

Orman Bakanlığı Yayın No: 73
Müdürlük Yayın No: 9

ISBN: 975-8273-16-7

BOLKAR DAĞLARINDAKİ DOĞAL KARAÇAM
(*Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe)
POPULASYONLARININ İZOENZİM ÇEŞİTLİLİĞİ

ODC: 165.3

ISOZYME VARIATION OF NATURAL BLACK PINE
(*Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe)
POPULATIONS SAMPLED FROM THE BOLKAR MOUNTAINS

Ercan VELİOĞLU
(Orman Mühendisi)

Adviye Ayper TOLUN
(Yüksek Biyolog)

Burcu ÇENGEL
(Yüksek Biyolog)

Prof. Dr. Zeki KAYA
(ODTÜ Biyoloji Bölümü)

TEKNİK BÜLTEN NO: 2

T.C.
ORMAN BAKANLIĞI
ORMAN AĞAÇLARI VE TOHURLARI ISLAH ARAŐTIRMA
MÜDÜRLÜĞÜ

FOREST TREE SEEDS AND TREE BREEDING
RESEARCH DIRECTORATE

ANKARA-TÜRKİYE

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	iii
ÖZ.....	iv
ABSTRACT.....	v
1. GİRİŞ.....	6
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	9
3. MATERYAL VE METOD.....	10
3.1. Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi.....	10
3.2. Tohumların Hazırlanması ve Laboratuvar Çalışmaları.....	10
3.3. Değerlendirme.....	11
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	14
4.1. İzoenzim Bant Yapıları.....	14
4.2. Populasyonların Genetik Yapıları.....	19
4.3. Populasyonlarda Genetik Mesafe.....	23
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	27
ÖZET.....	29
SUMMARY.....	30
KAYNAKÇA.....	31

ÖNSÖZ

Biyolojik çeşitliliğin, küresel düzeyde önemli olduğunun farkına varılmasıyla, bu zenginliğin korunması için özellikle son yıllarda uluslararası kuruluşlar harekete geçmişlerdir. Ülkemizde Küresel Çevre Fonu (GEF) tarafından mali olarak desteklenen bir proje başlatılmıştır.

Dünya Bankası'na desteklenen "Genetik Çeşitliliğin Yerinde Korunması Projesi" kapsamında Bolkar Dağları pilot bölgelerden biri olarak seçilmiştir. Karaçam, Bolkar Dağlarında korunması gereken hedef türlerden biri olarak programa alınmış ve seçilen populasyonların genetik yapılarının belirlenmesi için izoenzim analizi kullanılmıştır. Analiz sonuçlarına göre karaçam için "Gen Koruma ve Yönetim Alanları (GEKYA)" önerilmiştir.

Bu araştırmada, kozalakların toplanması için işçi temin eden AGM ve Muğla Fidanlık Müdürlüğü'ne, ayrıca çalışmanın her aşamasında desteğini gördüğümüz eski müdür yardımcımız İsmail PEKCAN'a, laboratuvar çalışmalarına katılan stajyer öğrenci ODTÜ Biyoloji bölümünden Evrim DEMİREL'e, her zaman yardımlarını gördüğümüz orman mühendisi Turgay EZEN'e, bantların yorumlanmasında ilgi ve eleştirilerinden dolayı Prof.Dr.W.T.ADAMS'a ve çalışmanın gerçekleşmesinde desteğini esirgemeyen başta müdürümüz Ziya ARGIMAK olmak üzere tüm Müdürlüğümüz personeline teşekkür ederiz.

Bu çalışmanın ülke ve mesleğimize yararlı olmasını dileriz.

Ankara, 1999

Ercan VELİOĞLU
A. Ayper TOLUN
Burcu ÇENGEL
Prof. Dr. Zeki KAYA

ÖZ

Dünya bankasınca desteklenen “Genetik Çeşitliliğin Yerinde Korunması Projesi” kapsamında yapılan bu çalışmada; Bolkar Dağları’nda hedef tür olarak seçilen Anadolu karaçamının (*Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe) belirlenmiş 4 popülasyonunda (Çamlıyayla, Cehennemdere, Ulukışla ve Gülekdere) izoenzim çeşitliliği üzerinde çalışılmıştır.

Çalışılan 14 enzim sisteminde 24 aktif zon görüldü. Polimorfizm ortalama %47.9 olarak bulundu. Lokus başına allel sayısı 1.6 civarında olup beklenen heterozigotluk (genetik çeşitlilik) yaklaşık %21 olarak bulundu. Toplam genetik çeşitliliğin popülasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğe oranı, ortalama 0.070 olarak hesaplandı. Bu, toplam genetik çeşitliliğin sadece %7’sinin popülasyonlar arasında olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Nei’nin genetik mesafe değerleri, bütün olası popülasyon çiftleri (6) dikkate alındığında; ortalama değer 0.021 olarak bulundu. Bu sonuç popülasyonlar arasındaki farklılığın çok fazla olmadığını göstermektedir.

Son olarak, bulguların değerlendirilmesiyle Bolkar Dağlarında; Ulukışla ve Gülekdere popülasyonlarının karaçam için Gen Koruma ve Yönetim Alanı-(GEKYA) olarak ayrılması önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pinus nigra*, Karaçam, İzoenzim, Genetik Çeşitlilik, GEKYA.

ABSTRACT

In this study, which was supported by the World Bank as a part of “*In-situ* Conservation of Plant Genetic Diversity Project”, to determine the magnitude and pattern of genetic diversity Anatolian Black pine (*Pinus nigra* Arnold subspecies *pallasiana* (Lamb.) Holmboe) populations (Çamlıyayla, Ulukışla, Cehennemdere and Gülekdere) were investigated.

24 loci were resolved for the 14 enzyme systems assayed. Polymorphism was 47.9% on the average. The mean number of alleles per locus was around 1.6 and the expected heterozygosity was about 21%. Genetic diversity among populations relative to the total genetic diversity was averaged as 0.070, indicating that only 7% of the total genetic diversity was among populations. Furthermore, Nei’s genetic distance values was averaged as 0.021 when 6 possible population pairs were considered confirming that the diversity among populations was not very high.

Finally, based on the results of this study, it is recommended that Ulukışla and Gülekdere populations could be considered as a Gene Management Zone (GMZ) in the Bolkar Mountains.

Keywords: *Pinus nigra*, Black pine, Isozyme, Genetic Diversity, GMZ.

1.GİRİŞ

Anadolu batı dillerinde Küçük Asya (Asiaminorkleinasien) olarak adlandırılmaktadır. Anadolu'ya bu ismin verilmesi topografik olarak çevresindeki ülkelerden yüksek olması ve kısa mesafede büyük değişiklikler göstermesidir. Değişiklik büyük ölçüde coğrafik yapıda görülmekte ve dar bölgelerde bile iklim karakterlerindeki farklılaşmada, dağların denizlere göre konumu, yükseklikleri, kütleleri, jeolojik ve jeomorfolojik yapıları rol oynamaktadır. Ayrıca Türkiye dünyada üç kıta ile birden yakın ilişkideki tek ülkedir. (Anonim, 1994).

Türkiye'nin kıtalar arasındaki stratejik konumu insanlık tarihinin başlangıcından bu yana üç kıtanın arasındaki hareketlerinin odak noktasını oluşturmuştur. Son derece hareketli bir tarih yaşamış olan Anadolu doğal değerlerini insan müdahaleleri sonucu derece derece kaybetmiştir. 4000-3000 yıl öncesinden başlayan doğal vejetasyon örtüsündeki tahribat, doğal dengenin altüst olması yanında, bitki tür ve topluluklarının da bozulmasına neden olmuştur. Anadolu'da 54 milyon hektar sahayı kaplayan orman varlığı, asırlardan beri süregelen tahribat sonucu günümüzde 20,1 milyon hektara düşmüştür. (Atalay, 1994).

Türkiye'nin eski dünya kıtaları arasındaki konumu ile küçük Asya özellikleri göstermesi doğal çevre değerleri açısından büyük bir çeşitlilik ve zenginliğe sahip olmasına neden olmuştur. Ülkemizdeki tür ve tür altı düzeydeki takson sayısı 10245, endemik sayısı ise 3747'yi bulmaktadır (Gemici-a, 1994). Bütün Avrupa kıtasında 12000 bitki türü olduğu hatırlanırsa bu zenginliğin ölçüsü daha iyi anlaşılır.

Ülkemizin bitki türlerinin sayısal çokluğunun yanısıra genetik kaynak olma açısından da dünya çapında önemi vardır. Bugün tarımda kullanılan kültür formlarının başlıcalarının gen merkezi Anadolu'dur.

Her gün biraz daha ileri düzeyde yaşanan bozulmanın, *in-situ* ve *ex-situ* koruma amacı ile yapılacak çalışmalar ve korumaya yönelik teknikleri içeren planların dikkatli biçimde uygulanması ile iyileştirilebileceği ifade edilmektedir. *In-situ* korumada ekosistem bazında tüm biyolojik çeşitliliğin korunması amaçlanabileceği gibi biyolojik kaynak olarak görülen belirli türlerin (hedef türlerin) korunması da amaçlanabilir.

Bu bağlamda, Küresel Çevre Fonu (GEF) tarafından desteklenen “Genetik Çeşitliliğin Yerinde Korunması Projesi” 1993 yılında başlamıştır. Önemli bitki türlerinin gen kaynaklarının korunmasına yönelik bu proje kapsamında Bolkar Dağları pilot bölgelerden biri olarak seçilmiştir. Bolkar Dağları endemik bitki çeşitliliği ve orman ağaçları zenginliği ile tanınmaktadır. Bu bölge ayrıca, meyva ağaçları ve yabani akrabaları ile endüstriyel ve tıbbi aromatik bitki türleri açısından da zengindir. Bolkar Dağları’nda yaklaşık 1700 bitki türü bulunmakta ve bunların 350 tanesi endemiktir. Bu endemiklerin 200 tanesi sadece Bolkar Dağları’nda bulunmaktadır (Gemici-b, 1994).

Genetik kaynakları korumanın amacı; genetik çeşitliliği en yüksek düzeyde tutmak, gerektiğinde bu zengin çeşitlilikten yararlanmaktır. Genetik çeşitliliği yüksek olan türler ve ırklar zamana ve yere göre değişen çevre koşullarına daha iyi adaptasyon gösterirler. Ayrıca bilimsel ve teknolojik gelişmelere bağlı olarak değişen insan isteklerini karşılamada daha etkili ve yararlı olurlar. (Işık, 1996).

İzoenzim analizi, orman ağaçlarının populasyon genetik yapısı, taksonomik yeri ve üreme sistemlerinin tanımlanmasında çok önemli bir araçtır. Ayrıca, orman ağaç türleri için gen koruma stratejileri üretmekte önemli bir rol oynar (Millar ve Westfall, 1992).

Gen Koruma ve Yönetim Alanı (GEKYA) yaklaşımı, yerinde koruma programların bir çeşididir ve Türkiye koruma programlarına Dünya Bankası tarafından “Genetik Çeşitliliğin Yerinde Korunması” projesi ile tanıtılmıştır. GEKYA’lar, hedef türdeki genetik çeşitliliği korumak amacı ile ayrılan doğal ve yarı-doğal alanlardır. Bunlar, tehlikedeki populasyonların, ekonomik önemi olan bitki türlerinin veya yüksek genetik çeşitliliği olan türlerin evrimsel değişikliklerinin yer aldığı koruma alanlarıdır. Ek olarak, tahıl türlerinin ve ticari önemi olan ağaç türlerinin yabani akrabalarının korunmasında uygun bir yaklaşımdır (Kaya ve ark., 1997).

Ülkemizde yaklaşık 2 milyon hektar yayılışa sahip olan karaçam (*Pinus nigra* ssp. *pallasiana*), ağaçlandırma çalışmalarında kullanım açısından da kızılçamdan sonra ikinci sırada gelmektedir. “Ulusal Ağaç Islahı Programı” çerçevesinde ıslah programına da alınmıştır. Ayrıca,

Türkiye Bitki Genetik Çeşitliliği Yerinde Koruması Ulusal Planı (Kaya ve ark., 1997)'nda belirtilen hedef türlerden biridir. İzoenzim analizleri ile populasyonların genetik yapıları hakkında bilgi sahibi olunabildiğinden, seçilen 4 populasyonda yapılan analizler sonucunda “Gen Koruma ve Yönetim Alanları” olarak ayrılacak populasyonlar önerilmiştir.

2.LİTERATÜR ÖZETİ

Ülkemizin önemli ağaç türlerinden biri olan Anadolu karaçamıyla ilgili pek fazla çalışma yoktur. İzoenzim çalışmaları ise ülkemizde 1996 yılından sonra başlamıştır (Şimşek, 1992; Gülbaba ve ark., 1996; Doğan ve ark., 1996; Kara, 1996 ve Yahyaoglu ve ark., 1994).

Genel olarak koniferler diğer organizmalarla karşılaştırıldıklarında daha yüksek genetik çeşitlilik gösterirler (Hamrick ve ark., 1981). Çamların diğer ibrelilere göre nisbeten düşük genetik çeşitliliklerine (Schiller ve ark., 1986; Moran ve ark., 1988 ve Kim ve ark.,1997) karşın karaçam genetik çeşitliliği en yüksek ibreli türlerinden biridir. (Nicolíć ve Tucíć, 1983; Scaltsoyiannes ve ark., 1994 ve Aguinagalde ve ark., 1997).

Karaçamda ilk izoenzim çeşitliliği çalışmasını Bonnet-Masimbart ve Bikay-Bikay (1978) yapmışlardır. Karaçamın alttürlerini GOT enzim sistemini kullanarak araştırmışlardır. Daha sonra karaçam ile yaptıkları çalışmada Nicolíć ve Tucíć (1983) polimorfizmi %66 olarak ve Scaltsoyiannes ve ark. (1994) %70 olarak bulmuşlardır. Scaltsoyiannes ve ark. (1994) çalışmasında ortalama allel sayısını 2.0 ve beklenen heterozigotluğu ise %20 olarak bulmuştur.

Diğer çam ve ibreli türleride hesaplanan (genetik farklılaşma) G_{ST} değerleri, populasyonlar içindeki heterojenliğin populasyonlar arası heterojenlikten fazla olduğunu göstermektedir (El-Kassaby, 1991; Müller-Starck ve ark., 1992).

Silin ve Goncharenko (1996) karaçamda ortalama genetik mesafeyi 0.012, Scaltsoyiannes ve ark. (1994) ise 0.035 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Diğer çam türlerinde de benzer sonuçlar bulunmuştur (Moran ve ark., 1988 ve Kara, 1996).

Doğan ve ark. (1998), Kazdağı yöresi karaçamlarında yaptıkları çalışmada kalıtım ve alellerin bağıllığını 41 lokus çiftinde aramış ve 3 adedinde önemli ($p<0.05$) ortak segregasyon saptamışlardır. Fakat sadece 6PGD'de nispeten güçlü bir bağıllık gözlemişlerdir ($r=0.13$).

3.MATERYAL VE METOD

3.1.Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi

Anadolu karaçamının açık tozlaşma ürünü tohumları daha önce belirlenen toplam 4 Bolkar Dağları populasyonun (Şekil 1) 190 yarım-kardeş ailesinden, 1995 yılı sonbaharında toplanmıştır. Ağaçların akrabalık olasılığını azaltmak için aralarında en az 100 metre mesafe ve en fazla 300 m yükselti farkı olacak şekilde tesadüfi olarak örnekleme yapılmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Populasyonların detaylı coğrafik konumları ve örnek sayıları.
Table 1. Detailed description and sample sizes of the populations.

Populasyonlar Populations	Enlem Latitude	Boylam Longitude	Yükselti Elevation	Bakı Aspect	Örnek sayısı Sample Size
Cehennemdere	37° 08'	34° 30'	1550	K	42
Ulukışla	37° 33'	34° 29'	1560	K	50
Çamlıyayla	37° 08'	34° 33'	1350	K	48
Gülekdere	37° 12'	34° 48'	1500	D.B.	50

3.2.Tohumların Hazırlanması ve Laboratuvar Çalışmaları

Bu çalışmada uygulanan laboratuvar teknikleri bazı değişikliklerle Conkle ve ark. (1982)'nin laboratuvar föyü esas alınarak uygulanmıştır. Dört jel sisteminde çalışılan 14 enzim Tablo 2'de verilmiştir.

Tohumlar, ortalama 25 °C ve gün ışığında, Jacopsen çimlendirme cihazlarında 2 ila 3 günde çimlenmiştir. Kökcüklerin uzunluğu 2 ila 3 mm uzunluğa ulaşınca endospermeleri (1N) özütleme tamponunda (0.2 M phosphate tamponu, pH:7.5) ezilmiştir.

Kullanılan nişasta jeller %11 oranında hazırlanmıştır. Çok sayıda jelle çalışıldığından jeller bir gün öncesinden hazırlanarak buzdolabında bekletilmiştir. Jeller 4 ila 6 dilim elde edilebilen (12.5 cm x 21.5 cm x 1.0 cm) ölçülerindeki çerçevelere dökülmüştür. Özütlenmiş endospermeler 3.5 mm x 11 mm ölçülerinde kesilmiş (Whatman Chromatography No. 3MM)

filtre kağıtlarına emdirilmiş ve her jele 4'er aileden toplam 32 adet örnek yüklenmiştir. Ayrıca enzimlerin katettiği mesafeleri tahmin edebilmek için jelin her iki yanına boyalı fitiller yerleştirildi.

Yürütme (akım verme) işlemi, yüklenen jeller tanklara yerleştirilip sünger tamponları ve uygun tampon çözeltileri eklendikten sonra buzdolabında (4°C) (katottan anoda doğru) gerçekleştirilmiştir. 15 dakika akım uygulandıktan sonra akım kesilerek fitiller toplanmış, tekrar akım verilip işleme 4-5 saat daha devam edilmiştir. Boyalı fitilin oluşturduğu renkli bant I ve II no'lu sistemler için 8 mm, III ve IV no'lu sistemler için 6 mm ilerlediğinde akım kesilmiştir. Sistemlere uygulanan akım şiddetleri Tablo.2'de verilmiştir. Daha sonra jeller çalışılacak enzim sayısına göre dilimlenerek, her dilim yani her enzim için ayrı hazırlanan çözeltiler içinde 37°C'de inkübe edilerek boyanmıştır. Böylece elde edilen bantlar lokus ve allellerin görünümüne göre yorumlanarak kaydedilmiştir.

3.3.Değerlendirme

Bantları yorumlanmasında jel üzerinde ilerledikleri mesafeler gözönüne alınarak lokus numaraları verilmiştir (en ilerdeki 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 ortamına girilmiş ve yorumlanmıştır.

Genetik çeşitliliğin miktarını standart bir şekilde belirleyebilmek için, ortalama allel sayısı, polimorfik lokus oranı ve heterozigotluk gözönüne alınmıştır. H_I (subpopulasyondaki bireyin gözlenen heterozigotluğu), H_S (subpopulasyondaki bireyin beklenen heterozigotluğu), H_T (toplam populasyondaki bireyin beklenen heterozigotluğu) ve D_{ST} (subpopulasyonlar arası ortalama çeşitlilik) Hardy-Weinberg şartlarına göre hesaplanmıştır (Nei, 1987). G_{ST} (genetik farklılaşma katsayısı) , D_{ST}/H_T oranından hesaplanmıştır (Nei, 1987).

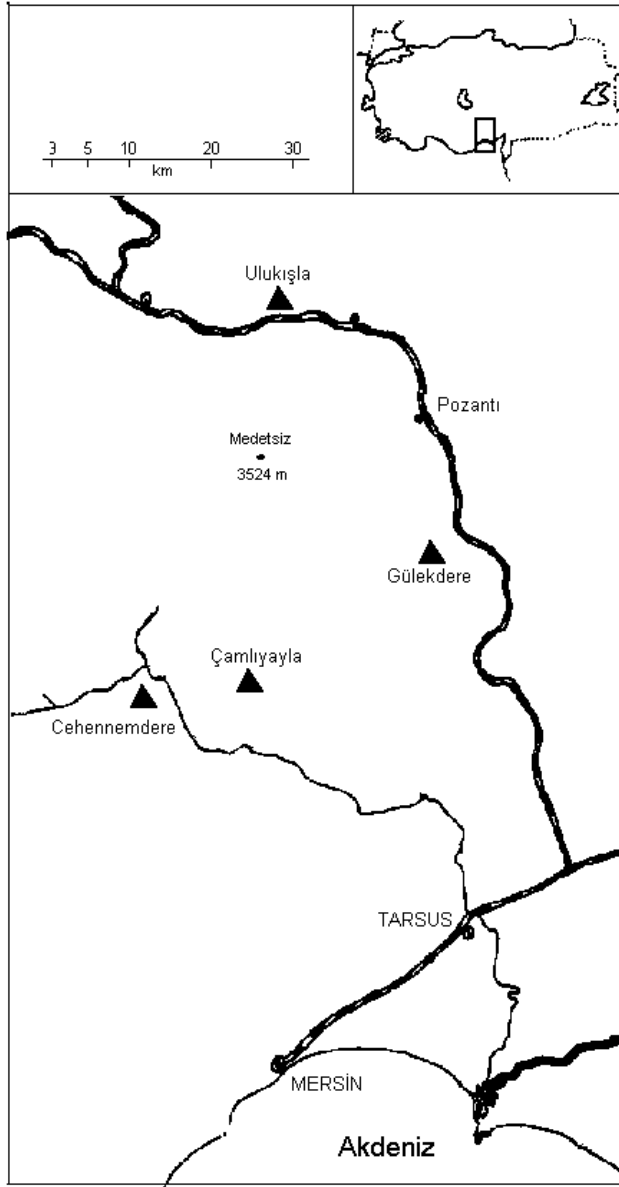
Populasyonlar arası genetik bağlantıyı gösterebilmek için, populasyonların Nei'nin (1972) genetik benzerlik (I) ve uzaklık değerleri (D), örnek sayısından bağımsız olarak (Nei, 1978), hesaplanmıştır.

Bütün hesaplamalar GeneStat (Lewis, 1993) ve POPGENE bilgisayar programı (Yeh ve ark., 1997) kullanılarak bilgisayar ortamında gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. Çalışmada kullanılan enzim sistemleri.

Table 2. The enzyme systems used in the study.

Jel/Tray Tamponları Gel/Tray Buffers	Enzimler Enzymes	Kısaltmalar Abbreviation	E.K. No. E.C. No.
<u>Sistem 1 (60 mA)</u>	Leucine aminopeptidase	LAP	3.4.11.1
Tris citrate (pH 8.3) /	Phosphogluco isomerase	PGI	5.3.1.9
Lithium borate (pH 8.3)	Phosphogluco mutase	PGM	5.4.2.2
<u>Sistem 2 (55 mA)</u>	Glutamate dehidrogenase	GDH	1.4.1.2
Tris citrate (pH 8.8) /	Glutamate oxaloacetate transaminase	GOT	2.6.1.1
Sodium borate (pH 8.0)	Mannose phosphatase isomerase	PMI	5.3.1.8
	Superoxide dismutase	SOD	1.15.1.1
<u>Sistem 3 (50 mA)</u>	Acid phosphatase	ACP	3.1.3.2
Morpholine citrate(pH 6.1)/	Aconitase	ACO	4.2.1.3
Morpholine citrate (pH 6.1)	Menadione reductase	MNR	1.6.99.2
	Shikimate dehydrogenase	SKDH	1.1.1.25
<u>Sistem 4 (60 mA)</u>	Diaphorase	DIA	1.6.4.3
Tris citrate (pH 6.2) /	Isocitrate dehydrogenase	IDH	1.1.1.42
Tris citrate (pH 6.2)	Malate dehydrogenase	MDH	1.1.1.37



Şekil 1. Örneklenen 4 popülasyonun yerlerini gösteren harita.
Figure 1. Locations of the 4 populations sampled.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1.İzoenzim Bant Yapıları

Çalışılan 14 enzim sistemi için 24 aktif zon (lokus) belirlenmiştir. Bunlardan 13 tanesi çok allelli (polimorfik), 11 tanesi ise tek allelli (monomorfik) olarak bulunmuştur. Enzimler ve kısaltmaları Tablo 2’de verilmiştir. Zonların bant yapıları ve allellerin orijinden uzaklıkları Şekil 2’de gösterilmiştir. Enzim sistemlerinin açılma verilerine ait değerler Tablo 3’de verilmiştir.

LAP: LAP için boyanan jellerde bir aktif zon belirlenmiştir. Bütün popülasyonlarda iki allel görülmüştür. Bunların ikisinde çift bantlı varyantlardı. Her bir zonun Mendel açılım yasalarına göre tek bir lokusun kontrolü altında olduğu bulunmuştur.

PGI: PGI jellerinde iki zon tespit edilmiştir. Birinci zonun, PGI1, koyu boyanan iki bölgeye yani iki farklı allele sahip olduğu belirlenmiştir. Buna ters olarak, ikinci zon, PGI2, kayda değer biçimde boyanmadığından dolayı sonuçları analizlere katılmamıştır. Tek lokus kontrolü altındadır.

PGM: PGM jellerinde iki zon tespit edilmiştir, PGM1 ve PGM2. İlk zonda, PGM1, biri çift bantlı diğeri tek bantlı yapıya sahip iki allel gözlemlenmiştir. İkinci zondada, PGM2, aynı yapıya sahip bantlar tespit edilmiştir. Ancak ikinci zondaki bu bantlar diğeri zondaki bantlara göre daha yavaş bir mobilite göstermişlerdir. Her bir zonun Mendel açılım yasalarına göre tek bir lokusun kontrolü altında olduğu bulunmuştur.

GOT: GOT için boyana jellerde üç zon tespit edilmiştir. GOT1’in koyu boyanmış bir allele sahip olduğu gözlemlenmiştir. Buna ek olarak bu zon bütün GOT zonları içinde en hızlı hareket eden zon olarak bulunmuştur. GOT2’nin iki allele sahip olduğu tespit edilmiştir. Daha yavaş hareket eden çift bantlı diğeri ise tek bantlı olarak görülmüştür. GOT3’ün iki adet üç bantlı varyanta sahip olduğu tespit edilmiştir. GOT3’ün ilk allelinin bir bantı katod yönüne doğru bir mobilite göstermiştir. Her bir zon Mendel açılım yasalarına uygundur.

PMI: PMI için boyana jellerde iki zon çözümlenmiştir. En hızlı olan ilk zonun tek bir banta sahip olduğu tespit edilmiştir. Daha yavaş olan

zonun, PMI2, biri tek bantlı diğeri çift bantlı iki varyanta sahip olduğu bulunmuştur. Her iki zon da tek lokus kontrolü altında bulunmaktadır.

SOD: SOD jellerinde iki lokus gözlemlenmiştir. SOD1’de çift bantlı tek allel tespit edilmiştir. Daha yavaş hareket eden ikinci lokusta, SOD2, ise tek bantlı tek allele görülmüştür.

GDH: Tek bir aktif zon belirlenmiştir. Buna göre bu enzimin tek bir lokus tarafından kontrol edildiğini söyleyebiliriz. Bu lokusun tek bir alleli olduğu tespit edilmiştir.

ACP: ACP için boyanan jellerde üç allelli tek bir aktif zon belirlenmiştir. İlk ve üçüncü allellerin çift bantlı ikincinin ise tek bantlı bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. Her bir zonun Mendel açılım yasalarına göre tek bir lokusun kontrolü altında olduğu bulunmuştur.

ACO: GDH için boyanan jeller gibi ACO jellerinde de tek bir aktif zon tespit edilmiştir. Bu tek zonun, tek bantlı bir allele sahip olduğu görülmüştür.

MNR: İki aktif zon belirlenmiştir. Bunları ilkinin, MNR1, üç allele sahip olduğu görülmüştür. MNR1’in ilk alleli üç bantlı, ikincisi çift bantlı ve üçüncüsü ise dört bantlı olarak belirlenmiştir. MNR2’nin tek bantlı iki allele sahip olduğu görülmüştür. Her bir zonun Mendel açılım yasalarına göre tek bir lokusun kontrolü altında olduğu bulunmuştur.

SKDH: SKDH’de, sadece bir aktif zon görülmüştür. Bu zonun, birincisi çift bantlı ikincisi tek bantlı iki allele sahip olduğu belirlenmiştir. Her zon Mendel yasalarına uygun bulunmuştur.

DIA: Bu enzimin iki zona sahip olduğu belirlenmiştir. DIA1’in, hızlı olanı tek bantlı yavaş olanı çift bantlı iki allele sahip olduğu gözlenmiştir. İkinci aktif zonun, DIA2, ise tek bir banttan oluştuğu belirlenmiştir. Tek lokus kontrolü altındadır.

IDH: Bu enzim için boyanan jellerde iki zon belirlenmiştir. İlk zonun koyu boyanan bir allele sahip olduğu ve birinci zondan daha yavaş hareket eden ikinci zonunda tek bir allele sahip olduğu tespit edilmiştir.

MDH: MDH jellerinde üç aktif zon belirlenmiştir. İlk zonda, MDH1, sadece bir tane koyu boyanan bant görülmüştür. İkinci locusun,

MDH2, hızlı hareket edenin çift bantlı, diğerinin tek bantlı olduğu iki allele sahip olduğu belirlenmiştir. Son olarak, üçüncü lokusun, MDH3, çift bantlı tek bir allelden oluştuğu tespit edilmiştir. Her bir zon tek lokus kontrolü altındadır.

Bütün popülasyonlarda, bazı lokuslarda; LAP, PGM1 ve 2, GOT2 ve 3, PMI2, SOD1, ACP, SKDH, MNR1, DIA1 ve son olarak MDH2 ve 3 gibi; çift veya daha fazla bant oluşumu gözlenmiştir. Nicolić ve Tucić (1983) ve Doğan ve ark. (1998) karaçam ile olan çalışmalarında benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Bu çoklu bantlaşmanın sebebi genin muhtemel dublikasyonu olabilir.

PGI, PGM, GOT, SOD, GDH, ACO ve DIA sistemlerinde gözlenen bant yapıları diğer çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermektedir (Bonnet-Masimbert ve Bikay-Bikay, 1978; Conkle, 1979; Adams ve Joly, 1980a; Adams ve Joly, 1980b; Millar, 1985; Cheliak ve Pitel, 1985; Gullberg, 1985; Strauss ve Conkle, 1986; Moran ve ark., 1988; Shiraishi, 1988a; Shiraishi, 1988b; Adams ve ark., 1990; Scaltsoyiannes ve ark., 1994; Aguinagalde ve ark., 1997; Kim ve ark., 1997; Doğan ve ark., 1998). Ancak, LAP, ACP, SKDH, IDH ve MDH sistemlerindeki bantlaşmalar eldeki *P.nigra* ve diğer konifer türlerine ait literatür ile karşılaştırıldığında bazı farklılıklara rastlanmıştır (Pei-show ve Stotzky, 1973; Conkle, 1979; Adams ve Joly, 1980a; Adams ve Joly, 1980b; Moran ve ark., 1980; El-Kassaby, 1981; Nicolić ve Tucić, 1983; Fineschi, 1984; Millar, 1985; Grunwald ve ark., 1986; Strauss ve Conkle, 1986; Moran ve ark., 1988; Shiraishi, 1988a; Shiraishi, 1988b; Matheson, 1989; Thormann ve Stephan, 1993; Scaltsoyiannes ve ark., 1994; Aguinagalde ve ark., 1997; Kim ve ark., 1997 ve Doğan ve ark., 1998). Bu farklılıkların sebebi kullanılan sistemlerdeki değişiklikler veya çalışılan Anadolu karaçamı popülasyonlarının genetik yapısındaki farklılıklar olabilir.

PMI ve MNR sistemleri Anadolu karaçamında ilk defa çalışıldığından sonuçların karşılaştırabileceği literatür bulunamamıştır. Bu çalışmada, PMI jellerinin biri tek allelli diğeri iki allelli iki zona sahip olduğu tespit edilmiştir. Millar (1985) diğer konifer türleri ile yapılan çalışmalarda PMI'nin iki monomorfik zona sahip olduğunun tespit edildiğini belirtmiştir. Diğer yandan, Strauss ve Conkle (1986) knobcone çamı ile yapılan çalışmalarında PMI'da iki polimorfik zon tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

MNR jellerinde, iki aktif zon belirlenmiştir. Diğer çam türlerindedeki iki lokusun varlığı tespit edilmiştir (Kim ve ark., 1997 ve Fallour ve ark. 1997). Millar (1985) Bishop çamı, Strauss ve Conkle (1986) Knobcone çamı ile yaptıkları çalışmalarda MNR için üç lokus tespit etmişlerdir.

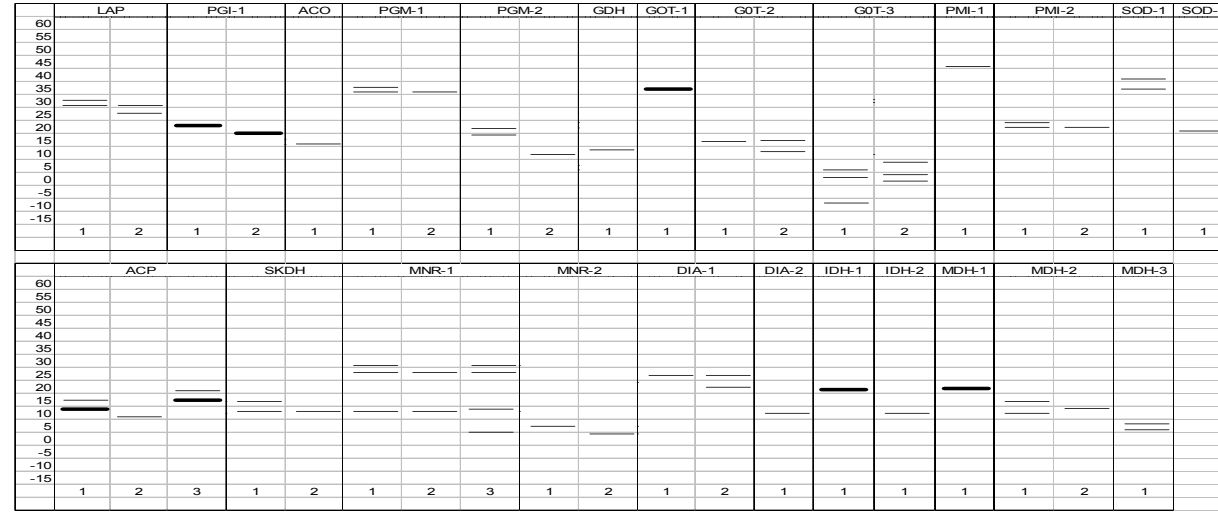
Tablo 3. Heterozigot bireylerde endosperm açılımları ve 1:1 uygunluk (X^2) testi.

Table 3. Segregation of megagametophytes in heterozygous individuals and goodness-of-fit to the expected 1:1 ratio (X^2).

Locus Lokus	Allelic Combinations Allelik Kombinasyonlar		Observed No. Gözlenme Sayısı		Deviation Sapmalar	
	F	S	F	T	$X^2(I)$	Olasılık Probability
LAP-1	1	2	23	48	0.021	0.25-0.50
PGI-1	1	2	417	776	4.187	0.05-0.025
PGM-1	1	2	445	928	1.475	0.25-0.10
PGM-2	1	2	19	40	0.025	>0.50
GOT-2	2	3	48	96	0.01	>0.50
GOT-3	1	2	28	48	1.021	0.50-0.25
PMI-2	1	2	202	376	1.939	0.25-0.10
ACP	1	2	334	672	0.013	>0.5
ACP	2	3	14	32	0.281	>0.50
MNR-1	1	2	138	264	0.458	0.50-0.25
MNR-1	2	3	304	584	0.906	0.50-0.25
MNR-1	1	3	107	216	0.005	>0.50
MNR-2	1	2	551	1040	3.578	0.10-0.05
SKDH	1	2	368	784	2.818	0.10-0.05
DIA-1	2	3	416	856	0.618	0.5-0.25
MDH-2	1	2	530	1056	0.009	>0.5

F: Hızlı, S: Yavaş ilerleyen aleller.

F: Fast, S: Slow migrating alleles.



Şekil 2. Anadolu karaçamının 24 isoenziminin endosperm bant yapıları (dikey eksendeki sayılar bantların orijinden uzaklığını mm olarak gösterir).

Figure 2. Megagametophyte banding patterns for 24 isoenzyme loci of Anatolian Black pine (numbers on vertical axis refer to migration distances from the origin in mm).

4.2. Populasyonların Genetik Yapıları

POPGENE (Yeh ve ark., 1997) bilgisayar programı ile belirlenen allel frekansları Tablo 4’de verilmiştir.

Populasyonların genetik çeşitliliğinin belirlenmesinde önemli olan değişkenler hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 5’de verilmiştir. Çalışılan Anadolu karaçamı populasyonlarında, polimorfik lokusların oranı (P) Çamlıyayla’da 0.417 ve Ulukışla’da 0.542 değerleri arasında farklılaşma göstermiştir. Bütün populasyonlar düşünüldüğünde, polimorfizm ortalama 0.479 olarak bulunmuştur. Karaçam ile yaptıkları çalışmalarda Nicolic ve Tucić (1983) (66%) ve Scaltsoyiannes ve ark. (1994) (70%) bu çalışma (48%) ile karşılaştırıldığında daha yüksek polimorfik değerler bulmuşlardır. Nicolic ve Tucić (1983) çalışmalarında az sayıda enzim sistemi kullanmış (ACP, LAP ve α -EST) ve 4 zon tespit etmişlerdir. Scaltsoyiannes ve ark. (1994) ise 10 enzim sisteminde 16 zon tespit etmiştir. Sonuçlar arasındaki farklar büyük ihtimalle kullanılan enzim sistemleri ve çalışılan zonlara bağlı idi. Hamrick ve ark.’nın (1992) ibreliler için 53.4 olarak bildirdikleri ortalama polimorfik lokus yüzdesi bu çalışma ile paralellik göstermektedir.

Ortalama allel sayısı, Çamlıyayla ve Gülekdere populasyonlarında (1.500) en düşük, Ulukışla populasyonunda ise en yüksek (1.625) değerini almıştır. Ortalama allel sayısı bütün populasyonlar düşünüldüğünde ortalama 1.552 olarak hesaplanmıştır. Scaltsoyiannes ve ark. (1994) çalışmasında ortalama allel sayısını 2.0 ve beklenen heterozigotluğu ise %20 olarak bulmuştur. Karaçamda bulunan sonuçlar bu çalışmanın sonuçları ile paralellik göstermektedir. Ayrıca Hamrick ve ark.’nın (1992) ibreliler için verdikleri ortalama allel sayısına (1.83)’de uygundur.

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).

Populasyonlar arasında, genotiplerden direkt olarak hesaplanan heterozigotluklar (H_o) Cehennemdere’de 0.216’dan Çamlıyayla’da 0.278’e varan değişik değerler göstermiştir. Hardy-Weinberg kurallarına göre tahmin edilen heterozigotluklar (H_s) ise Cehennemdere’de 0.193’den Gülekdere’de 0.224’ye varan değişik değerler göstermiştir. H_o ve H_s için hesaplanan ortalama değerler sırası ile 0.256 ve 0.211 olarak bulunmuştur. Beklenen

heterozigotluk çamlarda ortalama olarak 0.136 olarak bildirilmiştir (Hamrick ve ark., 1992).

Tablo 4. Çalışılan bütün populasyonların allel frekansları.

Table 4. Allele frequencies of loci studied in all the populations.

Locus Lokus	Allel Allele	Çamlıyayla	Cehennemdere	Ulukışla	Gülekdere
LAP	1	0.573	0.929	0.870	0.792
	2	0.427	0.071	0.130	0.208
PGI1	1	0.600	0.893	0.710	0.542
	2	0.400	0.107	0.290	0.458
PGM1	1	0.583	0.524	0.702	0.424
	2	0.417	0.476	0.298	0.576
PGM2	1	1.000	0.786	0.964	0.300
	2	0.000	0.214	0.036	0.700
GOT1	1	1.000	1.000	1.000	1.000
GOT2	1	1.000	1.000	0.872	1.000
	2	0.000	0.000	0.128	0.000
GOT3	1	1.000	0.940	0.970	1.000
	2	0.000	0.060	0.030	0.000
PMI1	1	1.000	1.000	1.000	1.000
PMI2	1	0.500	0.488	0.470	0.625
	2	0.500	0.512	0.530	0.375
SOD1	1	1.000	1.000	1.000	1.000
SOD2	1	1.000	1.000	1.000	1.000
GDH	1	1.000	1.000	1.000	1.000
ACP	1	0.427	0.714	0.565	0.540
	2	0.479	0.274	0.402	0.460
	3	0.094	0.012	0.033	0.000
ACO	1	1.000	1.000	1.000	1.000

MNR1	1	0.208	0.107	0.160	0.220
	2	0.448	0.524	0.460	0.410
	3	0.344	0.369	0.380	0.370
MNR2	1	0.573	0.488	0.560	0.580
	2	0.427	0.512	0.440	0.420
SKDH	1	0.513	0.679	0.510	0.570
	2	0.488	0.321	0.490	0.430
DIA1	1	0.576	0.724	0.595	0.485
	2	0.424	0.276	0.405	0.515
DIA2	1	1.000	1.000	1.000	1.000
IDH1	1	1.000	1.000	1.000	1.000
IDH2	1	1.000	1.000	1.000	1.000
MDH1	1	1.000	1.000	1.000	1.000
MDH2	1	0.500	0.588	0.340	0.500
	2	0.500	0.412	0.660	0.500
MDH3	1	1.000	1.000	1.000	1.000

İbreliler heterojen çevrelere adaptasyonları bakımından değişiklikler gösterebilirler (Aguinagalde ve ark., 1997), Anadolu karaçamının yüksek genetik çeşitliliği mikro çevrelere adapte olabilmeye mekanizmalarına (Kaya ve Temerit, 1994). bağlanmıştır.

Bu sonuç populasyon içindeki heterojenliğin populasyonlar arası heterojenlikten fazla olduğunu ya da populasyonlar arası heterojenliğin yeterince belirgin olmadığını gösterir. Populasyonlar arası genetik çeşitliliğin az olması karaçamın geniş alanlara yayılım göstermesinin ve dışardan döllenmesinin bir sonucudur. Populasyon içi genetik çeşitliliğin yüksek olması karaçamda toplam genetik çeşitliliğinin yüksek olduğunu gösterir. Bu da karaçam için yapılacak ıslah çalışmalarında genetik kazancın fazla olacağını gösterir. F değerlerinde gözlenen sapmalara rağmen populasyon içi genetik çeşitliliğin fazla olması; genetik çeşitliliğin büyük bir olasılıkla homojen olarak dağılmadığı şeklinde yorumlanabilir (Kara, 1996).

Tablo 5. Çalışılan populasyonlar içindeki genetik çeşitliliğe ait değişkenler.

Table 5. The parameters related to the within population diversity of the studied populations.

	P	A	H_o	H_s
Çamlıyayla	0.417 ± 0.103	1.500 ± 0.135	0.278 ± 0.077	0.217 ± 0.054
Cehennemdere	0.500 ± 0.104	1.583 ± 0.133	0.216 ± 0.064	0.193 ± 0.046
Ulukışla	0.542 ± 0.104	1.625 ± 0.132	0.254 ± 0.064	0.209 ± 0.048
Gülekdere	0.458 ± 0.104	1.500 ± 0.120	0.268 ± 0.076	0.224 ± 0.052
Ortalama±s.h.	0.479 ± 0.027	1.552 ± 0.031	0.256 ± 0.076	0.211 ± 0.007

P : Polimorfik locus oranı (proportion of polymorphic loci)

A : Locus başına düşen ortalama allel sayısı (mean number of alleles / locus)

H_o : Gözlenen heterozigotluk (observed heterozygosity)

H_s : Beklenen heterozigotluk (expected heterozygosity)

Nei'nin G-İstatistiğine göre, H_T 0.227, H_S 0.211, ve D_{ST} 0.016 olarak hesaplanmıştır. Bunlara göre genetik çeşitliliğin büyük bir bölümü populasyon içindedir. Ayrıca genetik farklılaşma (G_{ST}) 0.070 olarak hesaplanmıştır. Buda toplam genetik çeşitliliğin sadece %7'sinin populasyonlar arasında olduğunu gösterir (Tablo 6). Bu çalışmanın sonuçları şunu göstermektedir ki; populasyonlar içindeki heterojenlik populasyonlar arası heterojenlikten fazladır ve bu Nicolíć ve Tucić, 1983 ile Scaltsoyiannes ve ark., 1994 çalışma sonuçları ile tutarlıdır. Diğer çam ve ibreli türlerinde hesaplanan G_{ST} değerleride populasyonlar içindeki heterojenliğin populasyonlar arası heterojenlikten fazla olduğunu göstermektedir (El-Kassaby, 1991; Müller-Starck ve ark., 1992).

Wright'ın F-İstatistiği sonuçları Tablo 7'de verilmiştir. F_{IS} değeri her bir populasyon içinde, F_{IT} ise populasyonların tümünde Hardy-Weinberg dengesinde beklenen heterozigotluk düzeyinde olan sapmanın derecesini vermektedir. F_{IS} 'nin ortalama değeri -0.218, F_{IT} 'nin ortalama değeri ise -0.148 olarak bulunmuştur. Bu negatif değerler heterozigotların populasyonlar içinde nispeten fazla olduklarını ancak Hardy-Weinberg değerlerinden ciddi bir sapmanın olmadığını göstermektedir. Bu negatif değerlere doğru sapmanın

sebepleri, değişik genotipler arası çaprazlamanın tercih edilmesi ve/veya heterozigotların yararına seçilimi olabilir (El-Kassaby ve ark., 1987; Fady ve Conkle, 1993). Bir lokusun F_{ST} değeri, o lokusun populasyonlar arasındaki farklılaşmanın boyutuna olan etkisini göstermektedir. F_{ST} 'nin ortalama değeri 0.060 olarak bulunmuştur. Bu değerin çok dűşük olması populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın çok az olduğunu göstermektedir. Bu sonuç G_{ST} (0.070) değerini desteklemektedir. Ayrıca, Nm değeri Hamrick ve ark.'nın (1992) 4.750 olarak bildirdiği değere paraleldir.

Populasyonlarda Hardy-Weinberg eşitliğinden sapma olup olmadığının belirlenmesi için Wright'ın F-İstatistiği kullanılmıştır. F_{IS} -0.633 ile 0.891 arasında değiştirmiştir, ortalama -0.218'dir. F_{IT} ise ortalama olarak -0.148 bulunmuştur. Bu değerlerin sıfırdan negatif sapması (heterozigotluğun fazlalığı) birbirine benzemeyen genotipler arasındaki eşitleşmenin fazla olması (negative assortative mating) veya heterozigotluğun lehine bir seçilme olabilir (Brown, 1979; El-Kassaby ve ark., 1987; Fady ve Conkle, 1993).

F_{ST} deęerinin kűçük olması (0.060) alıřılan populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın dűşük olduęunu gösterir. Tablo 7 incelendięinde populasyonlar arasındaki farklılaşmaya en bűyűk etki yapan lokusların PGM-2 ve LAP olduęu gűrűlűr. Hamrick (1989) dıřarıdan dűllenebilen tűrlerde ortalama Nm deęerini 4.750 olarak bildirmiştir. Bu alıřmada Nm deęeri ortalama olarak 3.928 bulunmuştur. Populasyonlar veya alt populasyonlar arasındaki gen akımı genetik çeřitlilięin daęılımında űnemli bir etkiye sahiptir (Kara, 1996). Bolkar Daęları'ndaki populasyonların birbirinden kopuk olması nedeniyle Nm deęeri, ortalamadan dűşűk çıkmıřtır.

4.3. Populasyonlarda Genetik Mesafe

Bűtűn populasyon çiftleri için Nei'nin (1972) standart genetik benzerlięi (I) ve standart genetik mesafe (D), űrnek sayısından baęımsız olarak (Nei, 1978) hesaplanmıř ve Tablo 8'de verilmiřtir. Populasyonlar arasındaki genetik mesafe deęerleri 0.007'den (Çamlıyayla ve Ulukıřla arasında) 0.032'ye (Ulukıřla ve Gűlekdere arasında) deęiřen deęerler gűstermiřtir. Dięer taraftan genetik mesafe deęerlerinin tamamlayıcısı olan genetik benzerlik deęerleri 0.993'den (Ulukıřla ve Çamlıyayla arasında) 0.969'ya (Gűlekdere ve Ulukıřla arasında) deęiřen deęerler gűstermiřtir. Bűtűn olaęan populasyon çiftleri dűřűnűldűęűnde genetik mesafe ve benzerlik deęerleri sırasıyla ortalama 0.021

ve 0.980 olarak bulunmuştur. Silin ve Goncharenko (1996) karaçamda ortalama genetik mesafeyi 0.012, Scaltsoyiannes ve ark. (1994) ise 0.035 olarak bulduklarını bildirmişlerdir. Diğer çam türlerindedeki bu çalışmadaki sonuçlara benzer sonuçlar bulunmuştur (Moran ve ark., 1988 ve Kara, 1996).

Tablo 6. Polimorfik lokusların genetik çeşitlilik parametreleri.

Table 6. Genetic diversity parameters for the polymorphic loci.

Locus	H _S	H _T	D _{ST}	G _{ST}
LAP	0.297	0.343	0.045	0.132
PGI1	0.399	0.443	0.043	0.098
PGM1	0.478	0.500	0.022	0.044
PGM2	0.209	0.414	0.205	0.496
GOT2	0.056	0.064	0.008	0.119
GOT3	0.043	0.044	0.001	0.027
PMI2	0.497	0.502	0.005	0.009
ACP	0.508	0.527	0.019	0.036
MNR1	0.627	0.625	0.000	0.000
MNR2	0.498	0.496	0.000	0.000
SKDH	0.486	0.494	0.007	0.015
DIA1	0.472	0.487	0.014	0.030
MDH2	0.488	0.505	0.016	0.032
<i>Ortalama</i>	<i>0.211±0.049</i>	<i>0.227±0.051</i>	<i>0.016</i>	<i>0.070</i>

H_S : populasyon içi genetik çeşitlilik (expected heterozygosity in subpopulations)

H_T : toplam genetik çeşitlilik (total genetic diversity)

D_{ST} : populasyonlar arası genetik çeşitlilik (average diversity between populations)

G_{ST} : genetik farklılaşma katsayısı (relative magnitude of genetic differentiation)

Tablo 7. Polimorfik lokuslar için Wright'ın F-İstatistiği sonuçları.

Table 7. The estimates of Wright's F-Statistics for the polymorphic loci.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	N_m
LAP	0.891	0.903	0.110	2.025
PGI1	-0.357	-0.244	0.083	2.758
PGM1	-0.489	-0.428	0.041	5.819
PGM2	0.856	0.918	0.430	0.331
GOT2	-0.146	-0.033	0.099	2.278
GOT3	0.228	0.249	0.028	8.120
PMI2	-0.333	-0.313	0.015	16.454
ACP	0.056	0.089	0.035	6.893
MNR1	-0.372	-0.364	0.006	40.289
MNR2	-0.400	-0.393	0.005	45.946
SKDH	-0.143	-0.122	0.019	12.891
DIA1	-0.633	-0.584	0.030	8.035
MDH2	-0.481	-0.434	0.032	7.529
<i>Mean</i>	<i>-0.218</i>	<i>-0.148</i>	<i>0.060</i>	<i>7.529</i>

F_{IS} : popülasyon içi fiksasyon indeksi (fixation index for subpopulations)

F_{IT} : tüm popülasyonlar için fiksasyon indeksi (total fixation index)

F_{ST} : popülasyonlar arası genetik çeşitlilik (average diversity between populations)

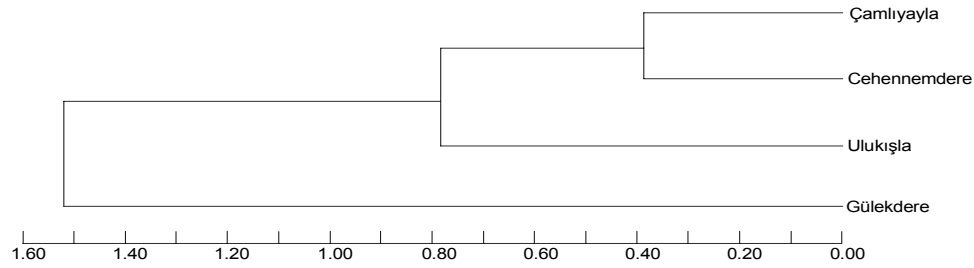
n_m : gen akışı (gene flow)

Tablo 8. Nei'ye (1987) göre hesaplanan genetik benzerlik (yukarıdaki) ve mesafe (aşağıdaki).

Table 8. Nei's (1987) Genetic Identities (above) and Distances (below).

	Çamlıyayla	Cehennemdere	Ulukışla	Gülekdere
Çamlıyayla		0.982	0.993	0.971
Cehennemdere	0.018		0.990	0.975
Ulukışla	0.007	0.010		0.969
Gülekdere	0.030	0.026	0.032	

Dört populasyon arasındaki farklılığı daha açık bir şekilde görebilmek için, Nei'nin genetik mesafesi (Nei, 1978) ve UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Means) metodu kullanılarak bir dendrogram oluşturulmuştur (Şekil 3). Dendrogramda genetik mesafelerine göre populasyonlar iki ana gruba ayrılmıştır. 1. grupta Gülekdere populasyonu yer alırken, diğerinde Çamlıyayla, Cehennemdere ve Ulukışla populasyonları yer almıştır. İkinci grupta yer alan populasyonlardan Çamlıyayla ve Cehennemdere kendi içerisinde bir alt grup oluşturmuştur. Bu sonuçlardan; Gülekdere populasyonunun diğer populasyonlardan en uzak olanı, Çamlıyayla ve Cehennemdere populasyonlarının ise birbirlerine en yakın populasyonlar olduğu bulunmuştur. Buna ek olarak bu iki populasyon Ulukışla'ya genetik olarak benzerlik göstermiştir. Dendrogram populasyonların coğrafik dağılımına paralel olarak çıkmıştır.



Şekil 3. Dört populasyonunun benzerlik dendrogramı.

Figure 3. Dendrogram of the four Anatolian Black pine populations.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünya bankasınca desteklenen “Genetik Çeşitliliğin Yerinde Korunması Projesi” kapsamında yapılan bu çalışmada, Bolkar Dağları’ndaki hedef türlerden biri olan Anadolu karaçamı için örneklenen 4 populasyon üzerinde çalışılmıştır.

İzoenzim analizi, Anadolu karaçamının genetik çeşitliliği hakkında önemli bilgiler edinilmesini sağlamıştır. Datanın analiz edilmesi ile elde edilen gen frekansları populasyonlar arasında önemli genetik farklılıklar olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, Anadolu karaçamı, genel olarak karaçam türüne göre daha az ancak diğer türlere göre daha yüksek genetik çeşitlilik göstermiştir.

Bu çalışmada, 14 enzim sisteminde 13 tanesi polimorfik, 11 tanesi monomorfik olmak üzere 24 lokus gözlenmiştir. En yaygın allelin frekansının 0.99 veya daha fazla ($p < 0.01$) olduğu durumlarda polimorfizm 41% ve 55% değerleri arasında değişmiştir. Ortalama allel sayısı (A) yaklaşık 1.6 ve beklenen heterozigotluk (H_s) %21 olarak bulunmuştur. Populasyonlar arası genetik çeşitliliğin toplam genetik çeşitliliğe oranı (G_{ST}) ortalama 0.070 olarak bulunmuştur ki bu toplam genetik çeşitliliğin sadece %7’sinin populasyonlar arasında olduğunu göstermektedir.

Bütün populasyon çiftleri arasında genetik mesafe ortalama 0.021 olarak bulunmuştur. UPGMA kullanılarak oluşturulan dendogramda populasyonlar 2 ana gruba ayrıldı. Birinci grupta Çamlıyayla ve Cehennemdere ile Ulukışla 2 alt grup oluşturular. Gülekdere tek başına ikinci ana grupta kaldı. Gülekdere populasyonu diğer populasyonlardan hem coğrafik olarak uzak, hem de bakı olarak değişik konumdadır. Ulukışla populasyonu ise Bolkar Dağları’nın İç Anadolu’ya bakan kısmında yer almaktadır. Bu nedenle, Gülekdere ve Ulukışla populasyonlarının genetik olarak en uzak iki populasyon olması beklenen sonuçtur.

Bu çalışmada, izoenzim markörleri kullanılarak seçilmiş dört Anadolu karaçamının populasyon içi ve arasındaki genetik çeşitlilik belirlenmiştir. Bu veriler daha sonra uygun populasyonları korumak amacıyla seçilmesi için öneri yapmak üzere değerlendirilmiştir. Bolkar Dağlarında, Anadolu karaçamında bulunan genetik çeşitliliğin çoğunun korunması için, en az iki populasyonun

in-situ koruma amaçlı Gen Koruma ve Yönetim Alanı (GEKYA) olarak ayrılması yerinde olacaktır.

Yüksek polimorfizm, ortalama allel sayısı ve diğer populasyonlar ile karşılaştırıldığında en yüksek genetik mesafeye sahip olan Ulukışla populasyonu GEKYA olarak ilk seçenek olarak düşünülebilir. Ayrıca, Ulukışla populasyonunda hedef tür olarak belirlenen Toros sediri ve Toros göknarı da bulunmaktadır. Ulukışla'ya genetik olarak en uzak ayrıca en yüksek heterozigotluğa sahip olan Gülekdere populasyonun, ikinci GEKYA olarak seçilmesi uygundur.

ÖZET

Bolkar Dağlarındaki Anadolu karaçamı (*Pinus nigra* Arnold ssp. *pallasiana*) populasyonları (Çamlıyayla, Cehennemdere, Ulukışla ve Gülekdere) arasındaki genetik çeşitliliğin boyutunun ve yapılaşmasının belirlenmesi ve uygun populasyonların türün gen kaynaklarını yerinde korunması amacıyla önerilmesi için 14 izoenzim sistemi tohumun gametofitik dokusu kullanılarak araştırıldı.

Çalışılan 14 enzim sistemi için 24 aktif zon belirlendi. Çalışmada, polimorfizimin (P) Çamlıyayla'da %41 ve Gülekdere'de %55 değerleri arasında değişti görüldü. Locus başına alel sayısı (A) 1.6 civarındaydı ve beklenen heterozigotluk (genetik çeşitlilik) (H_S) yaklaşık %21 olarak bulundu. Bunlara ek olarak, sadece Ulukışla populasyonunda bir tane nadir alele rastlandı (GOT2 locusunun ikinci aleli) ve bu durum Ulukışla populasyonunun ayırt edilmesinde önemli bir özellik olmuştur. Toplam genetik çeşitliliğin populasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğe oranı, (G_{ST}), ortalama 0.070 olarak hesaplandı. Bu, toplam genetik çeşitliliğin sadece %7'sinin populasyonlar arasında olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Nei'nin genetik mesafe değerleri, bütün olası populasyon çiftleri (6) dikkate alındığında, 0.007 ile 0.032 arasında değiştiği görüldü ve ortalama değer 0.021 olarak bulundu ki bu, populasyonlar arasındaki farklılığın çok fazla olmadığını doğrulamaktadır.

Son olarak, bulguların değerlendirilmesiyle Ulukışla ve Gülekdere populasyonları Anadolu karaçamının Bolkar dağlarındaki "Gen Koruma ve Yönetim Alanı" (GEKYA) olarak ayrılması önerildi.

SUMMARY

To determine the magnitude and pattern of genetic diversity among Anatolian Black pine (*Pinus nigra* Arnold subspecies *pallasiana*) populations (Çamlıyayla, Ulukışla, Cehennemdere and Gülekdere) in Bolkar Mountains and to recommend the potential populations which may be suitable for *in-situ* conservation of genetic resources in this species, isoenzymes from 14 enzyme systems were investigated from open pollinated seed megagametophytes of half-sib families originated from the four populations, by starch gel electrophoresis.

Twenty-four loci were resolved for the 14 enzyme systems assayed. Polymorphism (P) varied between 41% in Çamlıyayla and 55% in Ulukışla. The mean number of alleles per locus (A) was around 1.6 and the expected heterozygosity (H_s) was about 21%. Genetic diversity among populations relative to the total genetic diversity (G_{ST}) was averaged as 0.070, indicating that only 7% of the total genetic diversity was among populations. Furthermore, Nei's genetic distance values ranged from 0.007 to 0.032 among the 6 possible population pairs and was averaged as 0.021 confirming that the diversity among populations was not very high.

Finally, based on the results of this study, it is recommended that Ulukışla and Gülekdere populations could be considered for Gene Management Zone (GMZ) in the Bolkar Mountains.

KAYNAKÇA

- ADAMS, W. T., JOLY, R. J. 1980a: Genetics of allozyme variants in loblolly pine. *The Journal of Heredity* 71: 33-40.
- ADAMS, W. T., JOLY, R. J. 1980b: Linkage relationships among twelve allozyme loci in loblolly pine. *The Journal of Heredity* 71: 199-202.
- 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 (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*). *Silvae Genetica* 39: 153-167.
- 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.
- ANONİM. 1993: Çevre ve Çevre Bakanlığı Dergisi, Çevre Bakanlığı Yeşil Seri 1: 39-47.
- ATALAY, İ. 1994: Türkiye Vegetasyon Coğrafyası. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir.
- BONNET - MASIMBERT, M. ,BIKAY - BIKAY, V. 1978: Variabilité intraspécifique des isozymes de la glutamate-oxaloacatate-transaminase chez *Pinus nigra* Arnold intérêt pour la taxonomie des sous espèces. *Silvae Genetica* 27: 71-79.
- BROWN, A. H. D., MORAN, G.F. 1981: Isozymes and the genetic resources of forest trees. In: *Proceedings of the symposium on the Isozymes of North American Forest Trees and Insects*, edited by Conkle, M. T., U.S.D.A. Gen. Techn. Rept. PSW-48: 1-10.
- CHELIAK, W. M., PITEL, J. A. 1985: Inheritance and linkage of allozymes in *Larix laricina*. *Silvae Genetica* 34: 142-148.
- CONKLE, M. T. 1979: Isozyme variation and linkage in six conifer species. Presented at the *Symposium on Isozymes of North American Forest Trees and Forest Insects*, California.

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, California.

DOĞAN, B., ÖZER, A. S., GÜLBABA, G., VELİOĞLU, E., DOERKSEN, A. H., ADAMS, W. T. 1998: Inheritance and linkage of allozymes in black pine (*Pinus nigra* Arnold) from Turkey. In: The Proceedings of International Symposium on *In-situ* Conservation of Plant Genetic Diversity, edited by Zencirci, N., Kaya, Z., Anikster, Y., Adams, W. T. Central Research Institute for Field Crops, Turkey.

EL-KASSABY, Y. A. 1981: Genetic interpretation of malate dehydrogenase isozymes in some conifer species. *The Journal of Heredity* 72: 451-452.

EL-KASSABY, Y. A. 1991: Genetic variation within and among conifer populations: Review and evaluation of methods. *Biochemical Markers in the Population Genetics of Forest Trees*, edited by Fineschi, F., Malvolti, M. E., Cannata, F., Hattemer, H. H. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands 61-76.

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 Colombia. *Heredity* 58: 173-181.

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.

FALLOUR, D., FADY, B., LEFEVRE, F. 1997: Study on isozyme variation in *Pinus pinea* L.: Evidence for low polymorphism. *Silvae Genetica* 46: 201-207.

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.

GEMİCİ, Y. 1994a: Genetik Çeşitliliğin Yerinde Korunması Survey-Envanter Kursu Notları, Akçay, Edremit.

GEMİCİ, Y. 1994b: Bolkar Dağlarında flora ve vejetasyon üzerine genel bilgiler. *Türk Botanik Dergisi*, Cilt 18 sayı 2.

- GIANNINI, R., MORGANTE, M., VENDRAMIN, G. G. 1991: Allozyme variation in Italian Populations of *Picea abies* (L.) Karst. *Silvae Genetica* 40: 160-166.
- GRUNWALD, C., SCHILLER, G., CONKLE, M. T. 1986: Isozyme variation among native stands and plantations of Aleppo pine in Israel. *Israel Journal of Botany* 35: 161-174.
- GULLBERG, U., YAZDANI, R., RUDIN, D., RYMAN, N. 1985: Allozyme variation in scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Sweeden. *Silvae Genetica* 34: 193-201.
- GÜLBABA, G., VELİOĞLU, E., ÖZER, A. S., DOĞAN, B., DOERKSEN, A. H., ADAMS, W. T. 1996: Kazdağı göknarı (*Abies equitrojani* Aschers et. sint) populasyonlarının genetik yapıları ve gen kaynaklarının yerinde korunması. *DOA Dergisi* 2:23-48.
- HAMRICK, J. L., MITTON, J. B., LINHART, Y. B. 1981: Levels of genetic variation in trees: Influence of life history characteristics. In: *Isozymes of North American forest tress and forest insects*, edited by Conkle, M. T., Pacific SW For. Range Expt. Sta. Tech. Report #48: 35-41.
- IŞIK, K. 1996: *Biyolojik Çeşitlilik ve Orman Gen kaynaklarımız*, Orman Bakanlığı Yayın No: 013.
- KARA, N. 1996: Kızılçamın (*Pinus brutia* Ten.) doğal populasyonlarında izoenzim çeşitliliğinin araştırılması. M.S. Thesis, Akdeniz Üniv., Antalya.
- KAYA, Z., KÜN E., GÜNER A. 1997: National plan for *in-situ* conservation of plant genetic diversity in Turkey. Milli Eğitim Basımevi, İstanbul.
- KAYA, Z., TEMERIT, A. 1994: Genetic structure of marginally located *Pinus nigra* var. *pallasiana* populations in central Turkey. *Silvae Genetica* 43: 272-276.
- KIM, Z. S., LEE, S. W., HWANG, J. W. 1997: Genetic diversity and structure of natural populations of *Pinus thunbergii* in Korea. *Silvae Genetica* 46:120-124.
- LEWIS, P. O. 1993: *GeneStat-PC 3.3* (Manuel). North Carolina State University, North Carolina.

- MATHESON, A. C., BELL, J. C., BARNES, R. D. 1989: Breeding systems and genetic structure in some central American pine populations. *Silvae Genetica* 38:107-113.
- MILLAR, C. I. 1985: Inheritance of allozyme variants in bishop pine (*Pinus muricata* D. Don). *Biochemical Genetics* 23: 933-946.
- MILLAR, C. I., WESTFALL, R. D. 1992: Allozyme markers in forest genetic conservation. *New Forests* 6: 347-371.
- MORAN, G. F, BELL, J. C, MATHESON, A. C. 1980: The genetic structure and levels of inbreeding in *Pinus radiata* D. Don seed orchard. *Silvae Genetica* 29: 190-193.
- MORAN, G. F, BELL, J. C, ELDRIDGE, K. G. 1988: The genetic structure and the conservation the five natural populations of *Pinus radiata*. *Can. J. For. Res.* 18: 506-514.
- MÜLLER-STARCK, G., BARADAT, P., BERGMANN, F. 1992: Genetic variation within European tree species. *New Forests* 6: 23-47.
- NEI, M. 1972: Genetic distance between populations. *Amer. Natur.* 106: 83-292.
- NEI, M. 1978: Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- NEI, M. 1987: *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York.
- NEVO, E. 1978: Genetic variation in natural populations. *Patterns and Theor. Pop. Biol.* 13: 129-177.
- NICOLIĆ, D., TUCIĆ N. 1983: Isoenzyme variation within and among populations of European Black pine (*Pinus nigra* Arnold). *Silvae Genetica* 32: 80-89.
- PEI-SHOW, J., STOTZKY G. 1973: Electrophoretic analysis of isozymes from seeds of *Pinus*, *Abies* and *Pseudotsuga*. *Can. J. Bot.* 51: 2201-2205.
- SCALTSOYIANNES, A., ROHR, R., PANETSOS, K. P., AND TSAKTSIRA, M. 1994: Allozyme frequency distributions in five European populations of Black pine (*Pinus nigra* Arnold). *Silvae Genetica* 43: 20-30.

- SCHILLER, G., CONKLE, M. T., GRUNWALD, C. 1986: Local differentiation among Mediterranean populations of Aleppo pine in their isozymes. *Silvae Genetica* 35: 11-19.
- SCHWARZ, O. 1938 : Über die Systematik und Nomenklatur der Europäischen Schwarzkiefern. *Notizblatt des Bot. Garten zu Berlin Dahlem XIII* 117: 226-243.
- SHIRAIISHI, S. 1988a: Linkage relationships among allozyme loci in Japanese Black pine, *Pinus thunbergii* Parl. *Silvae Genetica* 37: 60-66.
- SHIRAIISHI, S. 1988b: Inheritance of isozyme variations in Japanese Black pine, *Pinus thunbergii* Parl. *Silvae Genetica* 37: 93-100.
- 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.
- STRAUSS, S. H., CONKLE, M. T. 1986: Segregation, linkage and diversity of allozymes in knobcone pine. *Theor. Appl. Genet.* 72: 483-493.
- ŞİMŞEK, Y. 1992 : Türkiye Orijinli Gökmar Türlerinin (*Abies nordmanniana*, *A. bornmülleriana*, *A. equi-trojani*) Genetik Yapıları Üzerine Araştırmalar. *Or. Arş. Ens. Yayınları*, Tek. Bül. No:221, 1-40, Ankara.
- THORMANN, R., STEPHAN, B.R. 1993: Interpretation of isozyme patterns of malate dehydrogenase in Scots pine using two different staining methods. *Silvae Genetica* 42:5-8.
- VIDAKOVIĆ, M. 1991: Conifers Morphology and Variation. *Graficki Zavod Hrvatske*.
- YAHYAĞLU, Z., GENÇ, M., ÜÇLER, A.Ö., GÜNEŞ, İ.: Bazı sarıçam (*Pinus sylvestris*) populasyonlarında genetik yapının elektroforetik yöntemlerle analizi. II. Ulusal Biyoteknoloji Sempozyumu. 22-23 Eylül , Beytepe, Ankara.
- YEH, F. C., Rongcai, Y., Boyle T. 1997: Population Genetic Analysis, POPGENE Version 1.21 (32-Bit): A Quick User's Guide. A Joint Project Development by University of Alberta and Center for International Forestry Research, USA.