

Çevre ve Orman Bakanlığı Yayın No:265  
Müdürlük Yayın No:27

ISBN: 975-8273-82-5

**KIRKLARELİ-KASATURA KÖRFEZİ TABİATI KORUMA  
ALANINDA BULUNAN KARAÇAM (*Pinus nigra* Arnold)  
POPULASYONLARININ GENETİK YAPISININ MOLEKÜLER  
BELİRTEÇLER YARDIMIYLA BELİRLENMESİ**

ODC: 165.3

Determination of Genetic Diversity of Anatolian Black pine (*Pinus nigra* Arnold) Populations in Kırklareli-Kasatura Bay Nature Conservation Area by Molecular Markers

**Ercan VELİOĞLU    Dr. Burcu ÇENGEL    Dr. Yasemin İÇGEN**

**Dr. Gaye KANDEMİR    Prof. Dr. Zeki KAYA**

**TEKNİK BÜLTEN NO:15**

**T.C.  
ÇEVRE ve ORMAN BAKANLIĞI  
ORMAN AĞAÇLARI VE TOHURLARI 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 .....                            | 4   |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM .....                         | 6   |
| 3.1. Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi ..... | 6   |
| 3.2. RAPD Çalışması .....                           | 7   |
| 3.2.1. DNA İzolasyonu .....                         | 7   |
| 3.2.2. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi .....     | 8   |
| 3.2.3. RAPD Primerleri .....                        | 8   |
| 3.2.4. RAPD-PCR Koşulları .....                     | 8   |
| 3.2.5. Agarose Jellerinin Yorumlanması .....        | 10  |
| 3.2.6. Veri Analizi .....                           | 10  |
| 3.3. İzoenzim Çalışması .....                       | 11  |
| 3.3.1. Örneklerin Hazırlanması ve Yürütülmesi ..... | 11  |
| 3.3.2. Jellerin Yorumlanması .....                  | 12  |
| 3.3.3. Veri Analizi .....                           | 12  |
| 4. BULGULAR ve TARTIŞMA .....                       | 13  |
| 4.1. RAPD Bulguları .....                           | 13  |
| 4.1.1. Populasyonların Genetik Yapıları .....       | 13  |
| 4.1.2. Genetik Çeşitlilik .....                     | 13  |
| 4.1.3. Allel Sayısı .....                           | 13  |
| 4.1.4. Polimorfik Lokus Oranı .....                 | 14  |
| 4.1.5. Heterozigotluk .....                         | 15  |
| 4.1.6. F-İstatistiği .....                          | 15  |
| 4.1.7. Populasyonlar Arasında Genetik Mesafe .....  | 18  |
| 4.2. İzoenzim Bulguları .....                       | 20  |
| 4.2.1. İzoenzim Bant Yapıları .....                 | 20  |
| 4.2.2. Populasyonların Genetik Yapıları .....       | 24  |
| 4.2.3. Polen Kirliliği .....                        | 27  |
| 5. SONUÇ ve ÖNERİLER .....                          | 31  |
| ÖZET .....  | 33  |
| SUMMARY .....                                       | 34  |
| KAYNAKÇA .....                                      | 35  |

## ŞEKİLLER ve ÇİZELGELER DİZİNİ

### Şekiller

|  |    |
|--|----|
| Şekil 1.Çalışılan Populasyonların Konumu.....  | 6  |
| Şekil 2.Ağaçlandırma Alanındaki 1,2,3,4 No'lu Ailelerin UBD-129<br>Primeriyle Çoğaltılan RAPD Bant Profilleri.....               | 9  |
| Şekil 3.Kasatura Körfezi Doğal Karaçam Meşceresi, Ağaçlandırması ve 4<br>Tohum Meşceresinin İlişkilerini Gösteren Dendogram..... | 20 |
| Şekil 4.Megagametofit ve Embriyo İzoenzim Bant Yapıları.....   | 22 |

### Çizelgeler

|  |    |
|--|----|
| Çizelge 1. Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanı Bölgesel Bilgileri.....   | 6  |
| Çizelge 2. PCR Koşulları.....  | 8  |
| Çizelge 3. PCR Döngüleri.....  | 9  |
| Çizelge 4. Diploid Genotip Değerlendirmesi.....  | 10 |
| Çizelge 5. Çalışılan Enzim Sistemleri.....   | 12 |
| Çizelge 6. RAPD ile Belirlenmiş Çalışılan Populasyonlara Ait Gözlenen<br>Ortalama Allel Sayısı (A), Ortalama Etkili Allel Sayısı (Ae),<br>Polimorfik Lokus Oranı (P), Gözlenen Heterozigotluk (Ho) ve<br>Beklenen Heterozigotluk ve Standart Hataları..... | 14 |
| Çizelge 7. RAPD Analizine Göre Wright'ın F-İstatistiği Sonuçları.....  | 16 |
| Çizelge 8. RAPD Belirteçleriyle Her Bir Lokus İçin Hesaplanan Wright'ın<br>F-İstatistiği Sonuçları.....  | 17 |
| Çizelge 9. Populasyonların Genetik Mesafe Değerleri.....   | 19 |
| Çizelge 10. Çalışılan Populasyonların Megagametofit Dokuları İçin<br>Hesaplanan Allel Frekansları.....   | 25 |
| Çizelge 11. Çalışılan lokusların megagametofit dokularındaki beklenen 1:1<br>Oranındaki allel ayrışımı için yapılan Khi-kare( $X^2$ ) testi sonuçları  | 26 |
| Çizelge 12. İzoenzim Analizine Göre Wright'ın F-İstatistiği Sonuçları.....   | 27 |

## ÖNSÖZ

Türkiye biyolojik çeşitlilik açısından zengin bir ülkedir. Bu zenginliğin örneklerinden birisi de, Trakya’da yayılış gösteren karaçam meşcereleridir. Vize Orman İşletme Müdürlüğü, Midye Orman İşletme Şefliği sınırları içerisinde bulunan Kasatura Körfezinde yayılış gösteren karaçam meşceresi, 1988 yılında Tabiatı Koruma Alanı olarak ayrılmıştır. Koruma alanı olarak ayrılan bölmelerin bir kısmına orijini bilinmeyen fidanlarla ağaçlandırma yapılmıştır. Milli Parklar ve Yaban Hayatı Koruma Genel Müdürlüğüne bu koruma alanının ve plantasyon sahasının genetik yapılarının belirlenmesi ve karşılaştırılması istenmiştir.

Gen kaynaklarının korunması çalışmalarında izlenecek stratejilerin oluşturulmasında ilk basamak olan genetik yapının belirlenmesinde moleküler belirteçler önemli bir araçtır.

Bu çalışmada kullanılan kozalakların toplanmasında yardımlarını gördüğümüz Vize Orman İşletme Müdürü Asalettin AKSU ve laboratuvar çalışmalarına katkıda bulunan laborant Özlem SARIGİL’e teşekkürü borç biliriz.

Çalışmamızın ülke ve mesleğimize katkıda bulunmasını diliyoruz.

ANKARA, 2004

**Ercan VELİOĞLU**  
**Dr. Burcu ÇENGEL**  
**Dr. Yasemin İÇGEN**  
**Dr. Gaye KANDEMİR**  
**Prof. Dr. Zeki KAYA**

## ÖZ

Bu çalışma ile Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanındaki doğal karaçam (*Pinus nigra* Arnold) meşceresiyle ağaçlandırma alanında bulunan genetik çeşitliliğin miktarı ve doğal populasyondaki polen kirliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Doğal ormandan 39, ağaçlandırma alanından 58 adet olmak üzere toplam 97 ağaçtan kozalak toplanarak, aile bazında tohum elde edilmiştir. RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) belirteçleri kullanılarak her iki populasyonun genetik çeşitlilik parametreleri hesaplanmıştır. Ayrıca doğal meşceredeki genetik (polen) kirliliğinin belirlenmesi için her iki populasyondan da 30'ar ağaç kullanılarak 5 enzim sisteminde çalışılmıştır.

Çalışılan 8 RAPD primeri 74 polimorfik bant üretmiştir. Çalışılan populasyonların genetik çeşitlilik parametreleri genel olarak birbirine yakın bulunmuştur. Polimorfik lokus oranı ağaçlandırmada % 96, doğal meşcerede % 99 bulunmuştur. Gözlenen ortalama allel sayısı doğal populasyonda 1.98, ağaçlandırmada 1.96 ve etkili allel sayısı her iki populasyonda da 1.62'dir. Gözlenen heterozigotluk değerleri ağaçlandırma ve doğal meşcere için 0.42 ve 0.39 olarak hesaplanmıştır. Negatif  $F_{IT}$  (-0.11) ve  $F_{IS}$  (-0.15) değerleri, çalışılan populasyonlarda heterozigotluk fazlalığına işaret etmektedir.  $F_{ST}$  değeri (0.04), genetik çeşitliliğin önemli miktarının (% 96) populasyonlar içinde olduğunu göstermektedir.

İzoenzim analizinde, çalışılan 5 izoenzim sisteminde; 11 lokusta, 20 polimorfik allel gözlenmiştir. Doğal populasyondaki genetik kirlilik % 80.4 olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Tabiatı Koruma Alanı, Karaçam, *Pinus nigra*, Genetik Çeşitlilik, RAPD, İzoenzim, Polen kirliliği.

## ABSTRACT

The aim of this study was to determine the magnitude and pattern of genetic variation existing in Kasatura Bay Nature Conservation Area Anatolian black pine (*Pinus nigra* Arnold) natural stand (designated as a Nature Conservation Area) and plantation area nearby. In addition, to estimate whether there is genetic contamination from plantation to natural stand. Cones were collected from 97 mother trees (39 trees from natural stand and 58 trees from plantation) to obtain seeds which are produced by half-sib families. Genetic diversity parameters were estimated for both populations by using RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) markers. For detection of pollen contamination, isozymes were used by using 30 trees from each population.

Eight RAPD primers generated 74 polymorphic loci. Genetic diversity parameters of the studied populations were generally similar. Percentage of polymorphic loci was 99% for natural stand and 96% for plantation. Mean number of observed alleles was 1.98 in natural stand and 1.96 in plantation. The mean number of effective alleles was about 1.62 in both populations. Observed heterozygosity values were estimated to be 0.42 and 0.39 for plantation and natural stand, respectively. Negative  $F_{IT}$  (-0.11) and  $F_{IS}$  (-0.15) values implied excess heterozygosity in the studied populations. Mean  $F_{ST}$  value (0.04) indicates that there was little differentiation between natural stand and plantation and vast majority (96%) of genetic diversity was contained within populations.

Studied 5 enzyme systems revealed 11 isozyme loci and 20 polymorphic alleles. Genetic (pollen) contamination was found to be 80.4% in natural population.

**Key Words:** Nature Conservation Area, Black Pine, *Pinus nigra*, Genetic Variation, RAPD, Isozyme, Pollen Contamination.

## 1.GİRİŞ

Karadeniz, Ege ve Marmara Denizi arasına girmiş bir üçgen olan Trakya, değişik iklim bölgelerinin etkisi altında bulunmaktadır (IRMAK 1975). Yıllık yağış miktarının 450-1550 mm arasında değiştiği bildirilmektedir (YALTIRIK ve ELİÇİN 1982). Kuzeydeki dağlık kütlede ve bu kütlelerin Karadeniz'e bakan yamaçlarında nemli bir iklim, İç Trakya'da kuru bir iklim, Güney Trakya'da ise kuru fakat Akdeniz ikliminin etkisi altında olan bir iklim hüküm sürmektedir (KANTARCI 1976). Bu durum Trakya'daki ormanların tür bileşimlerini etkilemekte ve sonuç olarak Trakya, altı vejetasyon bölgesine ve dört orman mntikasına ayrılmaktadır (IRMAK 1975; KANTARCI 1976).

Trakya'nın toplam yüzölçümü 23 500 km<sup>2</sup> olup, 198 000 hektar verimli kuru ormanı bulunmakta ve bunun 32 bin hektarını ibreliler (kızılcım, karaçam, ardıç) oluşturmaktadır (YALTIRIK ve ELİÇİN 1982). Kuzey Trakya Orman Mıntıkası içinde değerlendirilen Trakya'daki karaçam meşcereleri, üç parça halinde bulunmaktadır. Kasatura Körfezi çevresindeki karaçam meşcereleri saf ve gevşek kapalı bir yapıda olup (MATTFELD 1971), kristalen şist, kuvarsit ve CaCO<sub>3</sub>'suz pliosen tortullar üzerindedir (KANTARCI 1976). Rakımı ortalama 100-200 metre olan bu alanda hüküm süren deniz etkisinin (MATTFELD 1971; KANTARCI 1976) ve topoklimanın karaçamın burada tutunabilmesine yardımcı olduğu belirtilmektedir (ALTINÇEKİÇ 1996)

Çok geniş alanlara yayılan türler aynı zamanda çok fazla coğrafik varyasyona ve lokal ırklara sahiptirler (IŞIK 1981; ZOBEL ve TALBERT 1984; KAYA 1990). Türkiye'nin engebeli coğrafik yapısı ve kısa mesafelerde değişen iklim ve toprak özellikleri, orman ağacı popülasyonlarında kısa mesafelerde bile lokal ırk oluşmasını teşvik edici niteliktedir (IŞIK 1988; KAYA 1989). Ülkemizdeki ibrelili türler arasında en yaygın ikinci tür olan karaçamın Trakya'daki meşcereleri Euroe Siberian flora alanının *Güneybatı Euxine Bölgesi Karaçam Ormanları* olarak tanımlanmaktadır (ANONİM 2000). Kasatura Körfezinin bulunduğu Eu-Euxine alt kuşağı, Karadeniz kıyı kesimini kapsamaktadır (ALTINÇEKİÇ 1996). Bu karaçam meşceresi KAYACIK ve ark. (1981) tarafından ekolojik tip, ALPTEKİN (1986) tarafından topoğrafik bir izolasyon ile tecrit edilmiş doğal yayılış alanlarından uzak ve kopuk bir karakterde, MAYER ve AKSOY (1998) tarafından ise, kalıntı ormanı olarak nitelendirilmiştir. Zira bahsedilen ormanların Tersiyer sonlarından kalma olduğu saptanmış olup (ŞANLI 1982) Tersiyer ve öncesi dönemlerde bu bölgede bulunan meşcerelerin yaklaşık %70'inin çam ormanları ile kaplı olduğu

bildirilmektedir (AYTUĞ ve ŞANLI 1974; KAYACIK ve ark. 1981). Bu nitelikler de dikkate alınarak Kasatura Körfezi'ndeki karaçam meşceresi Milli Parklar ve Yaban Hayatı Koruma Genel Müdürlüğü tarafından nadir bir orman ekosistemi olarak değerlendirilip, 2873 Sayılı Milli Parklar Kanunu'nun 2d maddesi kapsamında "Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanı (TKA)" olarak ilan edilmiştir (ANONİM 1988). Yedi bölgede toplam 329 hektar olarak ayrılan koruma alanı sadece orman ekosistemi olarak değil, kumul olarak da tartışmasız Türkiye'nin Batı Karadeniz sahillerindeki zengin ve olağanüstü botanik öneme sahip kumul sistemleri arasında bulunmaktadır (BYFIELD ve HETVIG 1994; ALTINÇEKİÇ 1996).

Tabiatı Koruma Alanı olarak ilan edilen Kasatura Körfezi'ne 1972 yılında orijini bilinmeyen fidanlarla ağaçlandırma yapılmıştır (ODABAŞI ve ark. 1990). Trakya Bölgesindeki karaçam ağaçlandırmalarında çoğunlukla Güney Marmara Bölgesindeki karaçam orijinleri, özellikle de Balıkesir-Dursunbey orijininin kullanıldığı bildirilmektedir (ÇALIKOĞLU ve ark. 2001). Günümüzde bu ağaçlandırmalarda yağışca fakir olan İç Trakya Bölgesinde veya yaz kuraklığının etkili olduğu diğer yörelerde yer yer münferit veya toplu kurumalar, böcek ve mantar zararları yanında, yağışın bol olduğu kıyı rejyonlarında "azmanlaşmış" ve oldukça kalın dallı, doğal budaması zayıf, odun teknolojisi açısından düşük nitelikli bir büyüme ile karşılaşmıştır (ÇALIKOĞLU ve ark. 2001). Trakya ağaçlandırmalarında bu problemlerin görülmesine neden olarak kullanılan fidan orijinlerinin bölge dışından olması gösterilmektedir (ODABAŞI ve ark. 1990; GÖNÜL ve ark. 1996; ÇALIKOĞLU ve ark. 2001). Başka bir yörede bulunan popülasyonlardan getirilerek ağaçlandırma alanına dikilen bireyler, bu alanda çoğu kez çeşitli uyum bozuklukları göstermekte hatta ölmektedirler. Avrupa ülkelerinde bu sorunun farkına 20. yüzyılın başlarında varılmıştır. Örneğin Almanya'da 1934 yılında çıkarılan "Ormancılık Tür Kanunu" ile orijin probleminin önüne geçilmiştir (SAATÇIOĞLU 1971).

Popülasyonlara yapılacak olumsuz müdahaleler, daha sonraki kuşaklarda milyonlarca yıl sürecek genetik etkiler yaratabilirler. Bu yüzden, ıslah ve ağaçlandırma çalışmaları açısından lokal popülasyonların önemi bir kat daha artmaktadır. Dolayısıyla genetik erozyon ve genetik kirlenmeye karşı birer rezerv teşkil eden lokal popülasyonlar ileride genetik kaynak olarak kullanılmak üzere koruma altına alınmalıdır. Ancak ülkemizde, ağaçlandırma alanlarının bir kısmında kullanılan tohumun orijininin, lokal ırklardan olmadığı düşünülmektedir (IŞIK 1988; KAYA 1989). Gen kaynaklarının sürdürülebilir ormancılık çalışmalarında etkin bir şekilde korunması ve kullanılabilmesi için, doğal meşcerelerdeki genetik çeşitliliğin



yapılanmasının ve boyutunun iyi bilinmesi gerekmektedir (KAYA 1990; MILLAR ve MARSHALL 1991).

Tür içindeki genetik çeşitlilik, evrimsel güçlerin ortaklaşa etkisiyle şekillenir. Özellikle eşleşme sistemi, gen akımı ve doğal seçim populasyonlar içerisindeki ve arasındaki genetik çeşitliliğin dağılımını etkileyen faktörlerdir (NEVO 1978; HAMRICK 1989). Bu faktörlerin ve bunların etkileşimlerinin sonucu olarak ortaya çıkan genetik varyasyon hakkında bilgi sahibi olmadan, biyolojik bir kaynaktan optimum bir şekilde ve devamlılık prensipleri içinde yararlanabilmek olanaksızdır (COSSALTER 1989). Her populasyon bulunduğu yörede etkili olan farklı çevre koşullarına uyum sağladıklarından, genetik olarak eşsiz ve benzersiz olarak kabul edilir (IŞIK ve YILDIRIM 1990). Bu nedenle populasyon genetiği ilkeleriyle birlikte diğer biyolojik bilgilerin bu populasyonların yönetim ve işletilmesinde kullanılması daha da önem taşımaktadır (NAMKOONG 1989).

Genetik çeşitlilik çalışmaları başta morfolojik karakterlerle başlamış olup, bugün moleküler düzeyde yürütülmektedir. Genler veya ürünleri hakkında bilgi edinmek için; RFLP, RAPD, AFLP, SSR vd. moleküler belirteçler kullanılmaktadır. Bunlar arasında RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA-Rastgele Üretilmiş Polimorfik DNA), PCR-Polimeraz Zincir Reaksiyonuna dayalı yöntemlerden biri olup, genetik varyasyonun tespitinde sıklıkla kullanılmaktadır (KEIL ve GRIFFIN 1994; RUSSEL ve ark. 1993; ROSETTO ve ark. 1995; NESBITT ve ark. 1995). Diğer tekniklere oranla daha kolay, hızlı ve ucuz olmasına rağmen, PCR koşullarının optimizasyonu oldukça zor ve zaman alıcıdır. Dominant bir belirteç olmasının dezavantajları, ibreli türlerde tohum megagametofit (haploid) dokusu çalışılarak aşılmakta ve böylece populasyon genetiği çalışmalarında kullanılabilir.

Polen kirliliğinin belirlenmesine yönelik çalışmalar 1980'li yıllarda izoenzim analizleriyle başlamıştır (CLEGG 1980; SMITH ve ADAMS 1983; BROWN ve ark. 1985). Günümüzde daha çok tohum bahçelerindeki polen kirliliği ve eşleşme sistemi konularında çalışmalar yoğunlaşmıştır (KAYA ve IŞIK 2001).

Bu çalışma Kırklareli-Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanındaki doğal meşcere ve ağaçlandırma alanının, genetik çeşitliliğinin yapılanması ve boyutunun ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmanın bir diğer amacı da, Kasatura körfezinde bulunan plantasyonlardan gelen gen (polen) akışını hesaplayarak Tabiatı Koruma Alanı'nda bulunan doğal karaçam meşcerelerindeki genetik kirlenmenin boyutunu belirlemektir.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

Karaçamın genel yayılışının düzensizliği nedeniyle morfolojik, anatomik ve fizyolojik özellikleri önemli varyasyonlar göstermekte, bu nedenle karaçam bir çok alttürden ve varyeteden oluşan bir tür olarak kabul edilmektedir (VIDAKOVIC 1974). Anadolu karaçamı da bu alt türlerden biridir.

Trakya'da ağaç ve çalı türlerinin yayılışı bir çok araştırmacı tarafından çalışılmıştır (DÖNMEZ 1968; MATTFELD 1971; AYTUĞ ve ŞANLI 1974; YALTIRIK ve ELİÇİN 1982; ŞANLI 1982). Trakya'nın orman yetişme bölgelerinin ayrılmasına yönelik çalışmalar (IRMAK 1975; KANTARCI 1976; KANTARCI 1979; IRMAK ve ark. 1980; KANTARCI 1981), bazı ekolojik ve edafik özellikleri (KANTARCI 1973; KANTARCI 1981) ile vejetasyonunu tanıttıcı çalışmalar da bulunmaktadır (ELİÇİN 1981; KAYACIK ve ark. 1981; YALTIRIK ve EFE 1988).

Ülkemizde tohum kaynağı ve genetik uyumluluğu irdeleyen makaleler de mevcuttur (IŞIK 1988; KAYA 1989; KAYA 1990; DİRİK 1994). Ayrıca karaçam hakkında anatomik, genetik ve fizyolojik çalışmalar yapılmıştır (RÖHRIG 1966; CRITCHFIELD ve LITTLE 1966; ARBEZ ve ark. 1974; WILCOX ve MILLER 1975; WHEELER ve ark. 1976; READ 1976; KAYA ve ark. 1985; ALPTEKİN 1986; MATZIRIS 1989; PORTFAIX 1989; IŞIK 1990; ECONOMOU 1990; KAYA ve TEMERİT 1994; ŞİMŞEK ve ark. 1995; GÜRSES ve ark. 1996; GÜLBABA 1998; VELİOĞLU ve ark. 1999a; VELİOĞLU ve ark. 1999b; VELİOĞLU ve ark. 1999c; ÜÇLER ve GÜLCÜ 1999; KAYA ve ark. 2003).

Karaçamın izoenzim çeşitliliğine yönelik ilk çalışma BONNET-MASIMBERT ve BIKAY-BIKAY (1978) tarafından yapılmıştır. Daha sonra yapılan çeşitli izoenzim çalışmalarıyla (NICOLIC ve TUCIC 1983; FINESCHI 1984; SCALTSOYIANNES ve ark. 1994; SILIN ve GONCHARENKO 1996; AGUINAGALDE ve ark. 1997) pek çok karaçam populasyonunun genetik yapısı belirlenmiştir. Ülkemizde karaçam üzerine yapılan izoenzim çalışmaları da bulunmaktadır (DOĞAN ve ark. 1998; VELİOĞLU ve ark. 1999b; VELİOĞLU ve ark. 1999c).

Moleküler belirteçler kullanılarak yapılan çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. KAYA ve NEALE (1993) tarafından karaçamda çeşitli RAPD primerleri denenmiş, VELİOĞLU ve ark. (2003a) tarafından RAPD belirteçleriyle karaçamda ilk populasyon genetiği çalışması yapılmıştır.

Polen dağılımı konusunda ülkemizde yapılan çalışmalar AYTUĞ (1973) ile başlamıştır. Daha sonra BOYDAK (1977) sarıçamda dikey yönde polen karışım oranını çalışmıştır. Çalışmada; dişi çiçekten uzaklaştıkça,

yakalanan polen miktarı azaldığı, 100 m. genişliğindeki izolasyon zonunun, istenmeyen polen miktarını önem taşımayacak bir düzeye düşürdüğü görülmüştür.

Karaçam meşceresi ve bahçesindeki polen hareketleri izlenerek, tutulan polenler arasındaki oran % 20-38 arasında bulunmuştur (TULUKÇU ve ark. 2001).

Kızılcım tohum bahçesinde yapılan çalışmada genetik kirlilik oranı % 85.7 olarak bulunmuştur (KAYA 2001).

Bu güne kadar yapılan çalışmalar çoğunlukla tohum bahçelerinin yakındaki tohum meşceresi ile olan etkileşimi yani tohum bahçesinde polen kirliliğinin olup olmadığı üzerinde yoğunlaşmış ve polen kirliliği oranı değişik orman ağacı türlerinde % 21 ile % 91 arasında değiştiği görülmüştür (EL-KASABY ve RITLAND 1986; EL-KASABY ve ark. 1989; ADAMS ve BIRKES 1989; YAZDANI ve LINDGREN 1991; PAKKANEN ve PULKINEN 1991; CARON ve LEBLANC 1992; ADAMS ve ark. 1997).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi

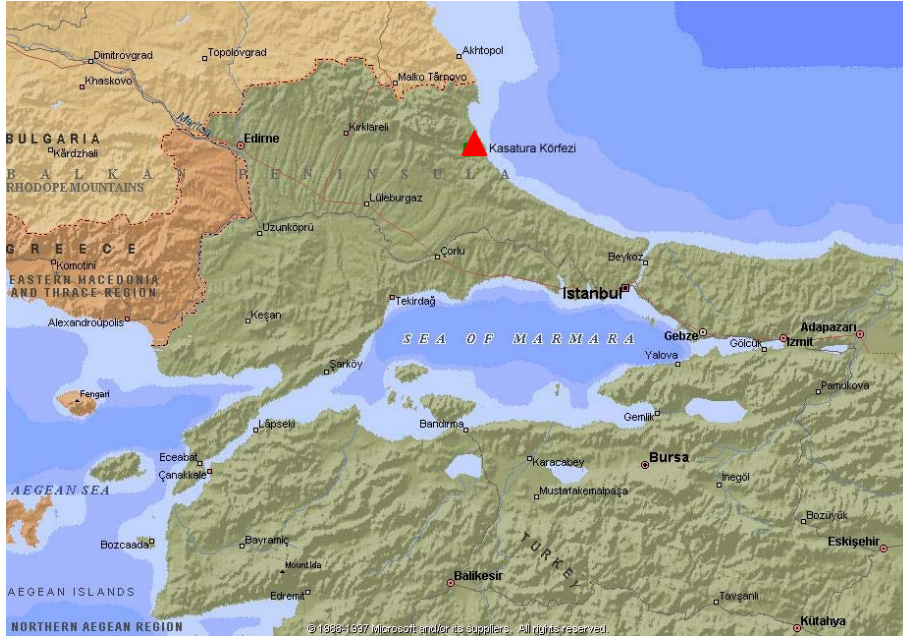
Kasatura Körfezi Tabiatı koruma alanı ile ilgili bilgiler Çizelge 1' de verilmiştir.

#### Çizelge 1. Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanı Bölgesel Bilgileri

Table 1. Administrative and Topographic Information of Kasatura Bay Nature Conservation Area

| İşletme<br>District | Şefflik<br>Subdistrict | Mevki<br>Locality    | Alan (ha)<br>Area | Enlem<br>Latitude | Boylam<br>Longitude | Rakım<br>Altitude |
|---------------------|------------------------|----------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|
| Vize                | Midye                  | Kastro<br>(Çilingöz) | 329               | 28° 13'           | 41° 32'             | 0-200 m           |

Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanındaki doğal karaçam meşçeresi ve ağaçlandırma alanından 97 aileden (Ağaçlandırma alanından 58, doğal meşçereden 39 aile) kozalak toplanmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Çalışılan Populasyonların Konumu (Kırmızı Üçgen)  
Figure 1. Location of Studied Populations (Red Triangle)

Örneklenen ağaçlardan kozalakların toplanması sırasında; örnek ağaçlar arasında en az 100 m mesafe olmasına, 300 m'den fazla yükselti farkı olmamasına ve aynı gelişim çağı sınırında olmasına dikkat edilmiştir. Toplanan kozalakların ağaçların 1/3'lük tepe kısmından olmasına gayret sarfedilmiştir. her ağaç için ayrı bir torbaya konulmuş ve etiketlenerek aile bazında tohum elde edilmiştir.

### **3.2. RAPD Çalışması**

#### **3.2.1. DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonu için 97 ailenin her birinden 8 tohumun megagametofit (çiçekli bitkilerdeki karşılığı: endosperm) dokuları kullanılmıştır. Sonuç olarak toplam 776 (97 aile x 8 tohum) örnekten DNA izole edilmiştir. DNA izolasyonunda kullanılan DELLAPORTA ve ark. (1983) ve KREIKE (1990)'nin kullandığı metodların kombinasyonu aşağıda özetlenmiştir:

Tohumlar +4°C'de 24 saat su içerisinde bekletildikten sonra kabukları çıkarılıp, embriyosu atılmıştır. Çıkarılan megagametofit 1.5 ml'lik eppendorf tüplerinde 400 µl özütleme tamponuyla (0.1 M Tris HCl pH:8, 0.1 M EDTA, 0.25 M NaCl) ezilerek parçalanmıştır. Bu karışıma, 400 µl %2 SDS içeren özütleme tamponu eklendikten sonra karışım 65°C'lik su banyosunda 45 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 250 µl 2 M'lık potasyum asetat eklenip karıştırılmış ve buz içinde en az 30 dakika bekletilmiştir. Tüpler +4°C'de 13000 rpm (Dakikadaki devir sayısı) hızla 15 dakika santrifüj edilerek tüpün üst kısmında bulunan sıvı kısım temiz tüplere aktarılmış ve üzerine 500 µl kloroform:oktanol (24:1) eklenmiştir. Ardından +4°C'de, 13000 rpm hızla, 10 dakika santrifüj sonrasında üstte kalan sıvı tabaka temiz tüplere aktarılmıştır. Daha sonra DNA'nın çökmesi için 800 µl saf etil alkol:0.3 M sodyum asetat karışımı eklenmiş ve tüpler -80°C'de 30 dakika bekletilmiştir. Karışımın +4°C'de 13000 rpm hızla 15 dakika santrifüjü sonrasında, üstte kalan sıvı tabaka dökülmüş ve DNA çökeltisi 400 µl soğuk etil alkol ile (% 70'lik) 2 kez yıkanmıştır. Daha sonra etil alkol uçurularak DNA kurutulmuş ve 50 µl TE tamponunda (10 mM Tris, 1 mM EDTA pH 8.0) çözülmüştür. Elde edilen DNA örnekleri daha sonra kullanılmak üzere -80 °C'de saklanmıştır.

#### **3.2.2. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi**

İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyonları CESARONE ve ark. (1979)'nin florometrik tahlil yöntemiyle belirlenmiştir. Megagametofit başına düşen DNA miktarları 500 ng ile 5000 ng arasında değişmiştir. PCR

uygulamaları için DNA örnekleri 3 ng/μl'ye seyreltilmiştir. Seyreltilmiş DNA örnekleri çalışma boyunca +4 °C'de saklanmıştır.

### 3.2.3. RAPD Primerleri

RAPD primerleri rasgele belirlenen 10 bazlı oligonukleotit primer zincirleri olup, bilgileri British Columbia Üniversitesinden (BC, Kanada) alınmıştır. Primerler G+C içeriği % 60-70 olacak şekilde ve sonları birbirini tamamlamayacak şekilde sentezletilmiştir.

Daha önce karaçam için denenmiş ve kullanılmış olan primerler (KAYA ve NEALE 1993; VELİOĞLU ve ark. 2003a) içinden en yüksek sayıda polimorfik lokus verenler seçilmiştir.

Bu çalışmada tek lokus segregasyon verisi elde etmek amacıyla 776 örnek 8 RAPD primeriyle (UBC-119, UBC-121, UBC-122, UBC-129, UBC-139, UBC-144, UBC-154, UBC-162) taranmıştır.

### 3.2.4. RAPD-PCR Koşulları

Bu çalışmada, kullanılan PCR reaksiyon koşulları Çizelge 2' de verilmiştir (VELİOĞLU ve ark 2003a).

#### Çizelge 2. PCR Koşulları

Table 2. PCR Conditions

| Element<br>Element           | Kullanılan Miktar (μl)<br>Quantity Used | Son Konsantrasyon<br>Final Concentration |
|------------------------------|---|--|
| 10x PCR tamponu              | 2.4                                     | 1x                                       |
| dNTP karışımı (1.25 mM)      | 4                                       | 0.2 mM                                   |
| MgCl <sub>2</sub> (25 mM)    | 2.5                                     | 2.5 mM                                   |
| Primer (1 pikomol/μl)        | 6.0                                     | 6 picomoles                              |
| <i>Taq</i> 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 <sub>2</sub> O             | 6.77                                    |  |
| Toplam reaksiyon karışımı    | 25                                      |  |

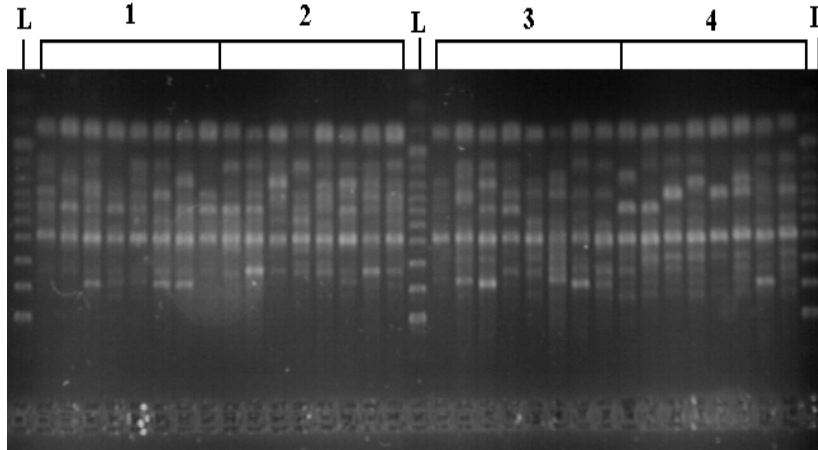
Kullanılan PCR döngüleri Çizelge 3.'de gösterildiği gibidir (KAYA ve NEALE 1993)

**Çizelge 3. PCR Döngüleri**

Table 3. PCR Cycles

| Basamak<br>Level | Sıcaklık<br>Tempretures | Süre<br>Duration | Döngü Sayısı<br>Cycles |
|------------------|-------------------------|------------------|------------------------|
| 1                | 85°C                    | 15sn.            | 1                      |
| 2                | 95°C                    | 5sn.             | 1                      |
| 3                | 92°C                    | 1dk. 55sn.       | 1                      |
| 4                | 95°C                    | 5sn.             | 45                     |
|                  | 92°C                    | 55sn.            |                        |
|                  | 37°C                    | 1dk.             |                        |
|                  | 72°C                    | 2dk.             |                        |
| 5                | 72°C                    | 7dk.             | 1                      |

Elde edilen PCR ürünleri 2 µl, % 25'lik formamid yükleme boyasıyla karıştırılarak % 1.7'lik agaroz jellerinde yürütülmüştür. Jeller 1x TAE (0.4 M Tris Asetat) tamponunda 80 voltta 3 saat yürütüldükten sonra, 5 µg/ml'lik etidyum bromid solusyonu ile 30 dakika boyanmış ve distile su içerisinde 10 dakika bekletilmiştir. UBC-129 primeriyle elde edilen bantlardan bir örnek Şekil 2'de verilmiştir.



**Şekil 2. Ağaçlandırma Alanındaki 1,2,3,4 No'lu Ailelerin UBC-129 Primeriyle Çoğaltılan RAPD Bant Profilleri. L: DNA Standardı.**

Figure 2. RAPD Fragment Profile of Primer UBC-129 for 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup> Families in Plantation Area. Lane L is the DNA Standard.

### 3.2.5. Jellerin Yorumlanması

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

Her bir ana ağacın genotipi her bir lokusta bulunan ve örneklenen 8 endospermdeki bantlardan çıkarılmıştır. Bir örnekte haploid RAPD bantının gözlenmesi durumunda 1 rakamı ve gözlenmemesi durumunda 0 rakamı kullanılmıştır. Haploid megagametofit örneklerinden elde edilen genotipler 97 ağacın her biri için ve her bir lokus için diploid genotipe çevrilmiştir. Ana ağacın genotipini belirlemek için her bir lokus için bir bantın 8 örneğin hepsinde gözlenmesi durumunda baskın homozigot (AA), en az bir örnekte o bantın olmaması durumunda heterozigot (AB) ve bu bantın 8 örneğin hiçbirinde olmaması durumunda çekinik homozigot (BB) değerlendirmesi yapılmıştır (Çizelge 4).

### Çizelge 4. Diploid Genotip Değerlendirmesi

Table 4. Diploid Genotype Scores

| Toplam Örnek Sayısı<br>Total Sample Size | Bant Gözlenen Örnek Sayısı<br>Samples Having Band | Diploid Değerlendirme<br>Diploid Score |
|--|---|--|
| 8  | 8   | AA                                     |
| 8  | 1-7   | AB                                     |
| 8  | 0   | BB                                     |

### 3.2.6. Veri Analizi

Veri toplama aşaması tamamlandıktan sonra veriler popülasyon genetiği analiz programlarında değerlendirilmek üzere elektronik ortama aktarılmıştır. Etkili (Ae) ve gözlenen (A) allel sayısı, beklenen (He) ve gözlenen (Ho) heterozigotluk ve polimorfik lokus (P) oranları POPGENE yazılım programı (Microsoft Window-based Freeware for Population Genetics Analysis, Version 1.31) kullanılarak hesaplanmıştır (YEH ve ark. 1997). F-İstatistiği'nin tahmininde ise GENETIX 4.0 programı (BELKHIR ve ark. 1996-2001) kullanılmıştır. POPULATIONS 1.0 programı (LANGELLA 2000) kullanılarak NEİ (1972)'nin genetik mesafe değerleriyle yakın bağlantı ağaçları (neighbor-joining trees) oluşturulmuştur.



### **3.3. İzoenzim Çalışması**

#### **3.3.1. Örneklerin Hazırlanması**

İzoenzim çalışmasında her iki populasyondan 30'ar aile çalışılmıştır. Öncelikle enzim aktivitesinin başlaması için her aileden 10-15 tohum çimlendirilmiştir. Çimlenen tohumların kökçükleri 2-4 mm'ye ulaşınca özütleme işlemi için tohumların megagametofitleri (1N) embriyolarından (2N) ayrılarak ayrı ayrı tüplerde, buz içerisinde özütleştir. İzoenzim analizinde, çimlenmeye başlamış tohumların embryo ve megagametofitleri ayrı ayrı kullanılmıştır. Doku özütleri BSA (bovine serum albumin) içeren fosfat tamponuyla (0.2M pH:7.5, 50mg/100ml BSA) ezilmiştir. Fosfat tamponu megagametofit özütü için 100 µl, embryo özütü için 50 µl kullanılmıştır. Dokular tamamen ezildikten sonra 15x3.5mm boyutlarında hazırlanan filtre kağıtlarına (Whatman Chromatography Paper, No:3 MM) emdirilmiştir.

Bu çalışmada, bazı değişikliklerle CONKLE ve ark. (1982)'nin ibreliler için uygulanmakta olan laboratuvar kitapçığı temel alınmıştır.

Bu çalışmada 5 enzim sistemini kapsayan 3 farklı jel sistemi kullanılmıştır. Çizelge 5'de çalışılan enzim sistemleri, jel ve yürütme tamponları, uygulanan akım miktarları, enzimlerin kısaltmaları ve enzim komisyonu tarafından enzimlere verilen kod numaraları belirtilmiştir.

Elektroforez işlemi % 11'lik nişasta jel kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nişasta jel proteinlerin ayrılması için uygun ortam sağlamaktadır. Bir gün öncesinden hazırlanan jeller buz dolabında saklanmıştır. Özütleştirilmiş örneklerin emdirildiği filtre kağıtları jelin bir tarafı 3 cm uzaklıktan kesilerek, ayrılan yüze yerleştirilmiştir. Ayrıca enzimlerin yürüme mesafesini tahmin etmek için jellerin her iki tarafına boya emdirilmiş filtre kağıtları yüklenmiştir.

Yüklenen jeller tanklara yerleştirilip süngerimsi bezler yardımı ile tampon çözeltiyle bağlantıları sağlanarak elektrik akımına tabii tutulmuştur. Bu işlem enzimlerin aktivitelerinin bozulmasını önlemek için buz dolabında jellere 4-5 saat sabit akım (katottan anoda doğru) verilerek yapılmıştır. Boyalı fitilin oluşturduğu renkli bant yaklaşık 8 cm ilerlediğinde akım kesilerek, jeller çalışılacak enzim sayısına göre dilimlenip, her dilim enzimlere ait özel boyalarla boyanmıştır. Uygun boya karışımları jellere uygulandıktan sonra jeller 37 °C'de boyanarak, elde edilen bant yapıları yorumlanarak kaydedilmiştir.

### Çizelge 5. Çalışılan Enzim Sistemleri

Table 5. Studied Enzyme Systems

| Jel/Yürütme Tamponları<br>Gel/Tray Buffers       | Enzim sistemleri<br>Enzyme systems  | Kısaltması<br>Abbreviations | E.C. No  |
|--|-------------------------------------|-----------------------------|----------|
| Tris citrate (pH 8.3)                            | Leucine aminopeptidase              | LAP                         | 3.4.11.1 |
| Lithium borate (pH 8.3)                          | Phosphoglucose isomerase            | PGI                         | 5.3.1.9  |
| Morpholine citrate (pH 6.2)                      | Acid phosphatase                    | ACP                         | 3.1.3.2  |
| Morpholine citrate (pH 6.2)                      | Malate dehydrogenase                | MDH                         | 1.1.1.37 |
| Tris citrate (pH 8.8)/<br>Sodium borate (pH 8.0) | Glutamate oxaloacetate transaminase | GOT                         | 2.6.1.1  |

#### 3.3.2. Jellerin Yorumlanması

Bantların yorumlanmasında jel üzerinde ilerledikleri mesafeler göz önüne alınarak lokus numaraları verilmiştir (en ilerideki lokus 1). Lokusların numaraları belirlendikten sonra, aktif zonlar içindeki bant yapıları dikkate alınarak en ilerdekine Allel-1, sonrakine Allel-2 diyerek bütün bantlar numaralandırılmıştır. Buna göre elde edilen veriler bilgisayar ortamında girilmiş ve yorumlanmıştır.

#### 3.3.3. Veri Analizi

Çalışılan lokuslar bakımından enzimlerin bant yapıları belirlenmiştir ve POPGENE (Microsoft Window-based Freeware for Population Genetics Analysis, Version 1.31) yazılımı kullanılarak ağaçlandırma ve doğal populasyondan örneklenen herbir bireyde bütün lokuslar için allel frekansları hesaplanmıştır (YEH ve ark. 1997).

Genetik (polen) kirliliğinin tesbiti için, doğal populasyon ve ağaçlandırmadan örneklenen ailelerin megagametofit ve embriyo genotipleri belirlenmiştir. Megagametofit doku embriyo oluşumuna katkıda bulunan anneden gelen gametin genotipini yansıtacağından dolayı herbir lokus için megagametofit dokudaki bant ile, o megagametofit dokusuna karşılık gelen embriyo oluşumuna katkıda bulunan polen gametinin genotipi belirlenmiştir. Bu amaçla doğal populasyondan örneklenen 30 bireyin polen gametlerinin genotipi belirlenmiştir. Polen kirliliğinin hesaplanmasında GENFLOW programı kullanılmıştır (ADAMS ve BURCZYK 1993).

#### 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada, Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanı'nda bulunan doğal karaçam meşceresiyle, bu yörede orijini bilinmeyen fidanlarla kurulan ağaçlandırma alanının genetik çeşitliliğinin boyutu ve yapılaşması RAPD belirteçleriyle tespit edilmiştir. Bu amaçla doğal populasyondan 39, ağaçlandırma alanından 58 olmak üzere, toplam 97 ağacın tohumlarının megagametofitleri kullanılmıştır. Ayrıca her iki populasyondan 30'ar ağaçla izoenzim analizi yapılarak, polen kirliliğinin boyutu tespit edilmiştir.

##### 4.1. RAPD Bulguları

###### 4.1.1. Populasyonların Genetik Yapıları

Çalışılan 8 primerde 74 polimorfik RAPD bantı gözlenmiştir. Doğal meşcerede 73, ağaçlandırmada 71 lokus görülmüştür. Monomorfik lokus bulunamamıştır, çünkü kullanılan lokuslar 2 populasyonun en az birinde polimorfiktir. Tespit edilen düşük frekanslı (<10) ve bütün populasyonlarda gözlenmeyen bantlar analize dahil edilmemiştir. Belirli bir populasyona özgü(n) bir allele (banta) rastlanmamıştır.

Her populasyondaki polimorfik bant sayısı da farklılıklar göstermiştir. Primer başına gözlenen polimorfik bant sayısı 7 (UBC-162) ile 11 (UBC-112-129) arasında değişmiş ve ortalama olarak 9 adet bulunmuştur.

###### 4.1.2. Genetik Çeşitlilik

Populasyonların genetik çeşitliliğini belirlemede gözlenen ve etkili allel sayısı, beklenen ve gözlenen heterozigotluk ve polimorfik lokus oranı gibi kriterler kullanılmıştır (Çizelge 6).

###### 4.1.3. Allel Sayısı

Genetik çeşitliliğin bileşenlerinden biri olan allel sayısı ( $A$ ), lokus başına düşen allel sayısıdır. Gözlenen allel sayısı doğal populasyonda 1.98, ağaçlandırmada 1.96; etkili allel sayısı ( $Ae$ ) ise her iki populasyonda da aynı (1.62) bulunmuştur (Çizelge 6). Bu sonuçlar karaçam ve kızılçamda daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. VELİOĞLU ve ark. (2003a) tarafından karaçam populasyonlarında yapılan RAPD çalışmasında ortalama  $Ae$  değeri 1.70 bulunmuştur. Etkili allel sayısı beklendiği gibi gözlenen değerlerden düşük bulunmuştur. Gözlenen allel sayısı sadece bütün alleller eşit frekansta olduğu zaman etkili allel sayısına eşittir (KIMURA ve CROW 1978). Bu nedenle, letal genler etkili allel sayısına dahil edilmeyeceği için, etkili allel sayısı gözlenen allel sayısından her zaman daha düşük olacaktır.

**Çizelge 6. RAPD ile Belirlenmiş Çalışılan Populasyonlara Ait Gözlenen Ortalama Allel Sayısı (A), Ortalama Etkili Allel Sayısı (Ae), Polimorfik Lokus Oranı (P), Gözlenen Heterozigotluk (Ho) ve Beklenen Heterozigotluk ve Standart Hataları**

Table 6. Mean Number of Observed Alleles (Na), Mean Number of Effective Alleles (Ne), Proportion of Polymorphic Loci (P), Observed Heterozygosity (Ho), Expected Heterozygosity (He) and their Standart Errors for the Studied Populations

| Populasyonlar<br>Populations       | A<br>(Na) | Ae<br>(Ne) | *P<br>% | Ho        | He        |
|------------------------------------|-----------|------------|---------|-----------|-----------|
| Ağaçlandırma alanı<br>(Plantation) | 1.96±0.02 | 1.62±0.03  | 96      | 0.42±0.03 | 0.35±0.02 |
| Doğal meşcere<br>(Natural Stand)   | 1.98±0.01 | 1.62±0.03  | 99      | 0.39±0.02 | 0.36±0.01 |

\*: 0.99 kriterine göre (0.99 criterion)

**4.1.4. Polimorfik Lokus Oranı**

En yaygın allelin frekansı % 99'dan az olan lokus polimorfik lokus olarak adlandırılarak, polimorfik lokus oranı (0.99 kriterinde) ağaçlandırmada % 96, doğal meşcerede % 99 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 6).

Bir canlı türü, belli çevre koşulları için ne kadar farklı gene sahip olursa (polimorfik olursa), tür genetik bakımından o derece zengindir. Bu çalışmada elde edilen populasyon içindeki genetik çeşitlilik oranları (% 96-99), yüksek genetik çeşitliliğin göstergesidir. Bu çalışmada elde edilen *P* değeri karaçam populasyonlarında yapılmış diğer bir RAPD çalışmasının sonuçlarıyla paraleldir. VELİOĞLU ve ark. (2003a) tarafından yapılan bu çalışmada *P* değeri ortalama % 94 bulunmuştur.

**4.1.5. Heterozigotluk**

Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ortalama allel sayısı ve Hardy-Weinberg şartlarında tahmin edilen heterozigotluk düzeyi, polimorfizm oranından daha iyi bir parametredir (NEVO 1978; GIANNINI ve ark. 1991). Gözlenen heterozigotluk (*Ho*) ağaçlandırmada 0.42, doğal meşcerede 0.39 (Çizelge 6), beklenen heterozigotluk (*He*) ise meşcerede 0.36,

ağaçlandırmada 0.35 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler de karaçamda yüksek genetik çeşitliliğinin bir göstergesidir. Karaçam populasyonlarında yapılan RAPD çalışmasında *Ho* ve *He* değerleri ortalama olarak 0.39 ve 0.51 bulunmuştur (VELİOĞLU ve ark. 2003a). Kasatura Körfezi'ndeki ağaçlandırma alanı ile doğal populasyon arasında beklenen heterozigotluk açısından belirgin bir farklılık yoktur.

Türkiye'de son buzul döneminde buzul döneminin etkisi görülmediğinden (ERİNÇ 1978), çam, göknar, ardıç gibi türler Doğu Akdenizde, alçak rakımlarda yaşamlarını sürdürmüşlerdir (TSOUMIS 1998). Bu dönemde Anadolu pekçok tür için bir çeşit buzul sığınağı olmuştur (BRICE 1978; TSOUMIS 1998). Bu tür alanlar çeşitliliğin yoğunlaştığı yerlerdir (LEDIG 1987). Erken Holosende ibrelili ormanlar genişlemiş ve zamanla da parçalı hale gelmiştir (LEDIG 1998). Ormanların parçalanarak kesintili hale gelmesi nedeniyle, populasyon içerisindeki genetik çeşitliliğin artması ve populasyonlar arasında farklılaşma (differentiation) olması beklenir (LEDIG 1998). Kasatura Körfezi doğal karaçam meşceresinin de izole bir populasyonun olarak yüksek genetik çeşitliliği ve populasyonlar arası farklılaşmanın bulunduğu görülmüştür.

#### 4.1.6. F-İstatistiği (Populasyonlar Arası ve İçi Farklılıklar)

Wright'ın F-istatistiğiyle genetik çeşitliliğin populasyonlar arasındaki dağılımı ve Hardy-Weinberg dengesinden sapma olup olmadığı belirlenmiştir (WRIGHT 1951).  $F_{IS}$  değeri populasyon içindeki,  $F_{IT}$  ise her bir populasyondaki Hardy-Weinberg dengesinde beklenen heterozigotluk düzeyindeki sapma derecesini vermektedir.  $F_{ST}$  değeri ise her bir lokusun populasyonlar arasındaki farklılaşmasını göstermektedir.

Hesaplanan  $F_{IS}$  (-0.15) ve  $F_{IT}$  (-0.11) değerleri negatif bulunmuştur ( $P < 0.001$ ) (Çizelge 7).  $F_{IT}$  değerinin -0.11 olması çalışılan populasyonlarda heterozigotluğun beklenenden yaklaşık % 11 fazla olduğuna işaret eder. Bu değerler daha önce karaçamda yapılan RAPD çalışması ile uyumludur (VELİOĞLU ve ark. 2003a).  $F_{IS}$  ve  $F_{IT}$  değerlerinin negatif olması birbirine benzemeyen genotipler arasındaki eşleşmenin tercih edilmesi (negative assortative mating) ve heterozigotların lehine bir seçim sonucu olabilir (BROWN 1979; EL-KASSABY ve ark. 1987; FADY ve CONKLE 1993).

Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın göstergesi olan  $F_{ST}$  değeri 0.04 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 7). Bu değer bu iki populasyon arasındaki genetik farklılaşmanın % 4, populasyon içi farklılaşmanın % 96 olduğunu göstermektedir. Elde edilen F-istatistiği değerleri diğer ibrelilerle yapılan araştırma sonuçlarıyla uyumludur (CONKLE ve ark. 1988; KARA ve ark. 1997; DOĞAN ve ark. 1998; GÜLBABA ve ÖZKURT 1998;

PANETSOS ve ark. 1998; LİSE 2000; VELİOĞLU ve ark. 2003a; VELİOĞLU ve ark. 2003b).

**Çizelge 7. RAPD Analizine Göre Wright'ın F-İstatistiği Sonuçları**  
Table 7. Summary of Wright's F-statistics for RAPD Analysis

| Örnek sayısı<br>Sample size | F <sub>IS</sub> | F <sub>IT</sub> | F <sub>ST</sub> | Nm  |
|-----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----|
| 194                         | -0.15***        | -0.11***        | 0.04***         | 6.7 |

(\*\*\* $P < 0.001$ )

F<sub>IS</sub> : Populasyon içi fiksasyon indeksi (Fixation index within subpopulations)  
F<sub>IT</sub> : Tüm populasyonlar için fiksasyon indeksi (Total fixation index)  
F<sub>ST</sub> : Populasyonlar arası genetik çeşitlilik (Genetic differentiation)  
Nm: Gen akışı katsayısı (Gene flow)

Populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliği etkileyen faktörlerden birisi de gen akımıdır. F<sub>ST</sub> değerine dayanarak hesaplanan gen akışı olan Nm değeri, 6.7 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 7). Kritik Nm değeri 0.5 olup bu değer üzerinde değerler gen akışının genetik kaymayı önleyecek miktarda olduğunu göstermektedir (WRIGHT 1969). Çalışılan populasyonlar birbirine bitişik olduğundan, Nm değerinin yüksek çıkması beklenen bir sonuçtur

Orman ağaçları, tohumlarının büyük bir kısmını dar bir alana (yaklaşık 100 m) taşıyabildiğinden, her populasyon kendisini oluşturan alt populasyonlardan oluşmaktadır (IŞIK 1988). Alt populasyon da, bulunduğu mikrohabitatın özel çevre koşullarına özgü farklı seçim basıncı ve göç faktörlerinin etkisi altında, oradaki yerel çevre farklılıklarına uyum yapmış farklı bireylerden oluştuğundan, populasyon içi genetik çeşitlilik yüksek olur (IŞIK 1983). Bu yüzden çok kısa mesafelerde bile farklı ırklar ve alt ırklar oluşabilir. Ülkemizde kısa mesafelerde farklı lokal ırkların varlığını ortaya koyan çalışmalar mevcuttur (BOYDAK 1977; IŞIK 1979; ASLAN ve UĞURLU 1986).

Bir populasyonu oluşturan alt populasyonlardan bazılarında genetik çeşitlilik fazla iken, bazılarında daha az olabilir. Yani mikrohabitat farklılıklarının yarattığı seleksiyon basıncından dolayı genetik çeşitlilik alt populasyonlarda eşit olarak dağılmayabilir. Bu çalışmada hesaplanan F<sub>IS</sub>, F<sub>IT</sub> ve F<sub>ST</sub> değerleri bütün primerlerde (bütün lokuslarda) farklıdır (Çizelge 8). Bu durum her iki populasyondaki lokusların çevresel faktörlerdeki

değişimlerden bağımsız olarak etkilendiğini göstermektedir. Lokus başına düşen  $F_{ST}$  değerinin büyüklüğü o lokusun populasyonlar arasındaki farklılığa yaptığı etkiyi göstermektedir. Çizelge 8 incelendiğinde, populasyonlar arasındaki farklılaşmaya en büyük etkiyi UBC-122 (0.071) ve UBC-121 (0.077) primerlerinde görülen lokusların yaptığı görülür. UBC-122' nin 1. ve 8. ve UBC-121'in 1., 10. ve 11. lokusları en etkili lokuslardır.

**Çizelge 8. RAPD Belirteçleriyle Her Bir Lokus İçin Hesaplanan Wright'ın F-istatistiği Sonuçları**

Table 8. Results of Wright's F-statistics in Each Loci Estimated by RAPD Markers

| Lokus Loci | $F_{IS}$ | $F_{IT}$ | $F_{ST}$ | Lokus Loci | $F_{IS}$ | $F_{IT}$ | $F_{ST}$ |
|------------|----------|----------|----------|------------|----------|----------|----------|
| UBC154-1   | 0.051    | 0.052    | 0.002    | UBC122-2   | 0.185    | 0.188    | 0.003    |
| UBC154-2   | -0.401   | -0.400   | 0        | UBC122-3   | 0.475    | 0.555    | 0.152    |
| UBC154-3   | -0.101   | -0.106   | 0        | UBC122-4   | -0.195   | -0.143   | 0.044    |
| UBC154-4   | -0.294   | -0.276   | 0.014    | UBC122-5   | -0.095   | -0.069   | 0.024    |
| UBC154-5   | -0.510   | -0.506   | 0.003    | UBC122-6   | 0.126    | 0.127    | 0.001    |
| UBC154-6   | 0.065    | 0.066    | 0.001    | UBC122-7   | -0.168   | -0.097   | 0.061    |
| UBC154-7   | -0.197   | -0.171   | 0.021    | UBC122-8   | 0.192    | 0.452    | 0.322    |
| UBC154-8   | -0.340   | -0.340   | 0        | UBC122-9   | 0.097    | 0.097    | 0.0001   |
| UBC154-9   | -0.251   | -0.242   | 0.007    | UBC122-10  | 0.504    | 0.505    | 0.0003   |
| UBC154-10  | -0.280   | -0.248   | 0.024    | UBC122-ORT | 0.149    | 0.206    | 0.071    |
| UBC154-ORT | -0.226   | -0.217   | 0.007    | UBC121-1   | 0.164    | 0.255    | 0.109    |
| UBC162-1   | 0.052    | 0.061    | 0.009    | UBC121-2   | -0.098   | -0.009   | 0.080    |
| UBC162-2   | -0.094   | -0.093   | 0.0002   | UBC121-3   | -0.609   | -0.606   | 0.002    |
| UBC162-3   | 0.143    | 0.146    | 0.004    | UBC121-4   | -0.520   | -0.441   | 0.052    |
| UBC162-4   | -0.085   | -0.081   | 0.003    | UBC121-5   | -0.415   | -0.402   | 0.009    |
| UBC162-5   | -0.180   | -0.096   | 0.070    | UBC121-6   | -0.455   | -0.437   | 0.012    |
| UBC162-6   | -0.294   | -0.266   | 0.022    | UBC121-7   | -0.064   | -0.008   | 0.052    |
| UBC162-7   | -0.034   | 0.106    | 0.137    | UBC121-8   | -0.062   | -0.057   | 0.005    |
| UBC162-ORT | -0.070   | -0.032   | 0.035    | UBC121-9   | -0.082   | -0.037   | 0.042    |
| UBC131-1   | -0.085   | -0.033   | 0.047    | UBC121-10  | -0.090   | 0.209    | 0.275    |
| UBC131-2   | -0.164   | -0.154   | 0.008    | UBC121-11  | -0.067   | 0.153    | 0.207    |
| UBC131-3   | -0.116   | -0.081   | 0.031    | UBC121-ORT | -0.208   | -0.125   | 0.077    |
| UBC131-4   | -0.023   | -0.023   | 0.0001   | UBC144-1   | -0.226   | -0.171   | 0.044    |
|            |          |          |          |            |          |          |          |

|            |        |        |        |            |        |        |        |
|------------|--------|--------|--------|------------|--------|--------|--------|
| UBC131-6   | 0.579  | 0.580  | 0.004  | UBC144-3   | -0.155 | -0.151 | 0.003  |
| UBC131-7   | 0.873  | 0.886  | 0.102  | UBC144-4   | -0.161 | -0.121 | 0.034  |
| UBC131-8   | 0.901  | 0.906  | 0.047  | UBC144-5   | -0.014 | -0.006 | 0.008  |
| UBC131-ORT | 0.249  | 0.265  | 0.032  | UBC144-6   | 0.925  | 0.926  | 0.023  |
| UBC129-1   | -0.595 | -0.59  | 0.0002 | UBC144-7   | 0.038  | 0.038  | 0.0002 |
| UBC129-2   | -0.174 | -0.15  | 0.02   | UBC144-8   | -0.045 | -0.031 | 0.013  |
| UBC129-3   | 0.917  | 0.926  | 0.106  | UBC144-ORT | -0.011 | 0.004  | 0.016  |
| UBC129-4   | 0.129  | 0.215  | 0.099  | UBC119-1   | -0.119 | -0.104 | 0.013  |
| UBC129-5   | -0.556 | -0.550 | 0.005  | UBC119-2   | -0.317 | -0.315 | 0.001  |
| UBC129-6   | -0.254 | -0.194 | 0.048  | UBC119-3   | -0.275 | -0.272 | 0.002  |
| UBC129-7   | 0.081  | 0.095  | 0.015  | UBC119-4   | 0.194  | 0.196  | 0.002  |
| UBC129-8   | -0.597 | -0.590 | 0.004  | UBC119-5   | -0.549 | -0.549 | 0.0003 |
| UBC129-9   | -0.554 | -0.545 | 0.006  | UBC119-6   | -0.611 | -0.576 | 0.021  |
| UBC129-10  | -0.085 | -0.008 | 0.071  | UBC119-7   | 0.313  | 0.316  | 0.005  |
| UBC129-11  | 0.894  | 0.902  | 0.076  | UBC119-8   | -0.649 | -0.649 | 0.002  |
| UBC129-ORT | -0.072 | -0.050 | 0.045  | UBC119-9   | 0.194  | 0.222  | 0.035  |
| UBC122-1   | 0.372  | 0.439  | 0.106  | UBC119-ORT | -0.202 | -0.192 | 0.082  |

#### 4.1.7. Populasyonlar Arasında Genetik Mesafe

Kasatura Körfezi doğal karaçam meşçeresi ve ağaçlandırma alanının 4 adet karaçam tohum meşçeresiyle karşılaştırılması amacıyla NEI (1972)'nin Standart Genetik Mesafe değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 9). Dursunbey tohum meşçeresi RAPD analizleri sırasında Kasatura Körfezi populasyonlarıyla birlikte çalışılmıştır. Daren, Burhandag, Balıköy tohum meşçerelerine ait RAPD analizi verileri ise VELİOĞLU ve ark. (2003a) çalışmasından elde edilmiştir. Bu amaçla bütün populasyonların analizlerinde ortak olan 4 primer (20 lokus) kullanılmıştır. Lokus sayısındaki azalmadan dolayı genetik mesafe değerleri VELİOĞLU ve ark. (2003a) çalışmasından farklı bulunmuştur.

Genetik mesafe değerleri 0-1 arasında değişmekte olup, bu değerlerin "0" olması populasyonların genetik olarak aynı olduğunu gösterir. Çalışılan tüm populasyonlar arasında genetik mesafe değerleri 0.027-0.164 arasında değişmiştir. Kasatura ağaçlandırma alanına en benzer populasyon 0.040 genetik mesafe değeri ile Kasatura doğal meşçeresi, ikinci benzer populasyon ise 0.054 genetik mesafe değeri ile Dursunbey populasyonudur.



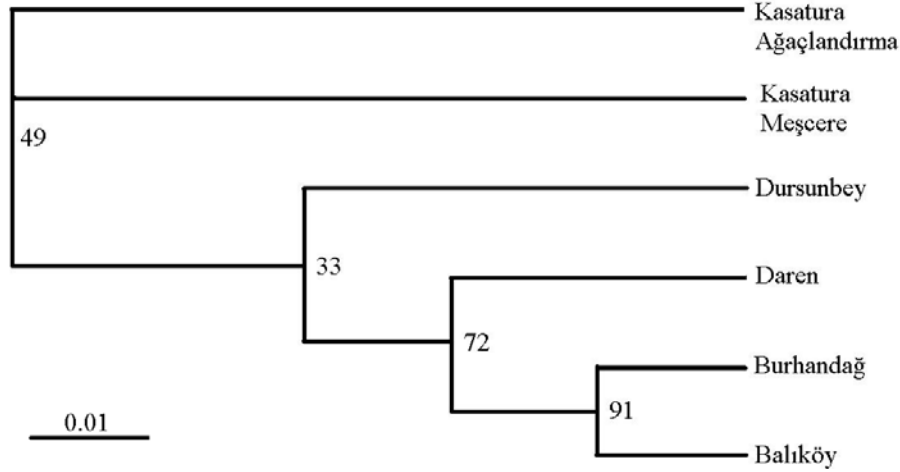
**Çizelge 9. Populasyonların Genetik Mesafe Değerleri (A:Ağaçlandırma, D:Doğal populasyon)**

Table 9. Genetic Distance Values of Populations

|                   | <b>Kasatura A</b> | <b>Kasatura D</b> | <b>Burhandağ</b> | <b>Balıköy</b> | <b>Daren</b> | <b>Dursunbey</b> |
|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|----------------|--------------|------------------|
| <b>Kasatura A</b> | -----             | 0.040             | 0.099            | 0.068          | 0.099        | 0.054            |
| <b>Kasatura D</b> |                   | -----             | 0.107            | 0.108          | 0.133        | 0.081            |
| <b>Burhandağ</b>  |                   |                   | -----            | 0.027          | 0.085        | 0.164            |
| <b>Balıköy</b>    |                   |                   |                  | -----          | 0.074        | 0.116            |
| <b>Daren</b>      |                   |                   |                  |                | -----        | 0.101            |
| <b>Dursunbey</b>  |                   |                   |                  |                |              | -----            |

Ayrıca populasyonlar arası ilişkilerin belirlenmesi amacıyla NEI (1972)'nin genetik mesafe değerleri kullanılarak dendrogram çizilmiştir (Şekil 3). Dendrogramda her bir ayırımın yanındaki değerler yüzde olarak bölünmenin güvenilirliğini göstermektedir. Dendrogramda 3 ana kol oluşmuştur. Birinci kol ağaçlandırma alanını, ikinci kol doğal meşcereyi kapsamaktadır. Üçüncü kol tekrar iki kola ayrılmış ve bir tarafta Dursunbey populasyonunu, diğer tarafta 3 tohum meşceresini kapsamıştır. Birbirine en benzer populasyon çifti Burhandağ ve Balıköy (% 91 olasılık ile) populasyonlarıdır.

Oluşturulan dendrograma göre ağaçlandırma alanı; hem doğal populasyondan, hem de diğer populasyonlardan ayrılmıştır. Dolayısıyla Kasatura Bölgesi'ndeki yapılan ağaçlandırmanın Dursunbey, Daren, Burhandağ, Balıköy ve Kasatura doğal meşceresinden yapılmadığı yüksek bir ihtimal olarak görülmektedir. Ağaçlandırmanın diğer populasyonlarla olan genetik mesafe değerleri göz önünde bulundurularak, bu ağaçlandırmanın Trakya'daki yakın karaçam populasyonlarından elde edilen tohumların fidanlarıyla kurulduğu düşünülebilir. Ancak bu olasılığın RAPD primerleri kullanarak yapılacak bir çalışmada Trakya bölgesinden başka populasyonların dahil edilmesiyle desteklenmesi yerinde olacaktır.



**Şekil 3. Kasatura Körfezi Doğal Karaçam Meşceresi, Aaçlandırması ve 4 Tohum Meşceresinin İlişkilerini Gösteren Dendrogram**

Figure 3. Dendrogram Showing Relations of Kasatura Bay Natural Stand, Plantation and 4 Seed Stands

## 4.2. İzoenzim Bulguları

### 4.2.1. İzoenzim Bant Yapıları

Öncelikle herbir enzim sistemi için izoenzim bant yapıları belirlenmiştir. Megagametofit ve embriyo dokuları karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Bant yapıları ve allellerin orjinden olan uzaklıkları Şekil 3’de verilmiştir.

**MDH:** Bu enzim sisteminde 3 lokus tespit edilmiştir. MDH-1, MDH-2 ve MDH-3 olarak adlandırılan bu lokusların herbiri ikişer allelidir.

**ACP:** İki lokus tarafından kontrol edilen bu enzim sisteminde ACP-1 ve ACP-2 olarak adlandırılan bu lokusların ikisinde polimorfiktir. VELİOĞLU ve ark. (1999b)’de bu enzim sisteminde karaçamda 2 lokus tespit etmiştir. Diğer çam türlerinde 1-4 lokus gözlemlenmiştir (ADAMS ve JOLY 1980; STRAUSS ve CONKLE 1986).

**LAP:** Bir lokusta toplanan LAP’ta iki allel gözlenmiştir. Karaçamda VELİOĞLU ve ark. (1999c)’de 1 lokus 2 allel bulmuşlardır. Ancak karaçamda yapılan başka bir çalışmada (VELİOĞLU ve ark. 1999b) iki aktif zonda 3 allel gözlenmiştir.

**PGI:** İki lokusa ait 4 allel (PGI-1’de 2 allel, PGI-2’de 2 allel) gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar benzer çalışma sonuçlarıyla (DOĞAN ve ark. 1998, VELİOĞLU ve ark. 1999b) aynı olup, diğer ibreli türlerde elde

edilen sonuçlarla benzerdir (STRAUSS ve CONKLE 1986; KING ve DANCİK 1983; CHELIAK ve PİTEL 1985; ADAMS ve ark. 1990).

**GOT:** Üç lokus tarafından kontrol edilen bu enzim sisteminde GOT-1'de tek allel gözlenmiş ve monomorfiktir. GOT-2 ve GOT-3'de ise 2'şer allel gözlenmiştir. GOT-3'ün ikinci allelinin bir bantı katot yönünde gözlenmiştir. Sonuçlar DOĞAN ve ark. (1998) ve VELİOĞLU ve ark. (1999b)'nin elde ettiği sonuçlarla paraleldir.

|       | Acp-1 |    |   |    |   |    | Acp-2 |    |   |    |   |    |
|-------|-------|----|---|----|---|----|-------|----|---|----|---|----|
|       | M     | E  | M | E  | M | E  | M     | E  | M | E  | M | E  |
| 6 cm  |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 5 cm  |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 4 cm  |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 3 cm  |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 2 cm  |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 1 cm  |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| orjin |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 1 cm  |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
|       | 1     | 11 | 1 | 12 | 2 | 22 | 1     | 11 | 1 | 12 | 2 | 22 |

|       | Got-1 |    | Got-2 |    |   |    |   |    | Got-3 |    |   |    |   |    |
|-------|-------|----|-------|----|---|----|---|----|-------|----|---|----|---|----|
|       | M     | E  | M     | E  | M | E  | M | E  | M     | E  | M | E  |   |    |
| 6 cm  |       |    |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 5 cm  |       |    |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 4 cm  |       |    |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 3 cm  |       |    |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 2 cm  |       |    |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 1 cm  |       |    |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| orjin |       |    |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
| 1 cm  |       |    |       |    |   |    |   |    |       |    |   |    |   |    |
|       | 1     | 11 | 1     | 11 | 1 | 12 | 2 | 22 | 1     | 11 | 1 | 12 | 2 | 22 |

**Şekil 3. Megagametofit ve Embriyo İzoenzim Bant Yapıları**  
 Figure 3. Megagametophyte and Embryo Isoenzyme Banding Patterns

|       | Lap-1          |       | Mdh-1          |
|-------|----------------|-------|----------------|
|       | M E M E M E    |       | M E M E M E    |
| 6 cm  |                | 6 cm  |                |
| 5 cm  |                | 5 cm  |                |
| 4 cm  |                | 4 cm  | — — — — —      |
| 3 cm  | — — — — —      | 3 cm  |                |
| 2 cm  |                | 2 cm  |                |
| 1 cm  |                | 1 cm  |                |
| orjin |                | orjin |                |
| 1 cm  |                | 1 cm  |                |
|       | 1 11 1 12 2 22 |       | 1 11 1 12 2 22 |

|       | Mdh-2          |       | Mdh-3          |
|-------|----------------|-------|----------------|
|       | M E M E M E    |       | M E M E M E    |
| 6 cm  |                | 6 cm  |                |
| 5 cm  |                | 5 cm  |                |
| 4 cm  |                | 4 cm  |                |
| 3 cm  | — — — — —      | 3 cm  |                |
| 2 cm  |                | 2 cm  |                |
| 1 cm  |                | 1 cm  | — — — — —      |
| orjin |                | orjin |                |
| 1 cm  |                | 1 cm  |                |
|       | 1 11 1 12 2 22 |       | 1 11 1 12 2 22 |

**Şekil 3. (Devam ediyor) Megagametofit ve Embriyo İzoenzim Bant Yapıları**

Figure 3. (Continue) Megagametophyte and Embryo Isoenzyme Banding Patterns

|       | Pgi-1 |     |     |     |     |     | Pgi-2 |     |     |     |     |    |
|-------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-----|-----|-----|-----|----|
|       | M     | E   | M   | E   | M   | E   | M     | E   | M   | E   | M   | E  |
| 6 cm  |       |     |     |     |     |     |       |     |     |     |     |    |
| 5 cm  |       |     |     |     |     |     |       |     |     |     |     |    |
| 4 cm  |       |     |     |     |     |     |       |     |     |     |     |    |
| 3 cm  | ---   | --- | --- | --- | --- | --- |       |     |     |     |     |    |
| 2 cm  |       |     |     |     |     |     | ---   | --- | --- | --- |     |    |
| 1 cm  |       |     |     |     |     |     |       |     | --- | --- | --- |    |
| orjin |       |     |     |     |     |     |       |     |     |     |     |    |
| 1 cm  |       |     |     |     |     |     |       |     |     |     |     |    |
|       | 1     | 11  | 1   | 12  | 2   | 22  | 1     | 11  | 1   | 12  | 2   | 22 |

**Şekil 3. (Devam ediyor) Megagametofit ve Embriyo İzoenzim Bant Yapıları**

Figure 3. (Continue) Megagametofit and Embryo Isoenzyme Banding Patterns

#### 4.2.2. Populasyonların Genetik Yapıları

Çalışılan iki populasyonda, 5 enzim sisteminde toplam 11 lokusta 21 allel gözlenmiştir. Bunlardan GOT-1 lokusu her iki populasyonda da monomorfiktir. Ayrıca LAP-2 lokusu tüm bireylerde gözlenmediğinden istatistik analizlere dahil edilmemiştir. Belirli bir populasyona özgü allele rastlanmamıştır. İzoenzim analizinde çalışılan her iki populasyon için megagametofit dokudan belirlenen allel frekansları Çizelge 10 'da verilmiştir.

**Çizelge 10. Çalışılan Populasyonların Megagametofit Dokuları İçin Hesaplanan Allel Frekansları**

Table 10. Allel Frequencies of Megagametophyte Tissues for Studied Populations

| <b>Lokus</b><br>Locus | <b>Allel</b><br>Allele | <b>Ağaçlandırma Alanı</b><br>Plantation | <b>Doğal Populasyon</b><br>Natural Stand |
|-----------------------|------------------------|---|--|
| <b>ACP-1</b>          | 1                      | 0.233                                   | 0.750                                    |
|                       | 2                      | 0.767                                   | 0.250                                    |
| <b>ACP-2</b>          | 1                      | 0.450                                   | 0.500                                    |
|                       | 2                      | 0.550                                   | 0.500                                    |
| <b>LAP-1</b>          | 1                      | 0.733                                   | 0.817                                    |
|                       | 2                      | 0.267                                   | 0.183                                    |
| <b>PGI-1</b>          | 1                      | 0.450                                   | 0.517                                    |
|                       | 2                      | 0.550                                   | 0.483                                    |
| <b>PGI-2</b>          | 1                      | 0.483                                   | 0.300                                    |
|                       | 2                      | 0.517                                   | 0.700                                    |
| <b>MDH-1</b>          | 1                      | 0.467                                   | 0.500                                    |
|                       | 2                      | 0.533                                   | 0.500                                    |
| <b>MDH-2</b>          | 1                      | 0.483                                   | 0.600                                    |
|                       | 2                      | 0.517                                   | 0.400                                    |
| <b>MDH-3</b>          | 1                      | 0.450                                   | 0.517                                    |
|                       | 2                      | 0.550                                   | 0.483                                    |
| <b>GOT-2</b>          | 1                      | 0.533                                   | 0.567                                    |
|                       | 2                      | 0.467                                   | 0.433                                    |
| <b>GOT-3</b>          | 1                      | 0.467                                   | 0.467                                    |
|                       | 2                      | 0.533                                   | 0.533                                    |

Ağaçlandırma ve doğal populasyonda çalışılan ailelerin megagametofit dokularında allellerin 1:1 oranında ayrışıp ayrışmadığını test etmek için Khi-kare ( $X^2$ ) testi yapılmıştır. Bu test sonucunda ACP-1 ( $P<0.001$ ) ve PGI-2 ( $P<0.05$ ) lokuslarında beklenen ayrışma oranlarından sapmalar bulunmuştur (Çizelge 11). Geri kalan 8 lokus içinse beklenen 1:1 ayrışım oranı gözlenmiştir.

**Çizelge 11. Çalışılan lokusların megagametofit dokularındaki beklenen 1:1 oranındaki allel ayrışımı için yapılan Khi-kare( $X^2$ ) testi sonuçları**  
 Figure 11. Chi square ( $X^2$ ) test results for testing of segregation (1:1) of alleles in megagametophyte tissues for studied loci

| Lokus<br>Locus | $X^2$ (serbestlik derecesi=1)<br>(df=1) | P     | Olasılık<br>Probability |
|----------------|---|-------|-------------------------|
| ACP-1          | 32.042                                  | 0.000 | <0.001                  |
| ACP-2          | 0.301                                   | 0.583 | >0.05                   |
| LAP-1          | 1.195                                   | 0.274 | >0.05                   |
| PGI-1          | 0.534                                   | 0.465 | >0.05                   |
| PGI-2          | 4.232                                   | 0.039 | <0.05                   |
| MDH-1          | 0.133                                   | 0.725 | >0.05                   |
| MDH-2          | 1.645                                   | 0.199 | >0.05                   |
| MDH-3          | 0.534                                   | 0.465 | >0.05                   |
| GOT-2          | 0.134                                   | 0.714 | >0.05                   |
| GOT-3          | 0.000                                   | 1.000 | >0.05                   |

Ayrıca, izoenzim analizleriyle de Wright'ın F-istatistiğiyle genetik çeşitliliğin populasyonlar arasındaki dağılımı ve Hardy-Weinberg dengesinden sapma olup olmadığı belirlenmiştir (WRIGHT 1951).

Hesaplanan  $F_{IS}$  (-0.052) ve  $F_{IT}$  (-0.015) değerleri negatif bulunmuştur ( $P < 0.001$ ) (Çizelge 12).  $F_{IT}$  değerinin negatif olması çalışılan populasyonlarda heterozigotluğun beklenenden fazla olduğuna işaret eder. Bu değerler daha önce karaçamda yapılan izoenzim çalışmasıyla uyumludur (VELİOĞLU ve ark. 1999c). Ayrıca hem RAPD hem izoenzim analiziyle hesaplanan  $F_{ST}$  değerleri yaklaşık aynıdır.

**Çizelge 12. İzoenzim Analizine Göre Wright'ın F-İstatistiği Sonuçları**  
 Table 12. Summary of Wright's F-statistics for Isozyme Analysis

| Örnek sayısı<br>Sample size | $F_{IS}$  | $F_{IT}$  | $F_{ST}$ | Nm  |
|-----------------------------|-----------|-----------|----------|-----|
| 120                         | -0.052*** | -0.015*** | 0.035*** | 6.9 |

(\*\*\* $P < 0.001$ )

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

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

$F_{ST}$  : Populasyonlar arası genetik çeşitlilik (Genetic differentiation)

Nm: Gen akışı katsayısı (Gene flow)



#### 4.2.3. Polen Kirliliği

Bu çalışmada, orijini bilinmeyen ağaçlandırma alanından doğal popülasyona polen akışı izoenzim analiziyle hesaplanmıştır. Elde edilen polen kirliliği analiz sonuçları Çizelge 13’de verilmiştir.

Doğal popülasyonda belirlenebilir kirlilik oranı (b) % 50 olarak bulunmuştur. Yani doğal popülasyonda üretilen tohumların yarısı, doğal popülasyondaki bireyler tarafından üretilmeyen polenlerle döllenme sonucu olmuştur. Bu polen kirliliğinin minimum tahminidir.

Doğal popülasyonda tahmin edilen gerçek polen kirliliği (m) ise 0,804 yani % 80,4 oranında hesaplanmıştır. Çalışılan iki popülasyonun birbirine bitişik olması, bu oranın yüksek çıkmasına neden olmuştur. Polenler 1-3 km.’lik mesafede bile % 7-25 oranında döllenme yeteneğine sahiptirler (KAYA ve IŞIK 2001). Çam türlerinde polen kirliliğini azaltmak için kullanılan 120 -150 m’lik izolasyon zonlarının etkili olmadığı bir çok çalışmada görülmüştür (SQUILLACE 1967, SQUILLACE ve LONG 1981; KAYA 2001).

Bir canlı türündeki bir popülasyonun veya bir lokal ırkın gen havuzuna, o yörede uyum değeri bilinmeyen başka bir ırk veya popülasyondan gelen genlerin kontrol dışı karışması genetik kirlenme olarak adlandırılır (IŞIK 1988). Genetik kirlenmede genler, bir popülasyondan başka bir popülasyona tohum veya polen yoluyla karışırlar. Dışardan gelen alleller, doğal meşcerede de bulunabilir. Fakat aynı allelin frekansını değiştirmektedir. Diğer bir ifade ile, ağaçlandırmadan doğal meşcereye olan gen akışı, doğal meşceredeki o allelin frekansını değiştirecektir.

#### Çizelge 13. Kasatura Körfezi Doğal Popülasyonunda Polen Kirlilik Değerleri

Table 13. Pollen Contamination Parameters for Kasatura Bay Natural Population

| <b>b</b>   | <b>d</b>   | <b>m</b>   |
|------------|------------|------------|
| 0.500±0.09 | 0.621±0.02 | 0.804±0.15 |

b: kirliliğin gözlenen oranı

d: bir yabancı polen taneciğinin belirlenebilir bir çok-locuslu belirteci taşıma olasılığı

m: polen kirlilik oranı tahmini

EL-KASSABY ve RITLAND (1986), her polen kirliliği olayının aynı zamanda başarılı bir kendinden-başka-bireylerle döllenme olayı olduğunu belirtmektedir. Başka bireyle döllenme, populasyon içindeki diğer bireylerle veya çevredeki populasyonlardan gelen polenlerle olur. Eğer kendinden-başka bireylerle döllenme yakın populasyonlardaki bireylerle olursa kirlilik düzeyi yüksek çıkmaktadır, çünkü polen kirliliğinde populasyonların uzaklığı önemli bir etmendir (BOYDAK 1977; EL-KASSABY ve ark. 1988; DI-GIOVANNI ve ark. 1996; EL-KASSABY ve JAQUISH 1996; KAYA 2001; TULUKÇU ve ark. 2001).

Polen kirliliği açısından, doğal populasyonun bitişiğinde bulunan plantasyonun yaşı da önemlidir (SMITH ve ADAMS 1983; GREENWOOD ve RUCKER 1985; BURCZYK 1998; KESKİN 1999; KAYA 2001; TULUKÇU ve ark. 2001). Karaçamda en erken tohum tutma yaşı 15-40 yılları arasındadır (ANONİM 1974). Kasatura Körfezindeki TKA'nın hemen bitişiğine tesis edilen plantasyonun yaşının 32 olması, doğal meşcereyle yeterli derecede polen alışverişi yapabileceği olgunlukta olduğunu göstermektedir. İki populasyon arasındaki gen akışı değerinin 6.7 olması, bu kanıyı güçlendirmektedir.

Tabiatı Koruma Alanları; 2873 Sayılı Milli Parklar Kanunu kapsamında; “bilim ve eğitim bakımından önem taşıyan nadir, tehlikeye maruz veya kaybolmaya yüz tutmuş ekosistemler, türler ve tabii olayların meydana getirdiği seçkin örnekleri ihtiva eden; mutlaka korunması gerekli olup sadece bilim ve eğitim amaçlarıyla kullanılmak üzere ayrılmış tabiat parçası” olarak tanımlanmıştır. TKA'lar 2873 sayılı Milli Parklar Kanunu'nda “mutlak korunması” gereken ve “sadece bilim ve eğitim amaçlı kullanılmak üzere” ayrılan doğa alanları olarak nitelendirilmektedir (AVCIOĞLU 2005). Bu tanıma göre TKA'lar Dünya Koruma Birliğinin (ICUN) “tam doğal rezerv” sınıfına girmektedir. *In-situ* rezervlerin polen kirlenmesi potansiyeli taşımaları, *ex-situ* korumayla bütünleşmiş bir program hazırlamanın sağlam bir gerekçesidir (LEDIG 1998). Zaten *in-situ* ve *ex-situ* koruma, birbirinden ayrılmaz çalışmalardır (FALK 1990; IŞIK ve YILDIRIM 1990).

Gen akışı sonucu, populasyonlar arası döllenmeden elde edilen döller, populasyon içi döllenmeden elde edilen döllerden daha az adaptif olabilirler. (MILLAR ve LIBBY 1989). Yabancı genlerin lokal populasyona karışmasıyla, lokal genler ve gen kombinasyonları ayrılıp dağılacak ve yeni genetik düzenlemeler ortaya çıkacaktır. Yabancılarla döllenme çöküşü (outbreeding depression) denilen bu durum, yeni kuşakta çeşitli uyum bozukluklarına hatta ölümlere yol açabilmektedir. Doğal populasyonun gen havuzunun kirlenmesi (kontamine olması) sonucu, yöre koşullarına uyum

sağlamış (koadapte olmuş) bir çok gen kombinasyonu dağılmakta, yerel populasyonların genetik bütünlüğü ve genetik soyluluğu bozulabilmektedir. Herhangi bir zaman dilimi içerisinde, canlı populasyonlara yapılan müdahaleler, daha sonraki kuşaklarda onbinlerce yıl sürecek genetik etkilere sahiptir. Bu nedenle özellikle lokal ırkların devamlılığının sağlanması açısından ve genetik kirlenmeye karşı tedbir olarak TKA’nda genetik planlama yapılması gerekmektedir (LIBBY 1973). Doğa koruma alanlarının seçilmesi, korunması, planlanması, düzenlenmesi, geliştirilmesi, tanıtılması, yönetilmesi, işletilmesi ve eşleştirilmesi ile ilgili işleri yürütmek açısından genetik bilgilerin kullanılması şarttır (COSSALTER 1989).

KAYACIK ve ark. (1981), Trakya’daki karaçam populasyonlarının polenleriyle, Anadolu’da yayılış gösteren populasyonların polenlerini karşılaştırdıkları çalışmada; Trakya karaçamlarının bir ölçüde primitif kaldığı, böylece atalarının pekçok özelliğini muhafaza ettiği ve bölgeye adapte olarak bugünlere kaldığı bildirilmektedir. Başka bir yöredeki populasyondan getirilerek ağaçlandırılan alanlarda, uyum bozuklukları ile karşılaşmakta, büyüme yavaşlamakta ve hatta ölümler görülmektedir (LANGLET 1967). Trakya’da bazı karaçam ağaçlandırmalarında kullanılan Balıkesir-Dursunbey orijinli fidanlarda da bu olumsuz sonuçlarla karşılaşmıştır (ODABAŞI ve ark. 1995; GÖNÜL ve ark. 1996; ÇALIKOĞLU ve ark. 2001).

Bir yöreye en iyi uyum sağlayan populasyonlar, genellikle o yörenin lokal populasyonlarıdır (IŞIK 1988). Küçük ve kalıntı populasyonlar, binlerce yıldır süren doğal seleksiyonun sonucu olduklarından, etkili populasyon büyüklüğünün ve dışarıdan göç eksikliğinin sonucu olarak, yüksek oranda kendileme ürünü bireylerden oluşabilirler (ÇALIKOĞLU ve ark. 2001) Ancak Kasatura Körfezi doğal meşceresi lokal ve kalıntı bir populasyon olmasına rağmen yaklaşık 300 ha alana yayılması ve genetik çeşitliliğinin yüksek olması nedeniyle diğer kalıntı populasyonlardan ayrılmaktadır. Bu nedenle bu populasyon kullanılarak ağaçlandırma yapılmak istendiğinde Trakya’da bulunuyor diye tüm bölgede kullanılmamalı, “lokal tohum” kaynağı olarak sadece içerisinde bulunduğu orman yetişme bölgelerinde yani Trakya’nın Karadeniz’e bakan kıyı şeridinde kullanılmalıdır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1- Kırklareli Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanındaki karaçam populasyonlarında (doğal meşcere ve ağaçlandırma alanı) bulunan genetik çeşitliliğin miktar ve yapılanmasının RAPD belirteçleriyle analizi sonucunda genetik çeşitliliğin % 96'sının populasyon içinde olduğu görülmüştür. Yani populasyonlar arasında % 4 oranda farklılık bulunmaktadır. Ayrıca, her iki populasyonun yüksek genetik çeşitliliğe (ortalama allel sayısı, etkili allel sayısı, polimorfik lokus oranı, gözlenen ve beklenen heterozigotluk,  $F$  istatistiği) sahip olduğu tespit edilmiştir. Orman ağaçlarında görülen yüksek genetik çeşitlilik, populasyonların yaşamlarını sürdürmelerinin ve gelecekteki gelişmelere uyum sağlamalarının temelidir. Kasatura gibi izole bir populasyonda yüksek genetik çeşitlilik bulunması bu populasyonun hayatiyetini sürdürmesi açısından önemli bir avantajdır.

2- Kendinden başka bireylerle döllenme (negatif  $F_{IT}$  değeri) ve iki populasyon arasındaki gen akışının ( $Nm$ ) yüksek olması dışarıdan döllenme olayının fazlalığını yani ağaçlandırmadan doğal populasyona olan gen akışının yüksek olduğunu göstermektedir. Coğrafik olarak çok yakın mesafelerde yer alsalar bile, her populasyonun kendine özgü gen kombinasyonu ve uyum değeri vardır. Bu iki populasyon arasındaki gen akışı, doğal populasyonun o yöreye adapte olmuş genlerinin seyrlemesine neden olabilir. Bu da gelecekte doğal populasyonda adaptasyon sorunları yaratabilir.

3- Kasatura Körfezi doğal karaçam meşceresi, ağaçlandırma alanı ve 4 adet karaçam tohum meşceresi arasındaki genetik mesafe değerlerine göre ağaçlandırma alanına en benzer populasyon 0.040 genetik mesafe değeri ile Kasatura doğal meşceresi, ikinci benzer populasyon ise 0.054 genetik mesafe değeri ile Dursunbey populasyonudur. Bu değerlerle oluşturulan dendrograma göre ağaçlandırma alanı hem doğal populasyondan hem de diğer populasyonlardan ayrılmıştır. Dolayısıyla Kasatura Bölgesi'ndeki ağaçlandırmanın, Dursunbey, Daren, Burhandag, Baliköy ve Kasatura doğal meşceresinden yapılmadığı yüksek bir ihtimal olarak görülmektedir. Ağaçlandırmanın genetik mesafe değerleri göz önünde bulundurulduğunda, bu ağaçlandırmanın Trakya'daki yakın karaçam populasyonlarından elde edilen tohumların fidanlarıyla kurulduğu düşünülebilir.

4- Kasaturada bulunan karaçam doğal meşceresinin taşıdığı yüksek genetik çeşitliliği, bölünmüş populasyonların farklılaşmasının getirdiği populasyon içerisinde oluşturduğu yüksek genetik çeşitliliğin sonucu olduğunu düşünebiliriz. Bu durumda Trakya'daki diğer alanlarda bulunan (Çatalca, Korudağ, Demirköy) doğal karaçam populasyonlarında bu yüksek

eřitlilięi bekliyebiliriz. Bu durumda, diğer karaçam meşcerelerinin de korunmaya alınması yerinde olacaktır. en az birinin Gen Koruma Ormanı olarak seçilmesi yerinde olacaktır.

**5-**Her ne kadar Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanı'nda yapılan ağaçlandırmadan doğal populyasyona yüksek gen akışı grlseye, ağaçlandırmanın taşıdığı yüksek genetik çeşitliliğin varlığı düşünülerek, doğal populyasyon ile oldukça benzer gen frekanslarına sahip olması ve genetik mesafenin düşük olması gözönüne alınarak, bu ağaçlandırmanın bölgede kalmasının çok büyük bir sakınca olmayacaktır.

## ÖZET

Bu çalışma ile Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanında bulunan doğal karaçam (*Pinus nigra* Arnold.) meşceresiyle, aynı alana orijini belirsiz fidanlarla yapılan ağaçlandırmanın genetik çeşitliliklerinin ve doğal populasyonda meydana gelen polen kirliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ağaçlandırma alanından 39 ve doğal meşcereden 58 aileden olmak üzere toplam 97 adet ağaçtan toplanan açık tozlaşma ürünü tohumların megagametofit dokularından DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA örnekleri 8 RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) primeriyle taranmıştır. Ağaçlandırma ve doğal populasyondan 30'ar ağaçtan elde edilen tohumların megagametofit ve embriyoları kullanılarak polen kirliliğini tespit etmek için izoenzim çalışması yapılmıştır.

Çalışılan populasyonların genetik çeşitlilik parametreleri genel olarak birbirine yakın bulunmuştur. Çalışmada 8 RAPD primeri ile 74 polimorfik lokus elde edilmiştir. Polimorfik lokus oranı ağaçlandırmada % 96, doğal meşcerede % 99 olarak bulunmuştur. Bu değerler çalışılan karaçam populasyonlarında yüksek genetik çeşitliliğin bir göstergesidir.

Gözlenen ortalama allel sayısı doğal populasyonda 1.98, ağaçlandırmada 1.96 ve etkili allel sayısı her iki populasyonda da 1.62'dir. Gözlenen heterozigotluk değerleri ağaçlandırma ve doğal meşcere için 0.42 ve 0.39 olarak hesaplanmıştır. Negatif  $F_{IT}$  (-0.11) ve  $F_{IS}$  (-0.15) değerleri, çalışılan populasyonlarda heterozigotluk fazlalığına işaret etmektedir.  $F_{ST}$  değeri (0.04), genetik çeşitliliğin önemli miktarının (% 96) populasyonlar içinde olduğunu göstermektedir. Populasyonlar arasındaki gen akışını gösteren Nm değeri ise 6.7 çıkmıştır. Populasyonlar bitişik olduğu için bulunan yüksek Nm değeri beklenen sonuçtur.

Populasyon içi genetik çeşitliliğin yüksek olmasının bir nedeni de, populasyonlardaki genetik çeşitliliğin homojen olarak dağılmamasıdır.  $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  ve  $F_{ST}$ 'nin değerleri bütün primerlerde ve sonuçta bütün lokuslarda farklıdır. Populasyonlar arasındaki farklılaşmaya en büyük etkiyi UBC-22 (0.0714) ve UBC-21 (0.0768) primerlerinde görülen lokuslar yapmıştır.

Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanı doğal karaçam populasyonlarındaki polen kirliliğini bulmak için izoenzim çalışması yapılmıştır. Çalışılan 5 enzim sisteminde; 11 lokusta, 1 monomorfik, 20 polimorfik allel gözlenmiştir. Doğal populasyondaki polen kirliliği % 80.4 olarak bulunmuştur. Ağaçlandırma ve doğal populasyonun Khi kare değerlerine bakıldığında ACP-1 ve PGI-2 lokuslarında beklenen ayrışma oranından (1:1) sapmalar olduğu görülmüştür.

## SUMMARY

The aim of this study is to determine the genetic diversity of natural black pine (*Pinus nigra* Arnold.) population located in Kasatura Bay Nature Conservation Area and plantation established in the same area by using seedlings of unknown origin. Open pollinated seeds from 39 plantation and 58 natural stand families were sampled and DNA's were isolated from megagametophyte tissues. All DNA samples were scanned with 8 RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) primers.

Genetic diversity parameters of the studied populations were generally similar. Eight RAPD primers generated 74 polymorphic loci. Mean percentage of polymorphic loci was calculated as 96% for plantation and 99% for natural stand. This implies high levels of genetic diversity in the studied black pine populations.

Mean number of observed alleles was 1.98 in natural stand, 1.96 in plantation and mean number of effective alleles was 1.62 in both populations. Observed heterozygosity values were calculated as 0.42 and 0.39 for plantation and natural stand, respectively. Negative  $F_{IT}$  (-0.11) and  $F_{IS}$  (-0.15) values imply excess heterozygosity in the studied populations. Mean  $F_{ST}$  value (0.04) indicated that vast majority (96%) of genetic diversity contained within populations.  $N_m$  value, which shows gene flow between populations, was 6.7. Calculated high  $N_m$  value is an expected result since the populations are located side by side.

Another reason for high within genetic diversity is non-homogeneous distribution of genetic diversity in populations.  $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  and  $F_{ST}$  values were varied in all primers and therefore in all loci. Variation among populations was mainly effected by loci that were observed with primers UBC-122 (0.0714) and UBC-121 (0.0768). Estimated information about genetic structure of two populations is found to be parallel to the previous RAPD study on black pine populations.

In the studied 5 enzyme systems, in 11 loci 1 monomorphic and 20 polymorphic alleles were observed. Pollen contamination was found 80.4% in natural population. According to chi-square values of natural population and plantation ACP-1 and PGI-2 loci shown deviation from 1:1 segregation ratio.

## KAYNAKÇA

- ADAMS, W. T., JOLY, R. J. 1980:** Genetics of Allozyme Variants in Loblolly Pine. *Journal of Heredity* 71:33-40.
- ADAMS, W. T., BIRKES, D. S. 1989:** Mating Patterns in Seed orchards. In: Proceedings of 20th Southern Forest Tree Improvement Conference, June 26-30, Charleston, South Carolina.
- ADAMS, W. T., BURCZYK, J. 1993:** GENFLOW: A Computer Program for Estimating Levels of Pollen Contamination in Clonal Seed Orchards. Release 1. Department of Forest Science, Oregon State University, Corvallis, OR, USA.
- ADAMS, W. T., NEALE, D. B., DOERKSEN, A. H., SMITH, D. B. 1990:** Inheritance and Linkage of Isozyme Variants from Seed and Vegetative Bud Tissues in Coastal Douglas-fir. *Silvae Genet.* 39:153-167.
- ADAMS, W. T., HIPKINS, V. D., BURCZYK, J., RANDALL, W. K. 1997:** Pollen Contamination Trends in a Maturing Douglas-fir Seed Orchard. *Can. J. For. Res.* 27: 131-134.
- AGUINAGALDE, I., LLORENTE, F., BENITO, C. 1997:** Relationships Among Five Populations of European Black pine (*Pinus nigra* Arn.) Using Morphometric and Isozyme Markers. *Silvae Genetica* 46: 1-5.
- ALPTEKİN, C. Ü. 1986:** Anadolu Karaçamı (*Pinus nigra* ssp. *pallasiana* Lamb). *İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi*, Cilt:36: 132- 154.
- ALTINÇEKİÇ, H. 1996.** Çilingöz Koyu (Trakya) Peyzaj Planlaması Amacına Yönelik Bitki Materyali'nin saptanması. *İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi*. Seri A, Cilt 46, Sayı 1, 51-81.
- ANONİM. 1974:** Seeds of Woody Plants in the United States. U.S Department of Agriculture, Forest Service, Agriculture Handbook, No 450, Washington D.C., 883.
- ANONİM. 1988:** Ormancılık Ana Planı 1990-2009. Orman Genel Müdürlüğü, APK Dairesi Başkanlığı Yayın No: 3, Ankara.
- ANONİM. 2000:** Türkiye'nin Tabiatı Koruma Alanları. KIRÇEV. Yayın No: 9. 166 sayfa.
- ARBEZ, M., BERNARD-DAGAN, C., FILION, C. 1974:** Intraspecific Variability of *Pinus nigra* Monoterpenes-Analyses of First Results. *Ann. Sci.For.* 31:57-70.
- ASLAN, S., UĞURLU, S. 1986:** Kızılçam, Halepçamı ve Elderika Çamı Orijinlerinin Tohum, Fidecik ve Fidan Özellikleri. *Or. Araş. Ens. Teknik Bülten* No: 165, 54 sayfa, Ankara.



- AVCIOĞLU, B. D. 2005:** Türkiye'deki Tabiatı Koruma Alanlarının Özellikleri ve Başlıca Sorunları. Korunan Doğal Alanlar Sempozyumu (Poster Bildirileri Kitabı). SDÜ Orman Fakültesi. 93-95. Isparta.
- AYTUĞ, B. 1973:** İstanbul Yöresinin Polinizasyon Takvimi. İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri A, Cilt 23, Sayı 1, 1-33. İstanbul.
- AYTUĞ, B., ŞANLI, İ. 1974:** İstanbul Boğazı Yöresinin Tersiyer Sonu Ormanları, İ. Ü.Orman Fakültesi Dergisi. A. XXIV sayı 2,74-78.
- BELKHİR, K., BORSA, P., CHIKHI, L., GOUDET, J., BONHOMME, F. 1996-2001:** GENETIX 4.0 Windows™ Software for Population Genetics. Laboratoire Genome, Populations, Interactions, University of Montpellier, France. <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix.htm>.
- BONNET-MASIMBERT, M., BIKAY-BIKAY, V. 1978:** Variabilite Intraspecificue des Isozymes de la Glutamate Oxaloacetate Transaminase Chez *Pinus nigra* Arnold. *Silvae Genetica* 27:71-79.
- BOYDAK, M. 1977:** Sariçam (*Pinus silvestris* L.) Doğal populasyonlarında Dikey Yönde Polen Hareketleri ve Uygulamadaki Önemi. İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri A, Cilt 27, Sayı: 2, 226-238.
- BRICE, W. C. 1978:** The Dessication of Anatolia, p. 141-147. In: W.C. Brice (Ed.) *The Environmental History of the Near and Middle East Since The Last Ice Age*. Academic Press, London.
- BROWN, A. D. H. 1979:** Enzyme Polymorphism In Plant Populations. *Theor. Pop. Biol.* 1s, 1-42.
- BROWN, A. D. H., BARRET, S. C. H., MORAN, G. E. 1985:** Mating System Estimation in Forest Trees, Models, Methods, Meanings. In: Gregorius, H.-R. (ed). *Population Genetics in Forestry*, pp: 32-49. *Lecture Notes in Biomathematics* 60. Springer-Verlag, New York.
- BURCZYK, J. 1998:** Mating System Variation in Scots Pine Clonal Seed Orchard. *Silvae Genetica*, 47 (2-3): 155-158.
- BYFIELD, A. J., HETVÍG, F. 1994:** Türkiyenin Kuzey Kumullarının Korunmasına Yönelik Rapor. Ek-3 (13), sayfa 9-10.
- CARON, G. E., LEBLANC, R. 1992:** Pollen Contamination in a Small Black Spruce Seedling Orchard for 3 Consecutive Years. *Forest Ecology*. 53:245-261.
- CESARONE, C., BOLOGNESI, C., SANTI, L. 1979:** Improved Microfluorometric DNA Determination in Biological Material Using 33258 Hoechst. *Anal Biochem.* 100: 188-197.
- CHELIAK, W. M., PITEL, J. A. 1985:** Inheritance and Linkage of Allozymes in *Larix laricina*. *Silvae Genetica* 34: 142-148.
- CLEGG, M. T. 1980:** Measuring Plant Mating Systems. *Bioscience*, 30 (12): 814-818.

- CONKLE, M. T., HODGSKISS, P. D., NUNNALLY, L. B., HUNTER, S. C. 1982:** Starch Gel Electrophoresis of Conifer Seeds: a Laboratory Manual. Pacific Southwest Forest and Range Experiment Station P.O.Box 245, Berkeley, California 94701.
- 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.
- COSSALTER, C. 1989:** Genetic Conservation: A Cornerstone of Breeding Strategies: Breeding Tropical Trees. Population Structure and Gene Improvement Strategies in Clonal and Seedling Forestry. (Proc. IUFRO Conference Pattaya, Tailand, November 1988). Gibson, G.I., Griffin, A.R., Matheson, A.C. (Ed.). Oxford Forestry Institute, Oxford, U.K. 28-38
- CRITCHFIELD, B., LITTLE, E. L. 1966:** Geographic Distribution of the Pines in the World. USDA For. Service., Misc. Publ.No:991, 97p.
- ÇALIKOĞLU, M., AKKEMİK, Ü., AKSOY, N. 2001:** Trakya Bölgesindeki Karaçam (*Pinus nigra* Arnold ssp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe) Ağaçlandırmalarında Orijin Problemleri, Çözüm Önerileri ve Bölgedeki Doğal Karaçam Ormanlarının Önemi. İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi. Seri: B, Cilt:51, Sayı:1, Sayfa 117-125.
- DELLAPORTA, S. L., WOOD, J., HICKS, J. B. 1983:** A Plant DNA Minipreparation: Version II. Plant Mol. Biol Rep. 1:19-21.
- DI-GIOVANNI, F., KEVAN, P. G., ARNOLD, J. 1996:** Lower Planetary Boundary Layer Profiles of Atmospheric Conifer Pollen Above a Seed Orchard in Northern Ontario, Canada. Forest Ecology and Management, 83 (1-2): 87-97.
- DİRİK, H. 1994:** Genetik Çeşitlilik ve Orman Gen Kaynaklarının Korunması. İ.Ü. Or. Fak. Der. Seri B, Cilt 44, Sayı: 3-4, Sayfa:113-121.
- DOĞAN, B., ÖZER, A. S., GÜLBABA, G., VELİOĞLU, E., DOERKSEN, A. H., ADAMS, W. T. 1998:** Inheritance and linkage of allozymes in black pine from Turkey. In: Zencirci *et al.* (Eds.) The Proceedings of International Symposium on *in situ* Conservation of Plant Genetic Diversity. 249-256. CRIFC, Turkey.
- DÖNMEZ, Y. 1968:** Trakya'nın Bitki Coğrafyası. İ.Ü. Yay. No: 1321, Coğ. Enst. Yay. No: 51, İstanbul.
- ECONOMOU, A. 1990:** Growth Intercept as an Indicator of Site Quality for Planted and Natural Stands of *Pinus nigra* var *pallasiana* in Greece. Forest Ecol. Manag. 32:103-115.
- ELİÇİN, G. 1981:** Türkiye Trakya'sında Ekzotik Orman Ağacı Taksonları. İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi. Seri A, Cilt 31, Sayı 1, 155-163.

- EL-KASSABY, Y. A., RITLAND, K. 1986:** Low level of pollen contamination in a Douglas-Fir Seed Orchard as Detected Allozyme Markers. *Silvae Genetica* 35(5-6) 224-229.
- EL-KASSABY, Y. A., JAQUISH, S. 1996:** Population Density and Mating Pattern in Western Larch. *Journal of Heredity*. 87: 438-443.
- EL-KASSABY, Y. A., RUDIN, D., YAZDANI, R. 1989:** Levels of outcrossing and contamination in two *Pinus sylvestris* L. seed orchards in Northern Sweden. *Scand. J. For. Res.* 4: 41-49.
- EL-KASSABY, Y. A., MEAGHER, M. D., PARKINSON, J., PORTLOCK, F. T. 1987:** Allozyme Inheritance, Heterozygosity and Outcrossing Rate Among *Pinus monticola* near Ladysmith British Columbia. *Heredity*, 58: 173-181.
- EL-KASSABY, Y. A., RITLAND, K., FSAHER, A. M. K., DEVITT W. J. B. 1988:** The Role of Reproductive Phenology Upon the Mating System of a Douglas-Fir Seed Orchard. *Silvae Genetica*, 37 (2): 76-82.
- ERİNÇ, S. 1978:** Changes in the Physical Environment in Turkey Since the End of Last Glacial. P 87-110. In: W.C. Brice (Ed.) *The Environmental History of the Near and Middle East Since the Last Ice Age*. Academic Press. London.
- FADY, B., CONKLE, M. T. 1993:** Allozyme Variation and Possible Phylogenetic Implications in *Abies cephalonica* Loudon and Some Related Eastern Mediterranean Firs. *Silvae Genetica*, 42:351-359.
- FALK, D. A. 1990:** Endangered Forest Resources in the U.S.: Integrated Strategies for Conservation of Rare Species and Genetic-Diversity. *Forest Ecology and Management*. 35: 91-117.
- FINESCHI, S. 1984:** Determination of The Origin of an Isolated Group of Trees of *Pinus nigra* Through Enzyme Gene Markers. *Silvae Genetica* 33: 169-172.
- GIANNINI, R., MORGANTE, M., VENDRAMİN, G. G. 1991:** Allozyme Variation in Italian Populations of *Picea abies* (L.) Karst. *Silvae Genetica*. 40: 160-166.
- GÖNÜL, G., AKSOY, A., ÇEVİK, E., KILCI, M., SAYMAN, M. 1996:** İstanbul Orman Bölge Müdürlüğü Kırklareli Orman İşletme Müdürlüğü Sınırları İçerisindeki Ağaçlandırma Sahaları İle İlgili Teknik Rapor. 10 Sayfa. İzmir.
- GREENWOOD, M. S., RUCKER, T. 1985:** Estimating Pollen Contamination in Loblolly Pine Seed Orchards by Pollen Trapping. Proc. 18th Southern Forest Tree Improvement Conference, May 21-23, 1985.

- GÜLBABA, A. G. 1998:** Bolkar Dağları Doğal Karaçamlarında (*Pinus nigra* subspecies *pallasiana*) Genetik Çeşitlilik ve Gen Koruma Yönetim Alanlarının Belirlenmesi. DOA dergisi, Sayı:4, 99-130.
- GÜLBABA, A. G., ÖZKURT, N. 1998:** Bolkar Dağları Doğal Kızılcım (*Pinus brutia* Ten.) Populasyonlarının İzoenzim Çeşitliliği. Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Teknik Bülten No: 5, Tarsus, 27s.
- GÜRSES, M. K., GEMİCİ, Y., ÖZKURT, N., GÜLBABA, A. G., ÖZKURT, A., TÜFEKÇİ, S. 1996:** Bolkar Dağları Karaçam (*Pinus nigra* Arnold var. *pallasiana* Schind) Populasyonlarında Biyolojik Çeşitlilik Üzerine Araştırmalar, DOA Dergisi, No: 2, Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü, Tarsus.
- HAMRICK, J. L. 1989:** Isozymes and the Analysis of Genetic Structure in Plant Populations. Isozymes in Plant Biology (Eds. SOLTIS, D.E. ve SOLTIS, P.S.). Chapman and Hall. London.
- IRMAK, A. 1975:** Trakya Orman Yetiştirme Muhiti Bölgeleri ve Başlıca Özellikleri. İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri A, Cilt 25, Sayı 1, 1-13.
- IRMAK, A., KURTER, A., KANTARCI, M. D. 1980:** Trakya'nın Orman Yetiştirme Bölgelerinin Sınıflandırılması. İ.Ü. Orman Fakültesi, Yayın No: 276, 295s. İstanbul.
- İŞİK, K. 1979:** Orijin Denemeleri: Tanımı, Çeşitleri ve Tohum Toplanmasında Göz Önünde Bulundurulacak İlkeler. Orman Müh. Derg., Mart-Nisan:7-15.
- İŞİK, K. 1981:** Bitkilerin Evcilleştirilmesi ve Evcilleştirme Açısından Egzotik Türler. Türkiye'de Hızlı Gelişen Türlerle Endüstriyel Ağaçlandırmalar Simpozyumu Kefken-İzmit. ss: 249-254.
- İŞİK, K. 1983:** Bitli Gen Kaynaklarımız Niçin Korunmalı ve Planlanmalıdır? Tabiat ve İnsan. 17 (4): 9-15.
- İŞİK, K. 1988:** Orman Ağacı Türlerimizde Lokal Irkların Önemi ve Genetik Kirlenme Sorunları. Orman Müh. Dergisi, 25 (11): 25-30.
- İŞİK, K. 1990:** Seasonal Course of Height and Needle Growth in *Pinus nigra* Grown in Summer-Dry Central Anatolia. For. Ecol. Man. 32:103-115.
- İŞİK, K., YILDIRIM, T. 1990:** Strategies for Conservation of Forest Gene Resources and Some Recommendations on *Cedrus libani*. (in: Proc. Of International Cedar Symposium), Supported by FAO and Turkish Forest Service, 22-27 Ekim (Oct.) 1990, Antalya-Turkey, pp: 342-352.
- KANTARCI, M. D. 1973:** Trakya'da Toros Karaçamının Doğal Olarak Bulunduğu Yerlerin Orman Yetiştirme Muhiti Özellikleri Üzerine Ön Araştırmalar. TÜBİTAK IV. Bilim Kongresi Bildirisi, 8s.

- KANTARCI, M. D. 1976:** Trakya Ormanlarının Bölgesel Orman Muhiti Yetiştirme Özelliklerine Göre Doğal Ağaç ve Çalı Türleri İle Sınıflandırılması. İ.Ü. Or. Fak. Dergisi. Seri A, Cilt 26, Sayı 2, 138-210
- KANTARCI, M. D. 1979:** Kuzey Trakya Dağlık Orman Yetiştirme Bölgesinin Yöresel Sınıflandırılması, İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri: A, Cilt: 29, Sayı:2, s: 42 - 71, İstanbul.
- KANTARCI, M. D. 1981:** Kuzey Trakya Orman Yetiştirme Bölgesinde Granit Anataşı Üzerindeki Toprak Katenasının Analitik Olarak İncelenmesi Araştırmalar, İ.Ü. Or. Fak. Der. Seri: A, Cilt: 31, Sayı:2, s: 167-191, İstanbul.
- KARA, N., KOROL, L., İŞİK, K., SCHILLER, G. 1997:** Genetic Diversity in *Pinus brutia* Ten. Altitudinal Variation. *Silvae Genetica*, 46 (2-3): 155-161.
- KAYA, N. 2001:** Kızılcıamın (*Pinus brutia* L.) Çameli-Göldağ orijinli Asar-Antalya Klonal Tohum Bahçesinde Eşleşme Sisteminin ve Genetik Kontaminasyonun Saptanması. Doktora Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- KAYA, N., İŞİK, K. 2001:** Tohum Bahçelerinde Polen Kirliliği. OATIAM Dergisi, Sayı 2, 23-46. Ankara.
- KAYA, Z. 1989:** Genetik Uyumluluk, Tohum Kaynağı ve Tohum Transferi. Fidan Dergisi. OGM Meslek Memurları Derneği Yayın Organı, Sayı:17, 3-8
- KAYA, Z. 1990:** Orman Gen Kaynaklarımız: Ulusal Mirasımız! Fidan Dergisi. OGM Meslek Memurları Derneği Yayın Organı. Sayı: 28, 2-6.
- KAYA, Z., NEALE, D. B. 1993:** Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Polymorphisms in *Pinus nigra* subsp. *pallasiana* and *Pinus brutia*. Doğa- Tr J. of Agriculture and Forestry 17 pp. 295- 306.
- KAYA, Z., TEMERİT, A. 1994:** Genetic Structure of Marginally Located *Pinus nigra* var *pallasiana* Populations in Central Turkey. *Silvae Genetica* 43, 5/6 pp 272-275.
- KAYA, Z., CHING, K. K., STAFFORD, S. G. 1985:** A Statistical Analysis of European Black Pine (*Pinus nigra* Arnold.) from Different Sources, *Silvae Genetica* 34:148-156.
- KAYA, Z., STEEL, F., TEMERİT, A., VURDU, H. 2003:** Genetic Variation in Wood Specific Gravity of Half-sib Families of *Pinus nigra* subsp *pallasiana*: Implications for Early Selection. *Silvae Genetica* 52(3-4):153-158.
- KAYACIK, H., AYTUĞ, B., ŞANLI, İ. 1981:** Trakya'da Jeolojik Dönemlerin izleri. İ.Ü. Or. Fak. Der. Seri A, Cilt 31, Sayı 1, 48-55.
- 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.

- KESKİN, S. 1999:** Çameli-Göldağı Orijinli Kızılçam Tohum Bahçesinde Çiçek ve Kozalak Verimi Açısından Klonal Farklılıklar ve Çiçeklenme Fenolojisi. Orman Bakanlığı, Batı Akdeniz Ormancılık Araştırma Müdürlüğü Yayınları, Yayın No: 91. 96 sayfa.
- KIMURA, M., CROW, J. M. 1978:** Effect of Overall Phenotypic Selection on Genetic Change at Individual Loci. Proc. Natl. Acad. Sci., 75: 6168-6171.
- KING, N. J., DANCIK, P. B. 1983:** Inheritance and linkage isozymes in white spruce. Can. J. Genet. Cytol. 25:430-436.
- KREIKE, J. 1990:** Genetic Analysis of Forest Tree Populations: Isolation of DNA From Spruce and Fir Spices. Plant Molecular Biology, 14: 877-879.
- LANGELLA, O. 2000:** POPULATIONS: Population Genetics Software (Individuals or populations distances, phylogenetic trees). CNRS, France. <http://pge.cnrs-gif.fr/bio-info/populations>.
- LANGLET, O. 1967:** Regional Intra-Specific Variability. Proc. XIVth IUFRO Congress, München, West Germany, 3(22):435-438.
- LEDIG, F. T. 1987:** Genetic Structure and the Conservation of California's Endemic and Near-endemic Conifers. pp 587-594. In: T.S. Elias (Ed.) Conservation and Management of Rare and Endangered plants: Proceedings of a California Conference on the Conservation of Rare and Endangered Plants. California Native Plant Society, Sacramento, California.
- LEDIG, F. T. 1998:** Genetic Variation in Pinus. In: D. M. Richardson (Ed.), Ecology and Biogeography of Pinus. Cambridge University Press, Cambridge.
- LIBBY, W. J. 1973:** Domestication Strategies for Forest Trees. Canadian Journal of Forest Research. 3 (2): 256-276.
- 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. ODTÜ. Ankara.
- MATTFELD, J. 1971:** Doğu Trakyanın Bitki Coğrafyası Bakımından Durumu. (Çev. M. SELİK) İ.Ü. Or. Fak. Yayın No: 1544/159, 37s., İstanbul.
- MATZIRIS, D. I. 1989:** Variation in Growth and Branching Characters in Black Pine (*Pinus nigra*) of Peloponnesos. Silvae Genetica 38:77-81.
- MAYER, H., AKSOY, H. 1998:** Türkiye Ormanları (Çev. H. AKSOY, G. ÖZALP). Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Müdürlüğü, Yayın No: 1, 291s., Bolu.
- MILLAR, C. I., LIBBY, W. J. 1989:** Restoration: Disneyland or Native Ecosystem? A Question of Genetics. Fremontia. 17 (2) : 3-10.
- MILLAR, C. I., MARSHALL, K. A. 1991:** Allozyme Variation of Port-Orford-Cedar (*Chamaecyparis lawsoniana*): Implications for Genetic Conservation. Forest Sci. 37:1060-1075.

- NAMKOONG, G. 1989:** System of Gene Management. In: Breeding Tropical Trees: Population Structure and Genetic improvement Strategies in Clonal and Seedling Forestry. (Proc. IUFRO Conference, Pattaya, Tailand.) Gibson, G.I., Griffin, G.I., Griffin, A.R. and Matheson, A.C. (Editors). Oxford Forestry Institute, Oxford, U.K.
- NEI, M. 1972:** Genetic Distance Between Populations. American Naturalist, 106: 283-292.
- 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. Pop. Biol. 13: 129-177.
- NICOLIC, D., TUCIC, N. 1983:** Isoenzyme Variation Within and Among Populations of European Black Pine. Silvae Genetica 32, 3-4: 80-89
- ODABAŞI, T., AKSOY, H., KANTARCI, M. D. 1990:** Midye Orman İşletme Şefliği Sınırları İçindeki Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanında Yapılması İstenen Silvikültürel İşlemler Hakkında Rapor. 2 sayfa, İstanbul.
- ODABAŞI, T., KANTARCI, M. D., MOL, T. 1995:** Kırklareli Karaçam Ağaçlandırma Alanları Hakkında Rapor. 11 sayfa. İstanbul.
- PAKKANEN, A., PULKINEN, P. 1991:** Pollen Production and Background Pollination Levels in Scots Pine Seed Orchards of Northern Finnish Origin. In: D. Lindgren (Ed.) Proceedings of the Meeting of the Nordic Group for Tree Breeding. Sweedish Univ. of Agricultural Sciences, Dept. of Forest Genetics and Plant Physiology Umea Rep. 10: 14-21.
- PANETSOS, P., ARAVANOPOULOS, F. A., SCALTSOYIANNES, A. 1998:** Genetic Variation of *Pinus brutia* From Islands of the Northeastern Aegean Sea. Silvae Genetica. 47:115-120.
- PORTFAIX, C. 1989:** Exploration of Genetic-Variability of 5 Natural Stands of Corsican Pine (*Pinus nigra* ssp. *laricio* var *corsicana*) Ann. Sci. For. 46:217-232.
- READ, A. R. 1976:** Austrian (Black Pine) Pine in Eastern Nebraska. Provenance Study. USDA For Serv. RM-Range and Experiment Station, Res. Pap. (Fort Collins) RM #180, 8p.
- 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.
- RÖHRIG, E. 1966:** European Black Pine and Forms Part II. First Results from Provenance Experiments. Silvae Genetica 15:21-26.

- 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.
- SAATÇIOĞLU, F. 1971:** Orman Ağacı Tohumları. Tohumun Tedariki, Saklanması, Çimlenme Fizyolojisi, Kalite Kontrolü ile Önemli Ağaç ve Ağaççık Türlerinin Tohum Bakımından Özellikleri. İ.Ü. Yayın No: 1649, 242s.
- SCALTSOYIANNES, A., ROHR, R., PANETSOS, K. P., TSAKTSIRA, M. 1994:** Allozyme Frequency Distribution in Five European Populations of Black Pine (*Pinus nigra* Arnold). *Silvae Genetica* 43: 20-30.
- SILIN, A. E., GONCHARENKO, G. G. 1996:** Allozyme Variation in Natural Populations of Eurasian Pines: IV. Population Structure and Genetic Variation in Geographically Related and Isolated Populations of *Pinus nigra* Arnold on the Crimean Peninsula. *Silvae Genetica*, 45, 67-75.
- SMITH, D. B., ADAMS, W. T. 1983:** Measuring pollen contamination in clonal seed orchards with the aid of genetic markers. In: Proceedings, 17<sup>th</sup> Southern Forest Tree Improvement Conference, 1983 June 6-9, Athens, GA: 69-77.
- SQUILLACE, A. E. 1967:** Effectiveness of 400-foot isolation around a pine seed orchard. *Journal of Forestry*. 65: 823-829.
- SQUILLACE, A. E., LONG, E. M. 1981:** Proportion of Pollen from Nonorchard Sources. In: E.C. Franklin (ed), *Pollen Management Handbook*, pp. 15-19. USDA Agriculture Handbook. 587. Washington, DC.
- STRAUSS, S. H., CONKLE, M. T. 1986:** Segregation, Linkage, and Diversity of Allozymes in Knobcone pine. *Theor. Appl. Genet.* 72: 483-493.
- ŞANLI, İ. 1982:** Trakya'nın Tersiyer Florası Üzerinde Ksilolojik Araştırmalar. İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri:A, Cilt:32, Sayı:(1):84-138.
- ŞİMŞEK, Y., ERKULOĞLU, Ö. S., TOSUN, S. 1995:** Türkiye'de Karaçam (*Pinus nigra* Arn. ssp. *pallasiana* (Lamb) Holmboe) Orijin Denemelerinin İlk Sonuçları, OAE Teknik Bülten No: 247.
- TSOUMIS, G. 1988:** The Depletion of Forests in the Mediterranean Region: A Historical Review from Ancient Times to the Present. *Scientific Annals of the Department of Forestry and Natural Environment, Aristotelian University of Thessaloniki* 28:281-301.
- TULUKÇU, M., ALAN, M., ANTOLA, J. 2001:** Bir Karaçam (*Pinus nigra* Arn.) Tohum Bahçesinde Polen Tesbitleri. *OATIAM Dergisi*, Sayı 2, 47-62.
- ÜÇLER, A. Ö., GÜLCÜ, S. 1999:** Isparta Göller Yöresi Doğal Anadolu Karaçamı (*Pinus nigra* Arnold. Subps. *pallasiana* Lamb. Holmboe.) Alanlarından Örneklenen Bazı Populasyonlarda Kozalak ve Tohum



Morfolojisi Varyasyonları. 1.Uluslararası Ehrami Karaçam Sempozyumu. Kütahya .

**VELİOĞLU, E., ÇENGEL, B., KAYA, Z. 1999a:** Kazdağları Doğal Karaçam (*Pinus nigra* Arnold subspecies *pallasiana*) Populasyonlarında Genetik Çeşitliliğin Yapılanması, OATIAM Teknik Bülten No:1. Ankara.

**VELİOĞLU, E., ÇENGEL, B., KAYA, Z. 1999b:** Kazdağları Doğal Karaçam (*Pinus nigra* Arnold subspecies *pallasiana*) Populasyonlarında İzoenzim Çeşitliliği, OATIAM Teknik Bülten No:4. Ankara.

**VELİOĞLU, E., TOLUN, A. A., ÇENGEL, B., KAYA, Z. 1999c:** Bolkar Dağları Doğal Karaçam (*Pinus nigra* Arnold subspecies *pallasiana*) Populasyonlarında İzoenzim Çeşitliliği. OATIAM Teknik Bülten No:2. Ankara.

**VELİOĞLU, E., ÇENGEL, B., İÇGEN, Y., KANDEMİR, G., ALAN, M., KAYA, Z. 2003a:** Moleküler Belirteçler Yardımıyla Karaçam (*Pinus nigra* Arnold subspecies *pallasiana* (Lamb.) Holmboe.) Tohum Meşcerelerinde, Tohum Bahçelerinde ve Ağaçlandırmalarında Bulunan Genetik Çeşitliliğin Karşılaştırılması. OATIAM Teknik Bülten No:11. Ankara.

**VELİOĞLU, E., İÇGEN, Y., ÇENGEL, B., ÖZTÜRK, H., KAYA, Z. 2003b:** Moleküler Belirteçler Yardımıyla Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) Tohum Meşcerelerinde, Tohum Bahçelerinde ve Ağaçlandırmalarında Bulunan Genetik Çeşitliliğin Karşılaştırılması. OATIAM Teknik Bülten No:10. Ankara.

**VELİOĞLU, E., ÇENGEL, B., KANDEMİR, G., İÇGEN, Y., KAYA, Z. 2005:** Kasatura Körfezi tabiatı Koruma Alanındaki Karaçam (*Pinus nigra* Arnold) Populasyonunun Genetik Çeşitliliğinin RAPD Yöntemi ile Belirlenmesi. Korunan Doğal alanlar Sempozyumu (Sözlü Bildiriler Kitabı). SDÜ Orman Fakültesi. 513-520. Isparta.

**VIDAKOVIC, M. 1974:** Genetics of European Black Pine (*Pinus nigra* Arnold.). Ann. Forest: 6/3:57-86.

**WHEELER, N. C., KRIEBEL, H. B., LEE, C. H., READ, R. A., WRIGHT, J. W. 1976:** 15-year Performance of European Black Pine in Provenance Test in North Central U. S. Silvae Genetica 25:1-6.

**WRIGHT, S. 1951:** The Genetical Structure of Populations. Annals of Eugenics. 15: 323-354.

**WRIGHT, S. 1969:** Evolution and Genetics of Populations: The Theory of Gene Frequencies. Chicago: Univ. Chicago Press.

**WILCOX, M. D., MILLER, J. T. 1975:** *Pinus nigra* Provenance Variation and Selection in New Zealand. Silvae Genetica 24:132-143.

- YALTIRIK, F., ELİÇİN, G., 1982:** Trakya'nın Ağaçları ve Çalıkları. İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi. Seri:A, Cilt:32, Sayı:2. 33-63.
- YALTIRIK, F., EFE, A. 1988:** Trakya Vejetasyonuna Genel Bakış ve İğneada Subasar (Logos) Ormanları. İ. Ü. Or. Fak. Deri.B:38(1): 69-75.
- YAZDANI, R., LINDGREN, D. 1991:** Variation of Pollen Contamination in Scots pine Seed Orchard. *Silvae Genetica*. 40 (5-6): 243-245.
- YEH, C. F., YANG, R., BOYLE, T. 1997:** POPGENE Version 1.31. Windows-based Software for Population Genetics Analysis.
- ZOBEL, B., TALBERT, S. 1984:** Applied Forest Tree Improvement. North Carolina State University. Wiley and Sons. Inc. NY.