8). Tohum bahçelerinde polimorfik lokus oranı tohum meşcereleri ve ağaçlandırmalara nazaran biraz daha yüksek görünmekle

birlikte anlamlı bir farklılıktan söz edilememektedir. Polimorfik lokus oranı tohum meşcerelerinde % 73.3-81.4 arasında iken, tohum bahçelerinde % 74.4-91.9 arasındadır. Bu aralık ağaçlandırmalarda daha dar olup, % 70.9-79.1 arasında değişmiştir. Polimorfik lokus oranında en belirgin farklılıklar Karaköy'de görülmüştür. Bu oran Karaköy TM'de % 76.4 iken, TB'de % 91.9'a yükselmiş ve A'da % 70.9'a düşmüştür. Bütün populasyonlar için bulunan ortalama değer % 77 olup, kızılçamda yüksek genetik çeşitliliğin göstergesidir.

Bu oran Akdeniz bölgesindeki altı kızılçam populasyonunda yapılan RAPD çalışmasında (LİSE 2000) % 86.29 ve SSR çalışmasında (ÖZEL 2001) % 95.97 olarak belirtilmiştir. İbrelilerle yapılan diğer RAPD çalışmalarında (ISABEL ve ark. 1995; SZMIDT ve ark. 1996; RAJORA 1999) polimorfik lokus oranı % 66.7-90.9 arasında olup, bu çalışmada bulunan sonuçlarla uyumludur. Kızılçamla yapılan izoenzim çalışmalarında ise polimorfik lokus oranı % 43 ile % 86 arasında değişmiştir (CONKLE ve ark. 1988; KARA ve ark. 1997; DOĞAN 1997; GÜLBABA ve ÖZKURT 1998; PANETSOS ve ark. 1998). Bu fark çalışılan belirteç sistemlerinin farklılığından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 7. Çalışılan Tohum Kaynaklarına Ait Ortalama Gözlenen Allel Sayısı (A), Ortalama Etkili Allel Sayısı (A_e), Shannon Sabiti (I) ve Standart Hataları

Table 7. Mean Number of Observed Alleles (N_a), Mean Number of Effective Alleles (N_e), Shannon's Information Index (I) and their Standart Errors for the Studied Populations

Populasyonlar Population	Tohum Meşcereleri Seed Stands			Tohum Bahçeleri Seed Orchards			Ağaçlandırmalar Plantations		
	A Na	A _e Ne	I I	A Na	A _e Ne	I I	A Na	A _e Ne	I I
Çetibeli	1.81±0.04	1.46±0.04	0.41±0.03	1.77±0.05	1.46±0.04	0.40±0.03	1.77±0.05	1.45±0.04	0.40±0.03
Karsantı	1.73±0.05	1.46±0.04	0.39±0.03	1.74±0.05	1.43±0.04	0.37±0.03	1.77±0.05	1.49±0.04	0.40±0.03
Yaraş	1.79±0.04	1.53±0.04	0.44±0.03	1.80±0.04	1.46±0.04	0.41±0.03	1.77±0.05	1.49±0.04	0.40±0.03
Lengüme	1.72±0.05	1.46±0.04	0.39±0.03	1.74±0.05	1.43±0.04	0.38±0.03	1.73±0.05	1.47±0.04	0.40±0.03
Kumluca	1.76±0.05	1.49±0.04	0.42±0.03	1.79±0.04	1.48±0.04	0.41±0.03	1.73±0.05	1.43±0.04	0.40±0.03
Karaköy	1.77±0.05	1.47±0.04	0.40±0.03	1.92±0.03	1.58±0.04	0.50±0.03	1.71±0.05	1.41±0.04	0.40±0.03
ORTALAMA	1.76±0.05	1.48±0.04	0.41±0.03	1.79±0.04	1.47±0.04	0.41±0.04	1.75±0.04	1.46±0.04	0.39±0.03

Çizelge 8. Çalışılan Tohum Kaynaklarına Ait Gözlenen Heterozigotluk (H_o), Beklenen Heterozigotluk (H_e), Polimorfik Lokus Oranı (P) ve Standart Hataları

Table 8. Estimated Observed Heterozygosity (H_o), Expected Heterozygosity (H_e), Proportion of Polymorphic Loci (P) and their Standart Errors for the Studied Populations

Populasyon Population	Tohum Meşcereleri Seed Stands			Tohum Bahçeleri Seed Orchards			Ağaçlandırmalar Plantations		
	H_o	H_e	% P	H_o	H_e	% P	H_o	H_e	% P
Çetibeli	0.21±0.02	0.28±0.02	81.4	0.26±0.03	0.27±0.02	76.7	0.24±0.03	0.27±0.02	76.7
Karsantı	0.24±0.03	0.27±0.02	73.3	0.25±0.03	0.27±0.02	74.4	0.28±0.03	0.29±0.02	76.7
Yaraş	0.26±0.03	0.31±0.02	79.1	0.29±0.03	0.26±0.02	80.2	0.25±0.03	0.29±0.02	79.1
Lengüme	0.23±0.02	0.27±0.02	72.1	0.27±0.03	0.28±0.02	74.4	0.27±0.03	0.27±0.03	73.3
Kumluca	0.25±0.03	0.29±0.02	75.6	0.27±0.03	0.26±0.02	79.1	0.25±0.03	0.26±0.02	73.3
Karaköy	0.24±0.02	0.28±0.02	76.7	0.29±0.03	0.28±0.02	91.9	0.21±0.02	0.25±0.02	70.9
ORTALAMA	0.24±0.03	0.28±0.02	76.4	0.27±0.03	0.28±0.02	79.1	0.25±0.03	0.27±0.02	75.0

4.3. F-İstatistiği

F_{IS} en yüksek değerini tohum meşcerelerinde (0.16, $P<0.001$), en düşük değerini ise tohum bahçelerinde (0.03, $p<0.01$) göstermiştir. Bütün F_{IS} değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bulunması, Hardy-Weinberg dengesinden sapmalar olduğunu göstermektedir. F_{IS} değerinin tohum bahçeleri ve ağaçlandırma alanlarında daha yüksek olması beklenebilir. Çünkü hem kozalak toplanan tohum ağaçları, hem de tohum bahçelerini oluşturan plus ağaçlar seleksiyon sonucu belirlenmektedir. Seleksiyon ve soy içi eşleşme Hardy-Weinberg dengesinden sapmaya neden olan ana nedenlerdendir. Bu durum, tohum meşcerelerinden tohum toplanmasında zengin tohum yılına rastlamasının bir sonucu da olabilir. Çünkü örnekler sadece toplama anında kozalak verenlerden yapıldığından, popülasyondaki panmiktik denge kırılmıştır. Ayrıca tohum bahçelerinde ve ağaçlandırmalar da gözlenen F_{IS} değerlerinin tohum meşcerelerinkinden düşük olması, tohum bahçelerinde ve ağaçlandırmalarda akrabalık ilişkisi olmayan ailelerin örneklenmesinden de kaynaklanmış olabilir. Bununla beraber tohum meşcereleri ve ağaçlandırmalara kıyasla tohum bahçelerinde genetik çeşitlilik, beklenen değerden çok büyük farklılık göstermemektedir. Özellikle Yaraş ve Lengüme tohum bahçelerinde, gözlenen heterozigotluğun beklenenden daha yüksek bulunması, tohum bahçesi ve ağaçlandırmalarda heterozigotluk lehine bir seleksiyon olduğunun kanıtı sayılabilir.

Çizelge 9. F-İstatistiği Sonuçları

Table 9. Summary of F-Statistics

	Örnek sayısı Sample size	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	Nm
Tohum meşcereleri Seed stands	300	0.16***	0.25***	0.11***	1.93
Tohum bahçeleri Seed orchards	300	0.03**	0.13***	0.10***	2.19
Ağaçlandırmalar Plantations	300	0.07***	0.17***	0.11***	2.06

(** $P<0.01$, *** $P<0.001$)

F_{IS} : Popülasyon içi fiksasyon indeksi (Fixation index within subpopulations)

F_{IT} : Tüm popülasyonlar için fiksasyon indeksi (Total fixation index)

F_{ST} : Popülasyonlar arası genetik çeşitlilik (Differences among populations)

Nm : Gen akışı katsayısı (Gene flow)

Populasyonların tümünde sapmaları gösteren F_{IT} değerinin tohum meşcerelerinde 0.25 ($P<0.001$) olması, çalışılan populasyonlarda homozigotluğun beklenenden yaklaşık % 25 fazla olduğuna işarettir. Tohum bahçeleri ve ağaçlandırmalarda bulunan F_{IT} değerleri tohum meşcerelerinkine göre daha düşüktür.

Bulunan F_{IS} ve F_{IT} değerleri, daha önce kızılçamla yapılan çalışmalarla uyumludur (KARA ve ark. 1997; DOĞAN 1997; GÜLBABA ve ÖZKURT 1998; PANETSOS ve ark. 1998; LİSE 2000). Homozigotların aşırılığı (heterozigotluk azlığı), genel olarak dışardan döllen türlerde, benzer genotipler arasındaki eşleşme veya örnekleme hatası gibi nedenlerden dolayı ileri gelmektedir (GURIES ve LEDIG 1981; DANCİK ve YEH 1983; KNOWLES 1991; LIU ve KNOWLES 1991; WANG ve MCDONALD 1992; SPROULE ve DANCİK 1996; THOMAS ve ark. 1999).

Tohum meşcerelerinin ortalama F_{ST} (0.11) olarak bulunmuş olup, bu değer genetik çeşitliliğin önemli bir kısmının (% 89) populasyonlar içinde olduğunu göstermektedir. Bu sonuç kızılçamla yapılan RAPD (LİSE 2000) ve izoenzim çalışmalarının (CONKLE ve ark. 1988; KARA ve ark. 1997; DOĞAN 1997; GÜLBABA ve ÖZKURT 1998; PANETSOS ve ark. 1998) sonuçlarına paraleldir. Populasyonlar içindeki genetik çeşitliliğin yüksek olması, rüzgarla dölenen ve kesintisiz yayılış gösteren orman ağaçlarının temel özelliğidir. Örneğin bir çok orman ağacı türünde, özellikle de geniş yayılış alanı olanlarda, toplam genetik farklılaşmanın % 2 ile % 16'sının populasyon arası farklılıklardan kaynaklandığı belirtilmiştir (MORAN ve HOPPER 1987). Bu çalışmada da tohum meşcereleri arasındaki farklılaşma % 11 olarak hesaplanmıştır. Populasyonlar içi genetik farklılaşmanın populasyonlar arası farklılaşmaya oranla oldukça yüksek olmasına rağmen, bu çalışmada bulunan F_{ST} değeri (0.11) daha önceki kızılçam çalışmalarına göre (0.028-0.085) yüksektir. Bu da örneklenen populasyonların önceki çalışmaların aksine farklı bölgelerden seçilmesinden ve coğrafik uzaklıklarının fazla olmasından kaynaklanabilir çünkü populasyonlar arasındaki mesafe arttıkça, gen akışı azalmaktadır (PARKER ve ark. 1997).

Populasyonlar arasında gen akışını gösteren N_m değerleri meşcerelerde (1.93), tohum bahçelerinde (2.19) ve ağaçlandırmalarda (2.06) belirgin farklılıklar göstermemiştir. Bu üç kategoride de N_m değerinin 1'den yüksek olması populasyonlar arasında çeşitlilik ve allel frekansları açısından önemli farklılıklar olmadığını belirtmektedir. Dış döllek bitkiler için ortalama N_m ise 4.75'tir (HAMRICK 1989).

4.4. Populasyonlar Arasında Genetik Mesafe

Populasyonların genetik olarak uzaklıklarını belirlemek için NEI (1972)'nin standart genetik mesafe değeri kullanılmıştır. Tohum meşcereleri,

tohum bahçeleri ve ağaçlandırmaların genetik mesafe değerleri sırası ile Çizelge 10, 11 ve 12’de verilmiştir.

Genetik mesafe değerleri; tohum meşcerelerinde 0.026-0.102, tohum bahçelerinde 0.038-0.075 ve ağaçlandırmalarda 0.037-0.085 arasında değişmiştir. Kızılçamla daha önce yapılan çalışmalarda ise 0.001-0.057 arasında değerler verilmiştir (KARA ve ark. 1997; DOĞAN 1997; GÜLBABA ve ÖZKURT 1998; PANETSOS ve ark. 1998; LİSE 2000). Elde edilen genetik mesafe değerlerinin önceki çalışmalara göre yüksek değerler olması, populasyonların coğrafik mesafelerinin önceki çalışmalara göre uzak olmasından ve populasyonların farklı bölgelerden örneklenmesinden kaynaklanmaktadır. Genetik mesafe değerlerinin de yüksek bulunması, populasyonlar arası genetik çeşitliliğin de diğer çalışmalara göre yüksek bulunması ile desteklenmektedir.

T.M’ler arasında genetik olarak birbirine en yakın populasyonlar Kumluca ve Karaköy (0.026); T.B’ler arasında Karsanti ve Yaraş (0.038); A.’lar arasında ise Lengüme ve Yaraş (0.037)’tir.

Çizelge 10. Tohum Meşcerelerinin Genetik Mesafe Değerleri

Table 10. Genetic Distance Values of Seed Stands

	Çetibeli	Karsanti	Yaraş	Lengüme	Kumluca	Karaköy
Çetibeli	****					
Karsanti	0.088	****				
Yaraş	0.102	0.045	****			
Lengüme	0.086	0.062	0.048	****		
Kumluca	0.063	0.050	0.062	0.040	****	
Karaköy	0.080	0.058	0.054	0.050	0.026	****

Çizelge 11. Tohum Bahçelerinin Genetik Mesafe Değerleri

Table 11. Genetic Distance Values of Seed Orchards

	Çetibeli	Karsanti	Yaraş	Lengüme	Kumluca	Karaköy
Çetibeli	****					
Karsanti	0.050	****				
Yaraş	0.047	0.038	****			
Lengüme	0.047	0.054	0.048	****		
Kumluca	0.048	0.055	0.058	0.049	****	
Karaköy	0.047	0.075	0.060	0.048	0.064	****

Çizelge 12. Ağaçlandırmaların Genetik Mesafe Değerleri

Table 12. Genetic Distance Values of Plantations

	Çetibeli	Karsantı	Yaraş	Lengüme	Kumluca	Karaköy
Çetibeli	****					
Karsantı	0.061	****				
Yaraş	0.085	0.047	****			
Lengüme	0.067	0.050	0.037	****		
Kumluca	0.071	0.051	0.054	0.040	****	
Karaköy	0.052	0.064	0.047	0.041	0.038	****

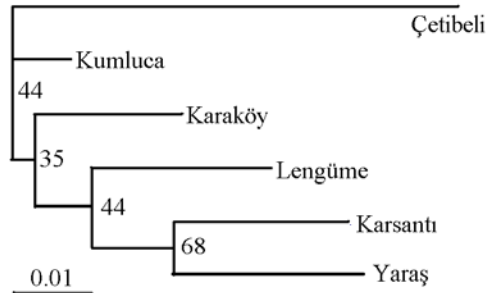
Ayrıca populasyonlar arasındaki genetik ilişkileri görebilmek için NEI (1972)'nin standart genetik mesafeleriyle dendrogramlar (Metod: Neighbor-joining) oluşturulmuştur (Şekil 3). Dendrogramlarda her bir ayrımın yanındaki değerler yüzde olarak o bölünmenin güvenilirliğini gösterir. Bu değerler düşük (% 90'ın altında) olduğu için dendrogramlardaki kümeleşmeler çok kesin olarak belirmemiştir.

Tohum meşcerelerinin dendrogramına (Şekil 3A) göre populasyonlar üç ana kola ayrılmıştır. Birinci kolda Çetibeli, ikinci kolda Kumluca populasyonu görülmektedir. Üçüncü kol ise kendi arasında tekrar ikiye ayrılmış bir kolda Karaköy populasyonunu, ikinci kolda ise Lengüme, Karsantı ve Yaraş populasyonlarını içermiştir.

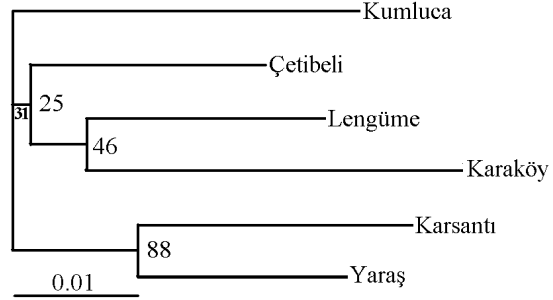
Tohum bahçelerinin (Şekil 3B) dendrogramında populasyonlar üç ana kola ayrılmıştır. İlk kolda Kumluca, ikinci kolda Çetibeli, Lengüme, Karaköy ve üçüncü kolda da Karsantı ve Yaraş yer almaktadır.

Ağaçlandırmaların (Şekil 3C) dendrogramında da populasyonlar üç ana kola ayrılmıştır. Birinci kolda Kumluca, ikinci kolda Karsantı, Yaraş, Lengüme, ve üçüncü kolda Çetibeli ve Karaköy yer almaktadır.

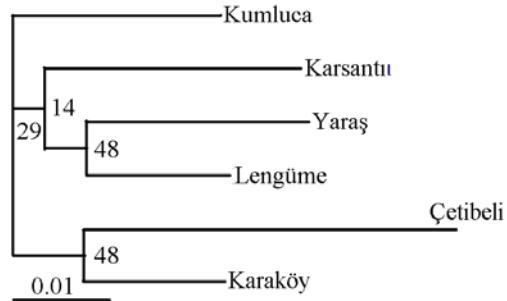
A) Tohum meşcereleri



B) Tohum bahçeleri



C) Ağaçlandırmalar



Şekil 3. Tohum Meşceresi, Tohum Bahçesi ve Ağaçlandırmaların NEI'nin (1972) Standart Genetik Mesafeleriyle Oluşturulan Dendrogramları (Metod: Neighbor-Joining)

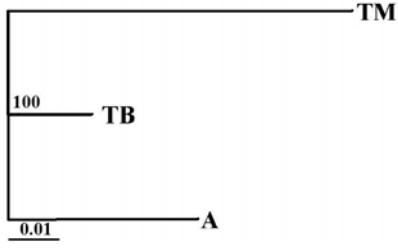
Figure 3. Dendrograms Based NEI's (1972) Standard Genetic Distance for Seed Stands (A), Seed Orchards (B) and Plantations (C) (Method: Neighbor Joining)

Farklı ıslah zonundaki meşcere, bahçe ve ağaçlandırmalar arasında orijin bazında da genetik mesafe değerleri hesaplanmış ve Çizelge 13'te verilmiştir. Bu mesafelere göre oluşturulan dendrogramlar da Şekil 4'te gösterilmektedir. Tohum meşcereleri ile bahçeler ve ağaçlandırmalar arasındaki genetik mesafe değerleri Kumluca ve Karaköy populasyonlarında oldukça düşük olup, genetik benzerliklerini göstermektedir. Çetibeli, Karsantı ve Lengüme dendrogramlarındaysa meşcerenin bahçe ve ağaçlandırmadan oldukça uzak kaldığı görülmektedir.

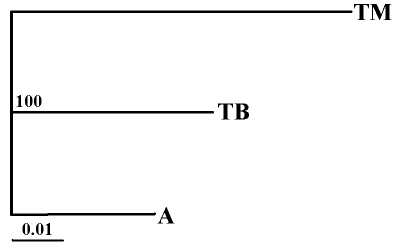
Çizelge 13. Altı Orijindeki Tohum Meşçeresi, Bahçesi ve Ağaçlandırmalar Arasındaki Genetik Mesafe Değerleri
Table 13. Genetic Distance for Seed Stand, Seed Orchard and Plantations at Each of the Six Origins

		TM	TB	A
Çetibeli	TM	****		
	TB	0.085	****	
	A	0.106	0.054	****
Karsantı	TM	****		
	TB	0.106	****	
	A	0.094	0.068	****
Yaraş	TM	****		
	TB	0.097	****	
	A	0.080	0.081	****
Lengüme	TM	****		
	TB	0.089	****	
	A	0.104	0.047	****
Kumluca	TM	****		
	TB	0.053	****	
	A	0.054	0.056	****
Karaköy	TM	****		
	TB	0.060	****	
	A	0.066	0.052	****

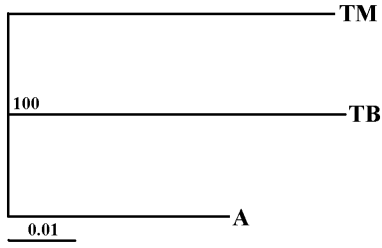
Çetibeli



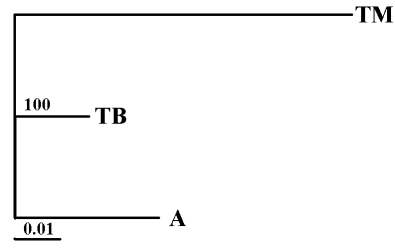
Karsantı



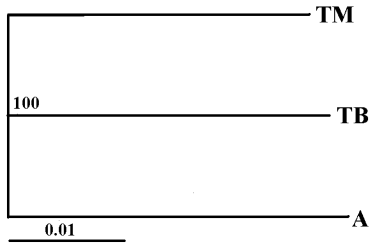
Yaraş



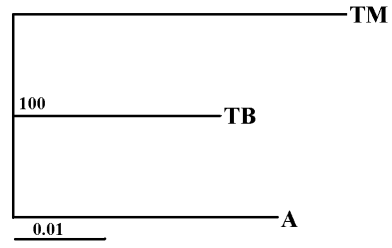
Lengüme



Kumluca



Karaköy



Şekil 4. Altı Orijinin Her birinde Tohum Meşceresi (TM), Tohum Bahçesi (TB) ve Ağaçlandırmanın (A) İlişkilerini Gösteren Dendrogramlar

Figure 4. Dendrograms Showing Relations of Seed Stand, Seed Orchard and Plantations at Each of the Six Origins

4.5. Populasyonların Genetik Çeşitliliğinin Karşılaştırılması

Tohum meşcereleri, tohum bahçeleri ve ağaçlandırmalar arasında genetik çeşitlilik parametreleri açısından belirgin farklılıklar bulunmamıştır. Sadece, polimorfik lokus yüzdesinde tohum bahçelerinde tohum meşcerelerine göre biraz artış gözlenmiştir. Ağaçlandırmalarda ise Çetibeli, Kumluca ve Karaköy’de polimorfik lokus yüzdesinde hafif bir azalma olmuştur. Tohum üretiminde olduğu gibi, fidan üretim teknikleri de genetik varyasyonu etkileyebilir. Bunlar biyolojik faktörler (tohumun uyku hali, çimlenme hızı) ve işletme etkinlikleri (aralama, menfi seleksiyon) olarak 2 grupta toplanabilir (STOEHR ve EL-KASSABY 1997). Sonuç olarak doğal kızılçam ormanlarında (tohum meşcerelerinde) bulunan genetik çeşitliliğin orman işletmecileri tarafından başarılı bir şekilde tohum bahçelerine ve ağaçlandırmalara aktarıldığı görülmektedir (Çizelge 7, 8).

Ağaç ıslahı programlarında seçimler, istenen fenotipik karakterlere göre yapıldığı için genetik tabanlarının daha dar olması beklenmektedir. Ancak, bu çalışmada fenotipik seçimle kızılçamın genetik çeşitliliğinin korunduğu, tohum bahçelerinde genetik tabanın daraltılmadığı ortaya çıkmıştır. Bu sonucu destekleyen, tohum bahçelerindeki genetik çeşitliliğin doğal populasyonlardaki kadar (veya daha fazla) yüksek olduğunu gösteren birçok çalışma vardır (KNOWLES 1985; CHAISURISRI ve EL-KASSABY 1994; EL-KASSABY ve RITLAND 1996; SCHMIDTLING ve HIPKINS 1998; ZHENG ve ENNOS 1999). Doğal populasyonlardan daha fazla örnekleme yapılmasına karşın, örnekleme nispeten daha dar bir alanla sınırlıdır, bu durumda ıslah amaçlı örneklenen ağaçlar, doğal populasyonlarda örneklenmeyen allelleri içerebilir (EL-KASSABY 1995). Bunlara karşın, *Picea glauca* ve *Pinus banksiana* fenotipik seçimlerinde düşük allel sayısı (CHELIAK ve ark. 1988; RAJORA 1999; GODT ve ark. 2001) ve *Picea glauca* x *engelmanni* tohum bahçesi klonlarında düşük allel sayısı ve düşük heterozigotluk (STOEHR ve EL-KASSABY 1997) bildirilmiştir. Gene de tarım bitkilerinde görülen genetik çeşitlilik azalmasının orman ağaçlarında görülmemesinin nedeni ibrelilerin halen ıslah döngüsünün başında olması ve sahip oldukları yüksek genetik çeşitlilik olabilir (HAMRICK ve GODT 1989).

Bu çalışmadaki sonuçlara paralel olarak *Pinus banksiana* ve *Picea mariana* tohum meşcerelerinde bulunan genetik çeşitliliğin ağaçlandırmalarda da muhafaza edildiği (KNOWLES 1985), *Picea abies* (GÖMÖRY 1992) ve *Picea glauca* (RAJORA 1999) ağaçlandırmalarında ise doğal meşcerelere göre genetik çeşitlilikte azalma olduğu belirtilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kızılçam populasyonlarında bulunan genetik çeşitliliğin miktar ve yapılanmasının RAPD analiziyle 86 polimorfik lokusta karşılaştırılması sonucunda tohum meşcerelerinde bulunan yüksek genetik çeşitliliğin, başarılı bir şekilde tohum bahçeleri ve ağaçlandırmalarına aktarıldığı görülmüştür. Genetik çeşitliliğin göstergelerinden biri olan gözlenen heterozigotluk (H_o); tohum meşcerelerinde 0.24, tohum bahçelerinde 0.27 ve ağaçlandırmalarda 0.25 olarak birbirine yakın bulunmuştur (Çizelge 8). Etkili allel sayıları da meşcere (1.48), bahçe (1.47) ve ağaçlandırmalar (1.46) arasında belirgin bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 7).

Diğer canlılara göre genel olarak orman ağaçlarında genetik çeşitlilik daha yüksek ve populasyonlar arasındaki farklılaşma da (genetik mesafe) daha düşüktür (HAMRICK ve GODT 1989). Populasyonların genetik çeşitliliği ve genetik yapısı evrimsel güçlerin ortaklaşa etkisiyle şekillenir, özellikle eşleşme (döllenme) sistemi, gen akımı ve doğal seleksiyon populasyonlar içerisindeki ve arasındaki genetik çeşitliliğin dağılımını etkileyen faktörlerdir (NEVO 1978; HAMRICK 1989). Bu çalışmada da genetik çeşitliliğin önemli miktarının populasyonlar içinde olduğu belirlenmiştir. Tohum meşcereleri ve ağaçlandırmaların populasyon içi genetik çeşitliliği % 89 ve tohum bahçelerinininki % 90 olarak belirlenmiştir (Çizelge 9). Uzun ömürlü, dış döller ve coğrafik olarak kesintisiz yayılış gösteren bitki türlerine ait populasyonlar, karakteristik olarak yüksek düzeyde populasyon içi genetik çeşitlilik taşır (BROWN 1978; LEDIG ve CONKLE 1983; CONKLE ve ark.1988; GIANNINI ve ark. 1991). Bu durum hem populasyon, hem de populasyon içi aile seleksiyonu ile önemli oranda genetik kazanç elde edilebileceğini göstermektedir. Populasyon içi genetik çeşitliliğin yüksek olması, kızılçamda toplam genetik çeşitliliğin yüksek olduğunu gösterir. Bu da kızılçamlı yapılacak ıslah çalışmalarında genetik kazancın fazla olacağını göstermektedir.

Islah ve *ex-situ* koruma çalışmalarında örnekleme stratejisinin başarısı, türün doğal populasyonlarında bulunan genetik çeşitliliğin büyük bir kısmının korunabilmesiyle ölçülür. Kızılçamda 30 klonla kurulan tohum bahçelerinin iyi birer *ex-situ* koruma sağladığı belirtilebilir. Genetik çeşitlilik ağaçlandırma çalışmalarında çok sayıda biyotik ve abiyotik zarara karşı bir güvencedir. Bu nedenle kurulacak tohum bahçelerinin 30 klondan daha aşağıya düşürülmesi, olası riskleri artırabileceğinden, ileride tohum bahçelerinde yapılacak genetik ayıklamalar oldukça düşük entasitede yapılması uygun olacaktır. Ancak bu klonların genetik üstünlüklerinin döl denemeleri ile de desteklenmesi gereklidir. Çünkü, döl denemeleri

sonrasında yapılacak aralamalar sonrasında gelecekte bu tohum bahçelerinde genetik çeşitlilik kaybı söz konusu olabilecektir. Dolayısıyla, bu çalışmanın sonuçlarının adaptif karakterlerle yapılacak çalışmalarla birlikte yorumlanması daha uygun olacaktır. Türkiye Milli Ağaç Islahı ve Tohum Üretimi Programı 1994-2003 (KOSKI ve ANTOLA 1994) doğrultusunda kızılçamın bir çok ıslah zonunda döl denemeleri başlatılmıştır.

Uzun ömürlü ve dış etkilere açık orman ağaçlarında üretim popülasyonlarında genetik çeşitliliğin yüksek olması temel bir zorunluluktur. Çünkü gelecekteki çevresel koşullarda değişme, biyolojik zararlılar bugünden bilinmemektedir ve bunlar ortaya çıktığında uzun hayat evrelerine sahip, soy içi eşleşme etkilerine hassas orman ağaçları bu değişen koşullara kolaylıkla adapte olamayabilirler (WEI 1995). Bu risklerin tahmin edilememesi nedeniyle genetik çeşitlilik önemli bir savunma mekanizması olarak değerlendirilmektedir (LEDIG 1988; LINDGREN 1993). Bu çalışmada genel olarak ağaçlandırmalarda doğal popülasyonlara yakın genetik çeşitlilik bulunmasına rağmen, ağaçlandırmaların polimorfik lokus oranında azalma olduğu da görülmektedir.

ÖZET

Kızılçam ıslahının erken safhalarında oluşabilecek genetik değişiklikleri kontrol etmek amacıyla tohum meşcereleri, tohum bahçeleri ve ağaçlandırmalarında bulunan genetik çeşitlilik RAPD belirteçleri kullanılarak belirlenmiştir.

Sonuçlar kızılçam populasyonlarının yüksek genetik çeşitliliğe sahip olduğunu göstermektedir. Lokus başına ortalama etkili allel sayısı 1.47 ve gözlenen heterozigotluk 0.25 olarak bulunmuştur. Ortalama polimorfik lokus oranı ise % 77'dir.

Genetik çeşitlilik yüksek oranlarda populasyonlar içindedir ve toplam genetik çeşitliliğin % 89'u populasyonlar içi farklılıklardan kaynaklanmaktadır.

Tohum meşcereleri ve tohum bahçelerindeki genetik çeşitlilik parametrelerinin karşılaştırılması, lokus başına gözlenen allel sayısı (A), etkili allel sayısı (A_e), Shannon sabiti (I), beklenen (H_e) ve gözlenen heterozigotluk (H_o) değerlerinin benzer olduğunu göstermiştir. Ayrıca, tohum bahçelerindeki ortalama polimorfik lokus oranının bu bahçelerin doğal karşılıklarından biraz daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, ıslahçılarca yapılan fenotipik seçimin, kızılçamda bilinen yüksek genetik çeşitliliği muhafaza ettiğini göstermiştir. Tohum bahçesi tesisinde kullanılan plus ağaç sayısının (25-30) yüksek seviyedeki genetik çeşitliliği korumada yeterli olduğu görülmektedir.

Tohum meşcereleri ve ağaçlandırmalar arasında genetik çeşitlilik parametreleri bakımından farklılık bulunmamıştır. Bu sonuçlara uymayan tek bulgu üç ağaçlandırmanın (Çetibeli, Kumluca ve Karaköy) polimorfik lokus oranında gözlenen azalmadır ve bunun da fidanlık uygulamalarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Tohum bahçelerinde bulunan genetik çeşitlilik ağaçlandırmalarda da korunmuştur.

Akrabalar arası dölleme katsayısı tohum bahçelerinde ($F_{IS}=0.03$) ve ağaçlandırmalarda ($F_{IS}=0.07$), tohum meşcerelerinkine ($F_{IS}=0.13$) göre daha düşüktür. Bu farklılık işletilen populasyonlarda bireysel heterozigotluğun daha yüksek seviyelere çıkmasından kaynaklanmaktadır.

Sonuç olarak, çalışılan tüm kızılçam populasyonlarında yüksek genetik çeşitlilik tespit edilmiştir. Bu da doğal kızılçam ormanlarındaki yapının tohum bahçelerine ve ağaçlandırmalara başarıyla aktarıldığını göstermektedir. Ancak sonuçlar adaptif karakterlerle yapılacak çalışmalarla da desteklenmelidir. Ayrıca tohum bahçesi tesisinde kullanılan plus ağaç sayısının (25-30) yüksek seviyedeki genetik çeşitliliği korumada yeterli olduğu görülmektedir.

SUMMARY

Genetic diversity of seed stands, seed orchards and plantations of Turkish red pine were determined by using RAPD markers to detect if genetic changes occur during early domestication of the species.

Genetic diversity in Turkish red pine populations was found to be generally high. Average values for mean number of effective alleles per locus and observed heterozygosity were 1.47 and 0.25, respectively. Average proportion of polymorphic loci was 77 %.

Genetic diversity analysis demonstrated that highest proportion of genetic diversity was within populations that is 89 %.

The comparison of genetic diversity parameters between the seed orchards and seed stands revealed identical values for number of observed alleles (N_a) per locus, number of effective alleles (N_e) per locus, Shannon's Information Index (I), observed (H_o) and expected heterozygosity (H_e). In addition, observed heterozygosity and the percentage of polymorphic loci were slightly higher in seed orchards than their natural counterparts. These results suggest that phenotypic selection practiced by Turkish foresters maintained the known high level of genetic variability of Turkish red pine. Number of plus tree clones (25-30 clones) used in the establishment of seed orchards was enough to maintain the high level of diversity in seed orchards.

There was no significant difference in genetic diversity parameters of seed stands and plantations. Only exception was the slight decrease in the proportion of polymorphic loci of three plantations (Çetibeli, Kumluca and Karaköy plantations) and could be attributed to nursery practices. Genetic diversity that resides in seed stands seemed to be successfully captured in plantations.

F_{IS} in seed orchards ($F_{IS}=0.03$, $P<0.01$) and plantations ($F_{IS}=0.07$, $P<0.001$) was lower than that of seed stands ($F_{IS}=0.13$, $P<0.001$). This difference resulted from a shift in the individual heterozygosity towards higher level in the managed seed sources.

These results suggested that studied natural Turkish red pine populations have high level of genetic diversity and variation in seed stands have successfully transferred to seed orchards and plantations. However, these results must be used in combination with adaptive trait studies. Moreover, number of clones (25-30) used in seed orchards is enough for maintaining high levels of variation.

KAYNAKÇA

- ANONİM 2001:** Ormancılık Özel İhtisas Komisyonu Raporu. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı. DPT Yayın No:2531-ÖİK:547. Ankara.
- ARBEZ, M. 1974:** Distribution, Ecology and Variation of *Pinus brutia* in Turkey. Forest Genetic Resources Information 3, FAO Rome:21-23.
- BELKHIR, K., BORSA, P., CHIKHI, L., GOUDET, J., BONHOMME, F. 1996-2001:** Genetix 4.00 Windows™ Software for Population Genetics. Laboratoire Genome, Populations, Interactions, University of Montpellier, France. <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm>.
- BESSE, P., LEBRUN, P., SEGUIN, M., LANAUD, C. 1993:** DNA Fingerprints In *Hevea Brasiliensis* (Rubber Tree) Using Human Minisatellite Probes. Heredity. 70: 237-244.
- BROWN, A.H.D. 1978:** Isozymes, Plant Population Genetic Structure and Genetic Conservation. Theor. Appl. Genet. 52: 145-157.
- BUCCI, G., ANZIDEI, M., MADAGHIELE, A., VENDRAMIN, G.G. 1998:** Detection of Haplotypic Variation and Natural Hybridization In *Halepensis*-Complex Pine Species Using Chloroplast SSR Markers. Molecular Ecology 7: 1-11.
- CESARONE, C., BOLOGNESI, C., SANTI, L. 1979:** Improved Microfluorometric DNA Determination In Biological Material Using 33258 Hoechst. Anal Biochem. 100: 188-197.
- CHASURISRI, K., EL-KASSABY, Y.A. 1994:** Genetic Diversity In A Seed Production Population vs Natural Populations Of Sitka Spruce. Biodiv. Conserv., 3: 512-523.
- CHALMERS, K.J., NEWTON, A.C., WAUGH, R., WILSON, J., POWELL, W. 1994:** Evaluation of The Extent of Genetic Variation In Mahoganies (*Meliaceae*) Using RAPD Markers. Theor. Appl. Genet. 89: 504-508.
- CHELIAK, W.M., MURRAY, G., PITEL, J.A. 1988:** Genetic Effects Of Phenotypic Selection In White Spruce. For. Ecol. Manag., 24: 139-149.
- CONKLE, M.T. 1980:** Amount And Distribution of Isozyme Variation in Various Conifer Species. In: Proceedings of the 7th Meeting. Canadian For. Ser. pp: 109-117.
- CONKLE, M.T., SCHILLER, G., GRÜNWARD, C. 1988:** Electrophoretic Analysis of Diversity and Phylogeny of *Pinus brutia* and Closely Related Taxa. Systematic Botany 13: 411-424.

- COPEES, D.L., BECKWITH, R.C. 1977:** Isoenzyme Identification of *Picea glauca*, *P. sitchensis*, and *P. lutzii* Populations. Bot. Gaz. 138: 512-521.
- DANCIK, B.P., YEH, F.C. 1983:** Allozyme Variability and Evolution of Lodgepole Pine (*Pinus contorta* var. *latifolia*) and Jack Pine (*Pinus banksiana*) in Alberta. Can. J. Genet. Cytol. 25: 57-64.
- DEBAZAC, E.F., TOMASSONE, E. 1965:** Contribution A Une Etude Comparee Des Pins Mediteraneens De La Section Halepensis. Annals Science Forestier, Nancy 22: 213-256.
- DELLAPORTA, S.L., WOOD, J., HICKS, J.B. 1983:** A Plant DNA Minipreparation: Version II. Plant Mol. Biol Rep. 1:19-21.
- DEVEY, M.E., JERMSTAD, K.D., TAUER, C.G., NEALE, D.B. 1991:** Inheritance of RFLP Loci In A Lobloly Pine 3-Generation Pedigree. Theor. Appl. Genet. 83: 238-242.
- DOĞAN, B. 1997:** Kazdağları Yöresi Doğal Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) Populasyonlarında İzoenzim Çeşitliliği. EOAEM Yayınları. Teknik Bülten, No:10, İzmir, 43 s.
- DUFFIELD, J.W. 1952:** Relationship and Species Hybridization in The Genus *Pinus*. Zeitschrift Für Forstgenetik 1: 93-97.
- EASTMAN, P.A.K., WEBSTER, F.B., PITEL, J.A., ROBERTS, D.R. 1991:** Evaluation of Somaclonal Variation During Somatic Embryogenesis of Interior Spruce (*Picea glauca engelmannii* Complex) Using Culture Morphology and Isoenzyme Analysis. Plant Cell Reports. 10: 425-430.
- EL-KASSABY, Y.A. 1995:** Evaluation of The Tree-Improvement Delivery System: Factors Affecting Genetic Potential. Tree physiol. 15: 545-550.
- EL-KASSABY, Y.A., NAMKOONG, G. 1995:** Genetic Diversity of Forest Tree Plantations: Consequences of Domestication. In: Consequences of Changes In Biodiversity. IUFRO World Congress, Tempere, Finland, Cilt 2:218-228.
- EL-KASSABY, Y.A., RITLAND, K. 1996:** Impact Of Selection and Breeding On Genetic Diversity In Douglas-Fir. Biodiv. Conserv. 5: 795-813.
- ERKAN, N. 1995:** Kızılçamda (*P. brutia* Ten.) Meşcere Gelişmesinin Simülasyonu. GDAOAE Teknik Bülten No:1. Elazığ.
- GIANNINI, R., MORGANTE, M., VENDRAMIN, G.C. 1991:** Allozyme Variation In Italian Populations of *Picea abies*. Silvae Genetica. 40:160-166.
- GODT, M.J.W., HAMRICK, J.L., EDWARDS-BURKE, M.A., WILLIAMS, J.H. 2001:** Comparisons Of Genetic Diversity In White Spruce (*Picea glauca*) and Jack Pine (*Pinus banksiana*) Seed Orchards With Natural Populations. Can. J. For: Res. 31: 943-949.

- GONCHARENKO, G.G., BOLSUN, S.I., NEVO, E., ZEHAVI, A. 1998:** Genetic Taxonomic Relations Between *Pinus pithyusa*, *P. stankeviczii* and *P. brutia*. In: Report of The Academy of Sciences of Russia 359: 565-568.
- GÖMÖRY, D. 1992:** Effects of Stand Origin On The Genetic Diversity Of Norway Spruce (*Picea abies* Karst.) Populations. For. Ecol. Manag. 54: 215-223.
- GURIES, R., LEDIG, F.T. 1981:** Genetic Structure of Populations and Diffrentiation In Forest Trees. In: Conkle M.T. (ed). Proc. Symp. Isoenzymes N. Am. For. Trees For Insects. pp. 42-47.
- GÜLBABA, A.G., ÖZKURT, N. 1998:** Bolkar Dağları Doğal Kızılcım (*Pinus brutia* Ten.) Populasyonlarının İzoenzim Çeşitliliği. DAOAE Yayınları, Teknik Bülten No: 5, Tarsus, 27s.
- HAMRICK, J.L. 1989:** Isozymes and The Analysis Of Genetic Structure In Plant Populations. In: Soltis, D.E., Soltis, P.S. (Eds.) Isozymes in Plant Biology. Chapman and Hall. London.
- HAMRICK, J.L., GODT, M.J.W. 1989:** Allozyme Diversity in Plant Species. In: Differentiation Patterns in Higher Plants. Ed. K. Urbanska. Academic Press., New York, pp 53-67.
- ISABEL, N., BEAULIEU, J., BOUSQUET, J. 1995:** Complete Congruence Between Gene Diversity Estimates Derived From Genotypic Data at Enzyme and Random Amplified Polymorphic DNA Loci in Black Spruce. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 92: 6369-6373.
- İŞİK, F., İŞİK, K. 1999:** Genetic Variation in *Pinus brutia* Ten. in Turkey. II: Branching and Crown Traits. Silvae Genetica. 48: 293-303.
- İŞİK, F., İŞİK, K., LEE, S.J. 1999:** Genetic Variation in *Pinus brutia* Ten. In Turkey: I. Growth, Biomass and Stem Quality Traits. Forest Genetics. 6: 89-99.
- İŞİK, K. 1983:** Correspondence Between Geographic Proximity and Phenetic Similarity Among *Pinus brutia* Ten. Populations In Southern Turkey. In: J. Felsenstein (Ed.). Numerical Taxonomy, NATO Series, Vol. G1: 469-473.
- İŞİK, K. 1986:** Altitudinal Variation in *Pinus brutia* Ten.: Seed and Seedling Characteristics. Silvae Genetica 35: 58-67.
- İŞİK, K., TOPAK, M., KESKIN, A.C. 1987:** Kızılcımda (*Pinus brutia* Ten.) Orijin Denemeleri: Altı Farklı Populasyonun Beş Ayrı Deneme Alanında İlk 6 Yıldaki Büyüme Özellikleri. Orman Ağaçları ve Tohumları İslah Enstitüsü. Yayın No 3, Ankara, 139 s.

- IŞIK, K. 1996:** Biyolojik Çeşitlilik ve Orman Gen Kaynaklarımız. Orman Bakanlığı, Yayın no:13, Ankara.
- IŞIK, K., KARA, N. 1997:** Altitudinal Variation In *Pinus brutia* Ten. and Its Implications In Genetic Conservation and Seed Transfers In Southern Turkey. *Silvae Genetica* 46: 113-120.
- KAMMACHER, P., ZYGOMALA, A.M. 1989:** Demonstration Of Divergence In Chromosomal Structures Between Related Genomes of *Pinus*. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Paris, Serie C*, 308: 27-30.
- KANDEMİR, G.E. 2002:** Genetics and Physiology of Cold and Drought Resistance In Turkish Red Pine (*Pinus brutia* Ten.) Populations From Turkey. Orta Doğu Teknik Üniversitesi. Doktora Tezi. Ankara, Türkiye.
- KARA, N. 1996:** Kızılçamın (*Pinus brutia* Ten.) Doğal Populasyonlarında İzoenzim Çeşitliliğinin Araştırılması. Akdeniz Üniversitesi Yüksek lisans tezi, Antalya.
- KARA, N., KOROL, L., IŞIK, K., SCHILLER G. 1997:** Genetic Diversity In *Pinus brutia* Ten. Altitudinal Variation. *Silvae Genetica*, 46 (2-3): 155-161.
- KAYA, Z., NEALE, D.B. 1995:** Linkage Map Based on Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers in *Pinus brutia*. *Silvae Genetica*: 44, 110-116.
- KAYA, Z., KÜN, E., GÜNER, A. 1998:** Türkiye Bitki Genetik Çeşitliliğinin Yerinde (*In situ*) Korunması Ulusal Planı. Çevre Bakanlığı, Çevre Koruma Genel Müdürlüğü, Bitki Koruma ve Erozyonla Mücadele Daire Başkanlığı, Ankara.
- KAZAN, K., MANNERS, J.M., CAMERON, D.F. 1993:** Inheritance Of Random Amplified Polymorphic DNA Markers In An Interspecific Cross In The Genus *Stylosanthes*. *Genome*, 36: 50-56.
- KEIL, M., GRIFFIN, A.R. 1994:** Use of Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers In The Discrimination and Verification of Genotypes In *Eucalyptus*. *Theor. Appl. Genet.* 89: 442-450.
- KIMURA, M., CROW, J.M. 1978:** Effect of Overall Phenotypic Selection On Genetic Change at Individual Loci. *Proc. Natl. Acad. Sci., Washington.* 75: 6168-6171.
- KNOWLES, P. 1985:** Comparison Of Isozyme Variation Among Natural Stands And Plantations: Jack Pine and Black Spruce. *Can. J. For. Res.* 15: 902-908.
- KNOWLES, P. 1991:** Spatial Genetic Structure Within Two Natural Stands Of Black Spruce (*Picea mariana* (Mill.) B.S.P.) *Silvae Genetica* 40: 13-19.

- KOSKI, V., ANTOLA, J. 1994:** National Tree Breeding and Seed Production Programme For Turkey 1994-2003. Enso Forest Development Oy. Ltd. Prepared In Cooperation With The Research Directorate Of Forest Tree Seeds And Tree Breeding.
- KREIKE, J. 1990:** Genetic Analysis of Forest Tree Populations: Isolation of DNA From Spruce and Fir Apices. *Plant Molecular Biology*, 14: 877-879.
- LANGELLA, O. 2000:** Populations: Population Genetic Software (Individuals or Populations Distances, Phylogenetic Trees). CNRS, France. [Http://www.ge.cnrs-gif.fr/bioinfo/populations](http://www.ge.cnrs-gif.fr/bioinfo/populations).
- LEDIG, F.T. 1986:** Heterozygosity, Heterosis and Fitness In Outbreeding Plants. In: Soule, E. (Ed), *Conservation Biology: The Science Of Scarcity And Diversity*, Pp. 74-104. Sinauer Association, Sunderland Massachusetts.
- LEDIG, F.T. 1988:** The Conservation of Diversity In Forest Trees. Why and How Should Genes Be Conserved? *Bioscience*, 38: 471-473.
- LEDIG, F.T., CONKLE, M.T. 1983:** Gene Diversity and Genetic Structure In A Narrow Endemic, Torrey Pine (*Pinus torreyana*). *Evolution*: 37(1):79-85.
- LEWONTIN, R.C. 1972:** The Apportionment of Human Diversity. *Evolutionary Biology*. 6: 381-398.
- LINDGREN, D. 1993:** The Population Biology of Clonal Deployment. In: *Clonal Forestry I, Genetics and Biotechnology*, Ahuja, M.R. and Libby, W.J. (Eds.) Springer Verlag.
- LİSE, Y. 2000:** The Impact of Anthropogenic Factors on The Composition of Genetic Variation on *Pinus brutia* Ten. Populations Determined by DNA Markers. Yüksek Lisans Tezi. ODTU. Basılmamıştır. Ankara.
- LIU, Z., KNOWLES, P. 1991:** Pattern of Allozyme Variation In Tamarack (*Larix laricina*) From Northern Ontario. *Can. J. Bot.* 69: 2468-2474.
- MORAN, G.F., HOPPER, S.D. 1987:** Nature Conservation: The Role of Remnants of Native Vegetation. Saunders S.A. (ed). Australia: Surrey Beatty & Sons. pp. 151-162.
- MORGANTE, M., FELICE, N., VENDRAMIN, G.G. 1998:** Analysis of Hyper-variable Chloroplast Microsatellites In *Pinus halepensis* Reveals A Dramatic Genetic Bottleneck. In: Karp, A., Isaac, G.P. and Ingram, D.S. (eds), *Molecular Tools for Screening Biodiversity*. Chapman and Hall, London, pp. 407-412.
- NEI, M. 1972:** Genetic Distance Between Populations. *American Naturalist*. 106: 283-292.
- NEI, M. 1987.** *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia Uni. Press, New York.

- NESBITT, K.A., POTTS, B.M., VAILLENCOURT, R.E., WEST, A.K., REID, J.B. 1995:** Partitioning and Distribution of RAPD Variation In A Forest Tree Species, *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae). *Heredity*. 74: 628-637.
- NEVO, E. 1978:** Genetic Variation In Natural Populations: Patterns and Theory. *Theor. Popul. Biol.* 13:129-177.
- NKONGOLO, K.K. 1999:** RAPD and Cytological Analyses of *Picea* spp. From Different Provenances: Genomic Relationships Among Taxa. *Hereditas*. 130: 137-144.
- ÖZEL, E.S.E. 2001:** The Pattern of Genetic Variation of *Pinus Brutia* Ten. Populations From Southern Turkey Determined By Nuclear SSR Markers. ODTU Yüksek Lisans Tezi., Ankara.
- PANETSOS, C.P. 1975:** Natural Hybridization Between *Pinus halepensis* and *Pinus brutia* In Greece. *Silvae Genetica*. 24: 163-168.
- PANETSOS, P., ARAVANOPOULOS, F.A., CALTSOYIANNES, A. 1998:** Genetic Variation of *Pinus brutia* from Islands of The Northeastern Aegean Sea. *Silvae Genetica*. 47:115-120.
- PAPAJOANNOU, J. 1936:** Über Artbastarde Zwischen *Pinus brutia* Ten. und *Pinus Halepensis* Mill. In Nordost-Chalkidiki (Griechenland). *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 58: 194-205.
- PAPAJOANNOU, J. 1954:** Hybridization of Mediterranean *Pinus* and Its Influence on Resin Production and Especially in Greece. *T. Dassos* 25-28, 104-106. (Gr. Fr. Sum.)
- PARKER, K.C., HAMRICK, J.L., PALMER, A.J., STACY, E.A. 1997:** Allozyme Diversity In *Pinus virginiana* (Pinaceae): Intraspecific and Interspecific Comparisons. *Am. J. Bot.* 84: 1372-1382.
- QUIROS, C.F., HU, J., THIS, P., CHEVRE, A.M., DELSENY, M. 1991:** Development and Chromosomal Localization of Genome-Specific Markers by Polymerase Chain Reaction In *Brassica*. *Theor. Appl. Genet.* 82: 627-632.
- RAJORA, O.P. 1999:** Genetic Biodiversity Impacts Of Silvicultural Practices and Phenotypic Selection In White Spruce. *Theor. Appl. Genet.* 99: 954-961.
- ROSETTO, M., WEAVER, P.K., DIXON, K.W. 1995:** Use of RAPD Analysis In Devising Conservation Strategies for The Rare And Endangered *Grevillea scapigera* (Proteaceae). *Mol. Ecol.* 4: 321-329.
- RUSSEL, J.R., HOSEIN, F., JOHNSON, E., WAUGH, R., POWELL, W. 1993:** Genetic Differentiation of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Populations Revealed by RAPD Analysis. *Molecular Ecology*. 2: 89-97.
- SAYLOR, L.G. 1964:** Karyotype Analysis of *Pinus* – Group *Lariciones*. *Silvae Genetica* 13: 165-170.

- SCHMIDTLING, R.C., HIPKINS, V. 1998:** Genetic Diversity In Long-Leaf Pine (*Pinus palustris*): Influence of Historical and Prehistorical Events. Can. J. For. Res. 28: 1135-1145.
- SELİK, M. 1958:** Kızılcım (*Pinus brutia* Ten)'in Botanik Özellikleri Üzerine Araştırmalar ve Bunların (*Pinus halepensis* Mill) Vasıfları İle Mukayesesi. İ.Ü., Or. Fak. Dergisi, Seri:A, Sayı:8-2 161-198.
- SPROULE, A.T., DANK, B.P. 1996:** The Mating System of Black Spruce in North-Central Alberta, Canada. Silvae Genet. 45: 159-154.
- STOEHR, M.U., EL-KASSABY, Y.A. 1997:** Levels of Genetic Diversity At Different Stages Of The Domestication Cycle Of Interior Spruce In British Columbia. Theor. Appl. Genet. 94: 83-90.
- SZMIDT, A.E., WANG, X-R., LU, M.-Z. 1996:** Emprical Assessment of Allozyme and RAPD Variation In *Pinus sylvestris* (L.) Using Haploid Tissue Analysis. Heredity, 76: 412-420.
- THOMAS, B.R., MACDONALD, S.E., HICKS, M., ADAMS, D.L., HODGETTS, R.B. 1999:** Effects of Reforestation Methods On Genetic Diversity of Lodgepole Pine: An Assesment Using Microsatellite And Randomly Amplified Polymorphic DNA Markers. Theor. Appl. Genet. 98: 793-801.
- USTA, H.Z. 1991:** Kızılcım Ağaçlandırmalarında Hasılat Araştırmaları. OAE Teknik Bülten Yayın No:219. Ankara.
- WANG, Z.M., MCDONALD, S.E. 1992:** Peatland and Upland Black Spruce Populations In Alberta, Canada: Isozyme Variation and Seed Germination Ecology. Silvae Genet. 41: 117-122.
- WEI, R.P. 1995:** Predicting Genetic Diversity And Optimizing Selection In Breeding Programmes. Ph. D. Thesis. Sweedish University of Agricultural Sciences, Department of Forest Genetics and Plant Physiology. Umea.
- WILLIAMS, J.G.K., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A., TINGEY, S.V. 1990:** DNA Polymorphisms Amplified By Arbitrary Primers are Useful As Genetic Markers. Nucleic Acids Research. 18: 6531-6535.
- WRIGHT, S. 1921:** Systems of mating. Genetics. 6:111-178.
- WRIGHT S. 1951:** The Genetical Structure of Populations. Annals of Eugenics. 15: 323-354.
- YALTIRIK, F., BOYDAK, M. 1993:** Türkiye Kızılcımlarında Genetik Çeşitlilik (varyasyon). Uluslararası Kızılcım Sempozyumu Bildiriler. FAO-IUFRO-Orman Bakanlığı. Marmaris, pp. 1-10.
- YEH, F.C., CHONG, D.K.X., YANG, R-C. 1995:** RAPD Variation Within and Among Natural Populations of Trembling Aspen (*Populus Tremuloides* Michx.) From Alberta. Journal of Heredity. 86: 454-460.

YEH, C.F., YANG, R., BOYLE, T. 1997: POPGENE Version 1.20. Windows-based Software for Population Genetics Analysis.
ZHENG, Y.-Q., ENNOS, R.A. 1999: Genetic Variability and Structure of Natural and Domesticated Populations of Caribbean Pine (*Pinus caribaea* Morelet). Theor. Appl. Genet., 98: 765-771.

TANIMLAR

Ağaçlandırma: Fidan dikimi yoluyla tesis edilen plantasyon.

Allel: Belli bir lokusa ait genin birden fazla formu.

Allel sayısı: Lokus başına düşen ortalama allel.

Beklenen heterozigotluk: Bir bireyin herhangi bir lokusda heterozigot olma olasılığı.

Dendrogram: Organizmalar ya da populasyonlar arasındaki genetik benzerliği gösteren ağaç-benzeri şekil.

Diploid: Kromozomları homolog çiftler halinde bulunan hücre, doku, organizma (2n).

DNA (Deoksiribo nükleik asit): Tüm hücrelerin kalıtsal materyalini oluşturan nükleik asit.

Döl denemesi: Belirli ana ya da babalara ait yavruların (döllerin) performansını karşılaştırarak, ebeveynlerin test edilmesi.

Etkili allel sayısı: Ortalama allel sayısı tahmini, frekansları küçük de olsa öldürücü genleri de içermektedir; bu sayı homozigotluğun bir başka ifadesi.

Ex situ koruma: Canlıların doğal olarak buldukları ortamdan başka bir yerde korunması.

Fenotip: Genotipik ve çevresel etmenlerin bireylerde oluşturduğu dış görünüş.

Fiksasyon indeksi: Gen frekanslarının panmiktik frekanslardan sapmasını gösteren ölçüt.

Gen: Canlılarda karakterlerin kalıtımını belirleyen ve soydan soya geçen kalıtım birimi.

Gen akışı: Spor, tohum, polen gibi yollarla organizmaların genlerinin populasyonlar içinde ya da arasında hareketi.

Genetik çeşitlilik: Kalıtsal karakterlerin, populasyon ya da tür düzeyinde bireylerde gösterdiği farklılıkların tümü.

Genetik mesafe: Populasyon çiftleri arasındaki gen farklılıklarının boyutu.

Genotip: Bir hücre ya da bireyin sahip olduğu genlerin toplamı.

Haploid: Mayoz bölünmenin direkt ürünleri olan; kromozomları tek halde bulunan hücre, doku ya da organizma (n).

Hardy-Weinberg Yasası: Mutasyon, seleksiyon, göç, olaylarının meydana gelmediği, yeterli büyüklükteki bir populasyonda rasgele eşleşme koşullarında, ilk dölden itibaren gen ve genotip frekanslarının aynı kalacağını savunan görüş.

Heterozigot: Homolog kromozomlar üzerinde, karşılıklı aynı lokuslarda farklı allellerin bulunması.

In situ koruma: Organizmaların doğal yayılış alanı içinde ve doğal ortamlarında korunması ve yönetimi.

Klon: Belli bir ortetten aşı ya da çelik yoluyla üretilen ve aynı genotipik yapıya sahip olan fertlerin ait olduğu tüm grup.

Lokus: Bir genin kalıtsal molekülde kapladığı fiziksel alan.

PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu): Çok kısa sürede, spesifik DNA parçalarının çoğaltılmasını sağlayan teknik.

Polimorfik lokus: En yaygın allelin frekansı % 95 veya % 99'dan az olan lokus.

Polimorfizm: Aynı populasyon içerisinde, genetik olarak farklı 2 veya daha fazla sınıfın varlığı.

Populasyon: Birbirleri arasında gen alışverişi olabilen; belli bir coğrafi bölgede bulunan, aynı türden bireyler topluluğu.

Populasyon genetiği: Populasyonların genetik yapısını inceleyen genetik dalı.

Primer: Komplementer DNA zincirine bağlandığında, DNA polimeraz enzimiyle kopyalanabilen kısa nükleik asit molekülü.

RAPD-Random amplified polymorphic DNA (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA): PCR teknolojisine dayalı, tek baz değişikliklerini dahi ortaya koyabilen, moleküler belirteç.

Shannon sabiti: Her bir populasyondaki genetik varyasyonun miktarını gösteren ölçütlerden biri olup allel frekansı üzerinden hesaplanır.

Tohum bahçesi: Genetik bakımdan üstün nitelikli ağaçların klon ya da tohumlarından kurulan, genetik açıdan arzulanmayan polen kaynaklarından izole edilmiş, özel idare ve işletmeye tabi tutulan, sık, bol ve kolay tohum hasat edilen özel ağaçlandırmalardır.

Tohum meşçeresi: Yüksek kalitede tohum elde etmek üzere seçilen ve tohum veriminin ve genetik kazancın artırılması amacıyla müdahalelerde bulunulan, doğal ya da bazı özel durumlarda yapay olarak kurulmuş populasyonlardır.