

Bakanlık Yayın No: 339

Müdürlük Yayın No: 32

**TÜRK YEŞİLMERİSİ (Liquidambar orientalis Miller)  
POPULASYONLARININ GENETİK YAPISININ MOLEKÜLER  
BELİRTEÇLERLE BELİRLENMESİ VE KORUMA STRATEJİLERİNİN  
GELİTİRİLMESİ**

ODC: 165.3

Determination of Genetic Diversity and Gene Conservation Strategies for  
Oriental Sweetgum (*Liquidambar orientalis* Miller) Populations in Turkey  
by Molecular Markers

**Ercan VELİOĞLU Dr. Gaye KANDEMİR Dr. Yasemin TAYANÇ  
Dr. Burcu ÇENGEL Dr. Murat ALAN Prof. Dr. Zeki KAYA**

**TEKNİK BÜLTEN NO: 20**

**T.C.**

**ÇEVRE ve ORMAN BAKANLIĞI  
ORMAN ARAŞTIRMALARI VE TOHUMLARI İSLAH VE ÜRETİM  
MÜDÜRLÜĞÜ**

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

**ANKARA-TÜRK YEŞİLMERİSİ**



**ISBN: 978-605-393-019-8**



## ÖNSÖZ

Biyolojik zenginliklerimizden biri olan endemik s, la a ac,n,n önemi günümüzde di er ülkeler taraf,ndan da anla ,lm, ve Avrupa Gen Kaynaklar, Program, (EUFORGEN) taraf,ndan de erli yaprakl, a açlar grubuna dahil edilmi tir. Bu tür s,n,rl, yay,l, göstermesinden dolay,, korunmas, ve i letilmesine daha çok özen gösterilmesi yerinde olacakt,r. Do al populasyonlar,n genetik yap,lar,n,n anla ,lmas, gen koruma çal, malar,n, kolayla t,racakt,r, çünkü genetik çe itlilik orman a açlar, populasyonlar, için önemli bir niteliktir. Populasyonlar aras, ve populasyon içi genetik çe itlilik genetik kaynaklar,n korunma ve yönetimi aç,s,ndan önemli oldu u kadar, ,slah ve silvikültür uygulamalar,na temel te kil etti i için de önem ta ,maktad,r.

Bu çal, ma, TUB TAK, Tar,m Ormanc,l,k ve Veterinerlik Ara t,rma Grubu taraf,ndan desteklendi i için (TOVAG -1040 O 154) TUB TAKø te ekkür ederiz.

Ara t,rma kapsam,nda, 18 populasyondan örnek toplanmas, a amas,nda yard,m,lar,n, esirgemeyen Süleyman I ,k DER LGEN, Belk,s KORKMAZ, Rumi SABUNCU, Osman E E ve aram,zdan zamans,z ayr,lan Murat NURø te ekkür ederiz. Ayr,ca, bu zahmetli ve masrafl, çal, mada sorunlar,n üstesinden gelmemize yard,mc, olan ba ta Müdürümüz Sadi IKLAR ve Müdür Yard,mc,m,z Dr. Hikmet ÖZTÜRKø, Bakanl, ,m,z ta ra te kilat,na ve laboratuvar çal, malar,na katkıda bulunan Asl, ÖZD LEK ve Özlem SARIG Lø te ekkürü bir borç biliriz.

**Ankara, 2008**

Ercan VEL O LU  
Dr. Gaye KANDEM R  
Dr. Yasemin TAYANÇ  
Dr. Burcu ÇENGEL  
Dr. Murat ALAN  
Prof. Dr. Zeki KAYA

## Ç NDEK LER

ÖNSÖZ	i
Ç NDEK LERİ	ii
ÖZİ	iv
ABSTRACT	v
EK LLER ve Ç ZELGELER D Z N	vi
1. G R	1
2. L TERATÜR ÖZET	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	7
3.1. Populasyonlar, n Tan, t, m, ve Örneklenmesi	7
3.2. RAPD Analizi	8
3.2.1. DNA zolasyonu	8
3.2.2. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi	9
3.2.3. RAPD Primerleri	9
3.2.4. RAPD-PCR Ko ullar,	9
3.2.5. Jellerin Yorumlanması,	10
3.2.6. Veri Analizi	10
3.2.6.1. Allel Frekanslar,	11
3.2.6.2. Allel Say, s,	11
3.2.6.3. Etkili Allel Say, s,	11
3.2.6.4. Heterozigotluk,	11
3.2.6.5. Polimorfik Lokus Oran,	12
3.2.6.6. Shannon Sabiti,	12
3.2.6.7. Genetik Çe itlili in Yap, lanması,	12
3.2.6.8. Populasyonlar Arası, Genetik Mesafe	13
3.3. Kloroplast Genomu <i>rps16</i> Bölgesi	14
3.3.1. Kloroplast <i>rps16</i> Primerleri	14
3.3.2. Kloroplast <i>rps16</i> Bölgesi PCR Ko ullar,	15
3.3.3. Jellerin Yorumlanması,	15
3.3.4. Veri Analizi	16
3.4. Çekirdek Ribozomal DNA ITS Bölgesi	16
3.4.1. ITS Primerleri	17
3.4.2. ITS Bölgesi PCR Ko ullar,	17
3.4.3. Jellerin Yorumlanması,	18
3.4.4. Veri Analizi	18
4. BULGULAR ve TARTI MA	19
4.1. Populasyonlar, n Genetik Yap, s,	19
4.2. Genetik Çe itlilik	19

4.2.1. Allelik Zenginlik.....	19
4.2.2. Heterozigotluk.....	20
4.2.3. Polimorfik Lokus Oran,.....	20
4.2.4. Shannon Sabiti.....	20
4.2.5. Genetik Çe itlili in Yap,lanmas,.....í í í í ...í í ...	22
4.2.6. Populasyonlar Aras, Genetik Mesafe .....	25
4.3. Kloroplast rps16 Bölgesi.....	28
4.3.1. Populasyon ç i Genetik Mesafe (p-distance).....	28
4.3.2. Minimum Farkl,la ma A ac,.....	29
4.4. Çekirdek Ribozomal DNA ITS Bölgesi í í í í í í í í í ..	30
5. SONUÇ ve ÖNER LER .....	32
ÖZET .....	34
SUMMARY .....	35
KAYNAKÇA .....	36
	5

## ÖZ

Bu çal, mada, ÷lkemizdeki s, la (*Liquidambar orientalis* Miller) populasyonlar,ndaki genetik çe itlilik RAPD, çekirdek ribozomal DNA (ITS) ve kloroplast (*rps16*) belirteçleri kullan,larak belirlenmi tir. Bu amaçla, s, lan,n tüm do al yay,l, alan,n kapsayacak ekilde 18 populasyon belirlenmi tir. Bu me cerelerden 25øer a açtan yaprak örnekleri toplanm, t,r. Yapraklardan elde edilen DNAølar RAPD belirteçleriyle taranarak populasyonlar,n genetik çe itlilik parametreleri belirlenmi tir. Ayr,ca ITS ve kloroplast *rps16* bölgelerinin dizi analizleriyle minimum farklıla ma ve yak,n ba lant, a açlar, olu turulmu tur.

Çal, ,lan 10 RAPD primeriyle 75 polimorfik lokus elde edilmi tir. Ortalama polimorfik lokus oran, %45, ortalama heterozigotluk  $0.17\pm.02$  ve etkili allel say,s,  $1.30\pm.04$  olarak hesaplanm, t,r. Elde edilen sonuçlar di er yaprakl, a aç türleriyle kar ,la t,r,ld, ,nda, oldukça dü üktür. Ayr,ca, populasyonlar aras, genetik farklıla may, gösteren  $G_{ST}$  de eri  $0.54\pm.02$ dür, yani toplam genetik çe itlili in % 54øi populasyonlar aras,nda, kalan % 46ø, ise populasyonlar içeresindedir. Populasyonlar aras, gen ak, ,n, gösteren  $N_m$  de eri 0.42 olup, kritik gen ak, , de erinin (0.5) alt,ndadır. Tahmin edilen tüm bu parametreler s, la populasyonlar,nda genetik çe itlili in oldukça dü ük, populasyonlar aras, farklıla man,n ise oldukça yüksek oldu unu göstermektedir.

Sonuç olarak; RAPD belirteçleriyle elde edilen genetik çe itlilik parametreleri ile, ITS ve kloroplast *rps16* bölgesi dizi analiziyle elde edilen veriler , , ,nda, koruma stratejileri önerilmi tir. Köyce iz-Köyce iz ve Marmaris-De irmenyan, populasyonlar,n,n *in-situ* korunmas, önerilmi tir. Ayr,ca, yüksek genetik çe itlili e sahip olan populasyonlar ve minimum farklıla ma a ac,nda en çok farklılk gösteren populasyonlar,n (Ac,payam-Bozda , Mu la-Y,lanl,, Marmaris-Günnücek, Köyce iz-Köyce iz, Mu la-K,yra, Marmaris-De irmenyan,, Mu la-Yata an, Fethiye-Günlükba ,) *ex-situ* koruma alt,na al,nmas, önerilmi tir.

**Anahtar kelimeler:** *Liquidambar orientalis*, s, la, genetik çe itlilik, RAPD belirteçleri, ITS, kloroplast *rps16* bölgesi, *in-situ* ve *ex situ* koruma



## ABSTRACT

In this study, genetic diversity of sweet gum (*Liquidambar orientalis* Miller) populations was investigated by means of RAPD, nuclear ribosomal DNA (ITS) and chloroplast (*rps16*) markers. For this purpose, 18 populations were selected to cover all distribution area of sweet gum. Leaf samples were collected from 25 trees from each population. DNA's isolated from leaves were used to screen populations with RAPD markers so that genetic diversity parameters to be determined. Moreover, ITS and chloroplast *rps16* region's sequence analysis was used to construct minimum spanning and neighbour joining trees.

Ten RAPD primers generated 75 polymorphic loci. Percentage of polymorphic loci was 45 %; number of effective alleles was  $1.30 \pm 0.04$ ; mean heterozygosity value was  $0.17 \pm 0.02$ . These values are generally low when compared to other broad-leaves. Fifty four percent of genetic diversity was contained among populations meaning that 46% contained within populations. Gene flow value was estimated as 0.42 which was below the critical (0,5) value. All these parameters state that genetic diversity of the sweet gum populations is low and populations are differentiated considerably with each other.

Results obtained by RAPD markers, ITS and chloroplast *rps16* sequence data were employed to propose conservation strategies for sweet gum. Köyce iz-Köyce iz and Marmaris-De irmenyan, populations were recommended for *in situ* conservation. Eight populations were determined for *ex situ* conservation (Ac,payam -Bozda , Marmaris-De irmenyan,, Mu la-Y,lanl,, Marmaris-Günnücek, Mu la-K,yra, Köyce iz-Köyce iz, Fethiye-Günlükba ,, Mu la-Yata an) due to their high genetic diversity values and differentiation in minimum spanning tree.

**Key Words:** *Liquidambar orientalis*, sweet gum, genetic diversity, RAPD markers, ITS, chloroplast *rps16* region, *in-situ* and *ex situ* conservation.

## **EKLER ve ÇİZELGELER DİZİNİ**

### **Ekiler**

Ekil 1. Bu çalışmada için örneklenen s, la populasyonlar,.....	8
Ekil 2. Çekirdek ribozomal DNA ITS bölgesi .....	16
Ekil 3. Neimin genetik mesafe de erleriyle olu turulan dendrogram.....	26
Ekil 4. Bozda ve Pamucak populasyonlar,nda CpDNA <i>rps16</i> bölgesi bantlar,.....	28
Ekil 5. CpDNA <i>rps16</i> bölgesi verileriyle olu turulan minimum farklıla ma a ac,.....	30
Ekil 6. Çekirdek ribozomal DNA ITS bölgesi verileriyle olu turulan yak, n ba lant, a ac,.....	31

### **Çizelgeler**

Çizelge 1. Çalışılan s, la populasyonlar, n, n tan, t, m,.....	7
Çizelge 2. S, la için kullanılan RAPD primerleri.....	9
Çizelge 3. RAPD primerleri için kullanılan PCR tepkime kar, , m,.....	10
Çizelge 4. RAPD primerleri için kullanılan PCR döngüsü.....	10
Çizelge 5. CpDNA <i>rps16</i> bölgesi için kullanılan primerler.....	14
Çizelge 6. CpDNA <i>rps16</i> bölgesi için kullanılan PCR tepkime kar, , m,.....	15
Çizelge 7. CpDNA <i>rps16</i> bölgesi için kullanılan PCR döngüsü.....	15
Çizelge 8. ITS bölgesi için kullanılan primerler .....	17
Çizelge 9. ITS bölgesi için kullanılan PCR tepkime kar, , m,.....	17
Çizelge 10. ITS bölgesi için kullanılan PCR döngüsü .....	17
Çizelge 11. RAPD primerlerinin üretti i polimorfik bant sayısı,.....	19
Çizelge 12. S, la için 10 RAPD primeriyle hesaplanan genetik çe itlilik de erleri í í í í í í .....	20
Çizelge 13. RAPD belirteçleriyle herbir lokus için hesaplanan gen çe itlili i ve genetik farklıla ma ve gen ak, , de erleri.....	23
Çizelge 14. RAPD belirteçleriyle hesaplanan gen çe itlili i, genetik farklıla ma ve gen ak, , de erleri.....	24
Çizelge 15. Neimin genetik benzerlik (üst diyagonal) ve genetik mesafe de erleri (alt diyagonal).....	27
Çizelge 16. <i>rps16</i> primerleriyle hesaplanan genetik mesafe de erleri.....	29

## 1. G R

Ülkemiz ormanlar, verim güçleri bakımından fakir olmakla birlikte tür sayıs, bakımından oldukça zengindir. Ayrıca doğal türlerimizin önemli bir bölümü endemik karakterde türlerdir. Endemik türler, ülkemiz florasına kazandırdıkları, önem yanında, ormancılık uygulamaları için de ayrı bir sorumluluk getirmektedir. Zira bu türlere ait bilgilerin ortaya çıkarılması, öncelikle Türk ormancısına dü en bir görev olduğu belirtilmektedir (ACAR 1988a, D R K 1986). Bu türlerimizden birisi de Anadolu s, las, (*Liquidambar orientalis* Miller) dır. Gerek *Liquidambar* cinsinin yeryüzünde çok s, n, r, l, alanda yay, l, göstermesi (SAMARODOVA-BIANKI 1957), gerekse tarih boyunca Anadolu ürünü s, la ya , n, n (*levant storax*) uluslararası, pazarda talep görmesi (ACAR ve ark. 1992), bu ürünü ve s, land, , ormanlar, n Türkiye ormanc, l, , aç, s, ndan önem ve de erini ortaya koymaktadır.

Ülkemizde, eskiden amberi sâil denilen (ACATAY 1963), bugüne günlük a ac, ya da s, la a ac, olarak bilinen *Liquidambar orientalis*, *Hamamelidaceae* familyas, n, n *Bucklandioidae* alt familyas, n, n, *Liquidambar* cinsinin ülkemizde yay, l, gösteren türüdür (ÖRTEL 1988). *Liquidambar*; Latince *liquidus*, Arapça *amber* sözcüklerinin birleşiminden meydana gelmiş ve güzel kokulu s, v, demektir (ÖNAL ve ÖZER 1985). *Liquidambar* cinsi 5 türe sahiptir (EFE 1987). Bu türlerden *L. formosana* ve *L. edentata* Çin'de, *L. styraciflua* ve *L. macrophylla* Kuzey Amerika'da yay, l, göstermektedir. Bu türlerin hepsi a a , yukarı, aynı enlem derecelerinde olmak üzere Kuzey Yar, küre'de , l, man ku akta adac, klar halinde, kesintili bir yay, l, göstermektedir (GOOD 1974). Günümüzde sadece Anadolu, Amerika ve Çin'de doğal olarak yay, l, gösteren *Liquidambar* cinsine ait taksonlar; Tebe ir, Tersiyer, Pleistosen, Eosen jeolojik devirlerinde Kuzey Amerika ve Avrasya'n, n geni bir kesiminde yay, l, göstermekteydi, ancak Buzul ça , ndan sonra bugünkü yay, l, sahalarına çekilmişlerdir (EFE 1987; ACAR ve ark. 1992; AKMAN ve ark. 1992; KETENO LU ve ark. 2003). Buzulla man, n daha az hissedildi i Anadolu'da baz, korunaklı ve nemli-s, cak iklim ko ullar, n, n hüküm sürdü ü yerlerin bulunması, birçok tersiyer kökenli türü, bu arada Anadolu s, las, n, da günümüze kadar getirebilmişlerdir. Zaten s, la odunlar, n, n iç morfolojik özellikleri, türün *Angiospermae* taksonlar, n, n görülme e ba lad, , jeolojik dönemlerin sonuna do ru ortaya ç, kt, , n, kan, tlamaktadır (EFE 1987).

Ülkemiz için relict-endemik tür olduğu ile bir dünya mirası olan Anadolu s, las,, Anadolu'daki doğal yay, l, , n, n kuzey s, n, r, n, Çine Çay, boyunca, güney s, n, r, n, E en Çay, n, n denize yakın k, s, mlar, nda, do u s, n, r, n, Silifke ve bat, s, n, r, n, da Bodrum dolaylarında yapar (ACAR ve ark.

1992; D R K 1986). Bu genel yayı, alan, içerisinde esas yayı, , Mu la yöresindedir. Anadolu s, las,, Ülkemizde Dalaman ve Köyce iz deltalar, ile denize yak,n taban düzlüklerinin genel olarak kuzey rüzgarlar,na kapalı, sıcak ve nemli yerlerinde bulunmaktadır. Söz konusu yörede çok yüksek yaz sıcaklıklar,, iddetli buharlaşma, düşük bulutluluk oran,, çok seyrek don ve kar yağış,, karakteristikleri gösteren Akdeniz iklim tipi hüküm sürmektedir (D R K 1986). Ayrıca denize dik uzanan akarsular boyunca iç kesimlere kadar sokulmakta ve Denizli'nin Acıpayam ilçesi yakınlarında 1000 metrenin üstüne çıkmaktadır. Bu yöre, iklim özellikleri bakımından esas yayı, ,n, yaptı, , Köyce iz yöresine göre önemli farklılıklar göstermektedir.

Bazı Türk araştırmacılar, Anadolu s, las,, Rodos ve Kıbrıs'ta bulunması sebebiyle endemik olmadığını söylemektedirler, fakat bu türün eski dönemlerde Rodos ve Kıbrıs'a götürülerek kültüre alındığı, bildirilmektedir (HU 1949; AKMAN 1995).

Ekolojik isteklerinden dolayı, sınırlı bir alanda yayılan s, lan, 1940'da yıllarda 6312 ha olarak bildirilen toplam alan, (HU 1949), 1980'de yıllarda 1337 ha'ya inmiştir (KTÜREN ve ACAR 1987). Bu nedenle, Anadolu s, las, IUCN tehlike kategorilerine paralel olarak hazırlanan listede ödo ada orta vadeli gelecekte yüksek tehdit altında kategorisinde gösterilmektedir (EKİM ve ark. 2000). S, la ormanların en büyük tahrip nedeni, toprağın çok verimli olması, nedeniyle yapılan açmalar ve sulama kanallarının taban suyunu çekmesidir (ÖNAL ve ÖZER 1985; ACAR ve KIZILEL 1988; KETENO LU ve ark. 2003). Ayrıca yakacak odun amacıyla kesilmesi ve hayvan otlatılması, da alan daralmasını etkileyen faktörlerdendir.

Alan daralmasına paralel olarak, s, la ormanlardan elde edilen s, la yağ, üretimi de azalmıştır. 1950 yılında yaklaşık 180 ton olan s, la yağ, üretimi, 1980 yılında 18 tona ve 1990 yılında 1 tona düşmüştür. 2006 yılında sadece 127 kg yağ, üretimi yapılmıştır. Ülkemiz 80'den fazla s, la yağ, üretimi açsından monopol aç olma niteliğinde iken, bugün bu niteliğini yitirmiştir (ATAY 1985). 1918 yılına kadar pazarda sadece Türk S, la Yağı bulunmasına karşın, 1. Dünya Savaşı nedeniyle s, la yağ,ın pazarlanamamasından dolayı,, *Liquidambar styraciflua*'dan balzam üretimi (sweet-gum, red-gum) başlamıştır (ACAR 1988b; ÇET NTA 1990). Amerikan storax üretimi, Honduras ve Guatemala'da yapılmaktadır. Pazar payının dolayısıyla üretimin azalmasını bir nedeni de; s, la yağ, doğal yapıyla korunarak, temiz ekilde üretilip, pazara sunulması, gerekirken, güncel yöntemle elde edilen s, la yağ,ın bu nitelikleri taşımamasıdır (GÜL 1986).

Anadolu s, las,, kabuklarından elde edilen s, la balzamı (storax) ve bu balzamın uçucu kısmı, yani eterik yağ, (styrax) çok eski çağlardan beri bilinen bir materyaldir (ACAR 1988b). Batı Fenike gemilerinde içi

s, la ya , ile dolu amforalar,n ç,kmas,, Akdeniz ticaretinde s, la ya ,n,n önemli bir yer tuttu unu göstermektedir. Farmakolojik olarak geni kullan,m alan,na sahip olan bu balzam, Avrupa'da ilaç olarak kullan,lmaya 17. Yüzy,lda ba lam, t,r (HU 1949). Halk aras,nda s, la ya , diye bilinen bu balzam,n di er bir kullan,m alan, da, kozmetik sektörüdür. M,s,r piramitlerindeki mezarlarda s, la ya ,n,n kokusu günümüze kadar gelmi tir (ACAR 1988b). Ayr,ca iyi bir antiseptik ve parazitlere kar , etkilidir (HU 1949). Ciltte yumu at,c,, iltihap giderici ve yara iyi edici etkileri bulunmaktad,r. Halk taraf,ndan özellikle mide rahats,zl,klar,nda kullan,lmaktad,r. Sabun ve kimya sanayinin de hammaddesidir. Buhur denilen, ya , al,nm, kapç,klar ise cami ve kiliselerde ho koku verdi i için kullan,lmaktad,r. Amerikada yeti en *L. styraciflua* odunu kereste üretiminde ikinci s,ray, almas,na kar ,n, Anadolu s, las, yakacak odunu yan,nda, sadece saban ve baz, küçük el aletleri yap,m,nda kullan,lmaktad,r.

AKMAN (1995)æ göre, s, la orman yap,s,n,n Akdeniz bölgesinde bir e de eri bulunmamaktad,r. *Liquidambar orientalis* formasyonlar, Türkiye için birinci derecede önemli biyolojik ve ekolojik çevre olu turmaktad,r (ACAR ve ark. 1992; AKMAN 1995; KETENO LU ve ark. 2003). Ayr,ca Anadolu s, las, 2001 y,l,nda EUFORGEN (European Forest Genetic Resources Program) taraf,ndan de erli yaprakl,lar (Noble Hardwoods) grubuna al,narak, Avrupa çap,nda korunacak bir tür olarak kabul edilmi tir (ALAN ve KAYA 2003).

Tar,m bitkilerinin aksine, orman a açlar, ça lar boyu olu mu do al yap,s, de i tirilmemi , çok zengin genetik çe itlili e sahiptir (PERRY 1978; NAMKOONG ve ark. 1980; I IK 1988). Tür içindeki genetik varyasyon; evrimsel güçler, türün üreme ekli gibi çok farklı ve karma ,k faktörlerin ve bunlar,n etkile imlerinin sonucu olarak ortaya ç,kmaktad,r. Bu nedenle bilgi üretmeden karma ,k ve dinamik bir kayna , yönetmek, biyolojik bir kaynaktan optimum bir ekilde ve devaml,l,k prensipleri içinde yararlanmak olanaks,zd,r (COSSALTER 1989). Tür içinde, populasyon düzeyinde ve populasyon içinde ne kadar fazla genetik çe itlilik varsa, türün veya populasyonlar,n de i en çevre artlar,na uyum olası, , o kadar yüksektir. Anadolu s, las,, yay,l, alanlar,n, h,zla kaybetmesi nedeniyle yok olma tehlikesiyle kar , kar ,yad,r (ÖZKAHRAMAN 1984; ÖNAL ve ÖZER 1985; EFE 1987; ÖRTEL 1988; ACAR ve ark. 1992; GÜNER ve ark. 1993). Türlerin genetik çe itlili inin ve yap,s,n,n belirlenmesi, gen kaynaklar,n,n etkili korunmas, aç,s,ndan önem ta ,maktad,r (MILLAR ve MARSHALL 1991), çünkü genetik çe itlilik çal, malar,, gerek ,slah, gerekse korumaya al,nacak populasyonlar,n seçiminde yol göstericidir (CONKLE 1980; LEDIG 1998).

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) belirteçleri genetik çe itlilik belirlemede, ,slah ve koruma stratejilerinin olu turulmas,nda oldukça s,k kullan,lan moleküler belirteçlerdir (NEALE ve ark. 1992; RUSSEL ve ark. 1993; KEIL ve GRIFFIN 1994; ROSETTO ve ark. 1995).

Kloroplast DNAø,, izole edilmesinin kolayl, ,, genlerin ço unlukla tek kopya olarak yer almas, ve mutasyon h,z,n,n yüksek olmas, nedeniyle bitki filogenetik çal, malar,nda s,kl,kla kullan,lmaktad,r (LIANG 1997). Kloroplast DNAø,n,n farklı bölümleri farklı h,zlarla evrimle ti inden, çe itli taksonomik guruplar,n ayr,m,na olanak tan,maktad,r.

Genetik çal, malar,n eksikli i; gerek ,slah çal, malar,nda, gerekse gen kaynaklar,n, koruma çal, malar,nda etkin yöntem ve program belirlemeyi güçle tirmektedir. Anadolu s, las, ülkemizin relik-endemik a aç türlerinden biri olmas,na ra men, genetik çe itlili ine yönelik ara t,rma bulunmamaktad,r. Halbuki geli mi ülkelerde uzun y,llardan beri a açland,rma, ,slah ve koruma çal, malar,na yön verebilmek amac,yla genetik çe itlilik çal, malar, yap,lmaktad,r (ANON M 1995). Anadolu s, las, için de bu yönde çal, malar yap,lmak, önerilmektedir (ÖNAL ve ÖZER 1985; D R K 1986; ACAR 1988a).

Anadolu s, las,, arzu edilen niteliklere sahip kal,tsal varyasyonlar bak,m,ndan ümit verici bir potansiyele sahip olmas,, s,n,rl, bir alanda yay,l, göstermesi, relik-endemik bir tür olmas,, alanlar,n,n her geçen gün azalarak yok olma noktas,na gelmesi, ekonomik önemi yan,nda, Ülkemiz için birinci derecede önemli biyolojik ve ekolojik çevre olu turmas, nedeniyle, etkili bir koruma stratejisi geli tirmek gerekmektedir. Bu çal, ma, Anadolu s, las,n,n genetik çe itlili inin belirlenmesi ve sonuçlar,na göre koruma stratejisi geli tirmek amac,yla yap,lm, t,r.

## 2. L TERATÜR ÖZET

Anadolu s, las, ile ilgili olarak ilk yay,n BERKEL ve HU (1944) taraf,ndan yap,lm, t,r. Ya ,n,n önemi dolay,s,yla daha çok bu konudaki ara t,rmalarda yo unla ,lm, t,r (HU 1947; HU 1949; TOPÇUO LU 1947; TOPÇUO LU 1950; TOPÇUO LU 1968; TANKER ve SAYRON 1974; HAFIZO LU 1982; ÖNAL ve ÖZER 1985; GÜL 1986; ACAR 1988b; DURU ve ark. 2002; STEK ve HAFIZO LU 2004; STEK ve HAFIZO LU 2005). Türün morfolojisi, yay,l, alanlar,, sitotaksonomisi, anatomik yap,s,, silvikültürü ve doku kültürü konular,na yönelik çal, malar da bulunmaktad,r (BERKEL 1955; PAMUKO LU 1964; PE MEN 1972; KESERC O LU 1973; GOOD 1974; AYKIN 1976; ANON M 1984; ATAY 1985; D R K 1986; EFE 1987; ACAR 1988a; Ç 1988; ÖRTEL 1988; BOZKURT ve ark. 1989; BOZKURT ve ark. 1990; AKMAN ve ark. 1992; GENÇ ve ark. 1993; GENÇ 1994; GENÇ 1999; ALAN ve KAYA 2003; FAK R ve DO ANO LU 2003; FAK R 2005). Ayr,ca Anadolu s, las,n, tan,t,c, ve yok olmas,na dikkat çeken makaleler bulunmaktad,r (ANON M 1984; ÖZKAHRAMAN 1984; ACAR ve KIZILEL 1988; ÇET NTA 1990; YÜCEL 1991; ACAR ve ark. 1992; EFE ve D R K 1992; GÜNER ve ark. 1993; TET K ve R N 2002; KETENO LU ve ark. 2003). Fakat ülkemizdeki Anadolu s, las,n,n populasyon geneti ine yönelik ara t,rma yoktur.

DAVIS (1972)œ göre Türkiyeœde Anadolu s, las,n,n *orientalis* ve *integriloba* olarak iki varyetesi bulunmaktad,r. Birincisi; Ayd,n ili Emirda ve Çine, Mu la ili Milas, Selimiye, Fethiye ve Göcek dolaylar,nda, ikincisi ise; Mu la ili Datça, Marmaris, Fethiye ile Ka ve Kalkan dolaylar,nda yay,l, göstermektedir (ÖNAL ve ÖZER 1985; KTÜEREN ve ACAR 1987). PE MEN (1972), õFlora of Turkeyö için yapm, oldu u revizyon çal, mas,nda var. *orientalis* yapraklar,n,n baz,lar,nda kama eklinde bir terminal lop ile 2-4 adet birbirine kar ,l,kl,, 3 kö eli lateral tohum bulundu unu; var. *integriloba* yapraklar,n,n ise hepsinin bölünmedi ini, geni yumurta eklinde, sivri uçlu loblu oldu unu belirtmesine kar ,n, EFE (1987) arazi çal, malar, s,ras,nda söz konusu iki varyatenin varl, ,n, do rulay,c, örneklere rastlamad, ,n, bildirmi tir.

Anadolu s, las,n,n ovada yay,l, gösteren tiplerine õtaban günlükü üö, yüksek rak,mda bulunanlara ise õda günlükü üö denilmektedir (BERKEL 1955). EFE (1987) ise odun elementlerinin boyut ve say,lar,nda yükseklik aç,s,ndan fark bulunmad, ,n,, fakat bat,dan do uya gidildikçe çatall, perforasyon basamak say,lar,n,n artt, ,n,, kurakl,k art,kça trahelerde çatals,z perforasyon basamak say,lar,n,n azald, ,n, belirtmektedir. Geleneksel üretimde çal, an i çiler Anadolu s, las,n, ya verimine göre õveren günlükö

ve ösa ,r günlükö diye ay,rılmaktadırlar (ACAR 1988b). EFE (1987) çal ,mas,nda ya vermeyen bireylerin daha derin çatlaklı,, küçük pullu ve koyu renkli oldu unu belirtmi tir.

HOEY ve PARKS (1991), 41 populyasyonda izoenzim varyasyonunu saptadı , çal ,mada, Kuzey Amerika ve Anadolu türlerinin k,talar aras, (intercontinental) yak,n akraba türlerden oldu u sonucuna varm, t,r. Yine HOEY ve PARKS (1994)ın Do u Amerika ve Meksika'dan ald , , *L. styraciflua* örnekleriyle, Çin'den ald , , *L. acalycina* ve *L. formosana* ile yaptı , çal ,mada; genetik çe itlili in herbir tür için benzer oldu unu tespit etmi tir. Ayr,ca LI ve BOGLE (1997) ve LI ve ark. (1999), kloroplast DNA çal ,malar,nda, *L. styraciflua* ve *L. orientalis*ın birbirlerine yak,n akraba (karde tür) oldukları,n, ortaya koymu tur.

SHI ve ark. (1998) taraf,ndan Hamamelidaceae familyas,na ait 15 türde ITS belirteçleri kullan,larak yapılan çal ,mada, bu ailenin filogenetik yapılanmas, yeniden olu turulmu tur. Bu ara t,rmada *Liquidambar* cinsine ait iki tür (*L. styraciflua*, *L. formosana*) yer alm, t,r. Elde edilen veriler , , ,nda *Liquidambar* cinsinin parafiletik olabilece i sonucuna var,lm, t,r.

SHI ve ark. (2001) taraf,ndan *Hamamelidaceae* familyas,nda cpDNA, matK, PY-IGS ve ITS belirteçleri kullan,larak 3 cinse ait 14 türle çal ,lm, t,r. Ara t,rmaya *Liquidambar* cinsinden; *acalycina*, *formosana*, *styraciflua* ve *orientalis* türlerine ait bireyler dahil edilmi tir. Elde edilen verilere göre; *L. styraciflua* ve *L. orientalis* türleri ile *L. acalycina* ve *L. formosana* tür çiftleri aras,nda daha yak,n akrabal,k oldu u sonucuna var,lm, t,r. Bu türlerin birbirlerinden oldukça farklıla t , , bu yüzden de ayn, cins alt,nda toplanmamas, gerekti i sonucuna da var,lm, t,r.

Bu çal ,mada kullan,lan populyasyonlarla kloroplast DNA kodlanmayan transfer ribonükleik asit (trn) bölgesi kullan,larak yapılan bir ba ka ara t,rmada; moleküler ça itlilik parametreleri belirlenerek minimum farklıla ma a ac, olu turularak, Marmaris-Günnücek, Fethiye-Günlükba , , Mu la-K,yra, Ac,payam-Alc., Marmaris-De irmenyan, ve Mu la-Y,lanl, populyasyonlar, *ex situ* koruma için önerilmi tir (OR 2007). Yine ayn, populyasyonlarla yapılan di er bir çal ,mada, kloroplast DNA *matK* bölgesinin dizi analiziyle varyeteler aras,ndaki genetik farklıla ma belirlenmeye çal ,lm, t,r (ÖZD LEK 2007). Bu çal ,ma sonuçları,na göre, en fazla say,da polimorfik bölgeye sahip populyasyon Fethiye-Günlükba , , olup, varyeteler aras,nda belirgin bir ayrı ma gözlenmemi ve tüm sonuçlar gözönüne alınarak; Fethiye-Günlükba , , Marmaris-Çetibeli ve Mu la-K,yra populyasyonlar, korunmas, gereken populyasyonlar olarak önerilmi tir.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Populasyonlar, n Tan,t,m, ve Örneklenmesi

S, lan,n yay,l, alan,n, kapsayacak 18 populasyon belirlenmi tir ( ekil 1, Çizelge 1). Her bir populasyondan 25øer a aç olmak üzere toplam 450 a açtan, yaprak örnekleri toplanm, t,r. Me cerelerden yaprak örnekleri toplarken, aileler aras,nda en az 100 m mesafe olmas,na, 300 møden fazla yükselti fark, olmamas,na ve ailelerin yakla ,k ayn, ya ta olmas,na dikkat edilmi tir. Dere içi vejetasyonlar,nda bu kriterler uygulanamam, t,r. Herbir a açtan toplanan yapraklar ayr, ayr, torbalanarak, buzluklarla en k,sa sürede Müdürlü ümüzün so uk hava deposuna ula t,r,lm, t,r.

**Çizelge 1. Çal, ,lan s, la populasyonlar,n,n tan,t,m,**  
Table 1. Information about studied sweet gum populations

No No.	Kod Code	Populasyon Population	Varyete Variety	Me cere Tipi Stand Type	Rak,m Altitude
1	BOZD	Ac,payam-Bozda (GKO <sup>1</sup> -199)	?	Me cere	1100
2	PAMC	Bucak-Pamucak (GKO <sup>1</sup> -109)	?	Dere içi vejetasyon	250
3	KOYC	Köyce iz- Köyce iz	<i>integriloba</i>	Me cere	10
4	GUNN	Marmaris-Günnücek	<i>integriloba</i>	Me cere	5
5	GUNL	Fethiye-Günlükba ,	<i>integriloba</i>	Me cere	5
6	DEGM	Marmaris-De irmenyan,	<i>integriloba</i>	Me cere	5
7	UMUR	Ayd,n-Umurlu	<i>orientalis</i>	Dere içi vejetasyon	250
8	YILN	Mu la-Y,lanl,	<i>orientalis</i>	Dere içi vejetasyon	250
9	KIZY	Mu la-K,z,lyaka	<i>integriloba</i>	Me cere	50
10	SERK	Antalya-Serik	?	Dere içi vejetasyon	30
11	KIYR	Mu la-K,yra	<i>integriloba</i>	Da ,n,k me cere	50
12	GUNC	Marmaris-Günnücek	<i>integriloba</i>	Me cere	5
13	KOTB	Köyce iz- Köyce iz (TB <sup>2</sup> -137)	<i>integriloba</i>	Klonal tohum bahçesi	10
14	ALCI	Ac,payam-Alc,	?	Me cere	1100
15	CETB	Marmaris-Çetibeli (TM <sup>3</sup> -321)	<i>integriloba</i>	Dere içi vejetasyon	30
16	HISR	Marmaris-Hisarönü	<i>integriloba</i>	Dere içi vejetasyon	30
17	SOGT	Burdur-Sö ütda (Tabiat, Koruma Alan,)	???	Me cere	500
18	YATN	Mu la-Yata an	<i>orientalis</i>	Dere içi vejetasyon	250

<sup>1</sup>: (GKO) Gen Koruma Orman,, <sup>2</sup>: (TB) Tohum Bahçesi, <sup>3</sup>: (TM) Tohum Me ceresi (ANON M 2001)



ekil 1. Bu çal, ma için örneklenen s, la populasyonlar, (Populasyon numaralar, Çizelge 1øde verilmi tir.)

Figure 1. Sweet gum populations sampled for this study

### 3.2. RAPD Analizi

#### 3.2.1. DNA zolasyonu

S, la yapraklar,n,n yüksek ya içeri i nedeniyle PCR analizlerine uygun safl,кта DNA elde edebilmek için haz,r DNA izolasyon kiti kullan,lm,as, planlanm, t,. Ancak denenen farklı DNA izolasyon kitlerinden hiçbirisi istenilen verimlilikte sonuç vermemi tir. Bu yüzden, çe itli DNA izolasyon yöntemleri denenmi tir. Bunlar aras,nda en iyi sonuç DOYLE ve DOYLE'nin (1990) CTAB protokolüyle elde edilmi tir. Sonuç olarak, s, la yapraklar,ndan DNA izolasyonunda baz, de i iklimler yap,larak a a ,daki protokol kullan,lm, t,r:

1. Yapraklar s,v, azotla beyazlay,ncaya kadar ezilip 0.5 gram tart,larak tüplere konulur.
2. Üzerine önceden ,s,t,lm, , 15 ml CTAB özütlemeye tamponu eklenip, kar, t,r,l,r.
3. Tüpler su banyosunda (65°C) 1 saat bekletildikten sonra 14000 rpmøde 10 dakika santrifüjlenir.
4. Üst faz yeni tüplere al,n,r, üzerine 10 ml kloroform:oktanol (24:1) solüsyonu eklenip, kar, t,r,l,r,d,ktan sonra 14000 rpmøde, 15 dakika santrifüjlenir.
5. Üst faz al,narak, daha önceden 10 ml so uk isopropanol konulmu tüplere aktar,l,r.

6. Ultra so uk (-80°C) dolapta 1 saat bekletilir.
7. Yeniden 14000 rpmøde 10 dakika santrifüjlenir.
8. Üst faz dökülür. Pelet 5 ml, 70 % etil alkolle iki kere y,kan,r.
9. Tüpler ters çevrilerek kurumaya b,rak,l,r.
10. Pelet 200 µl TE tamponuyla çözülür.
11. Elde edilen DNA -20°Cøde saklan,r.

### 3.2.2. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Elde edilen tüm DNA örneklerinin konsantrasyonlar, øUV Visible spektrofotometreøyle (Amersham Gene Quant) ölçülmü tür. Elde edilen DNA konsantrasyonlar, 60 µg/ml - 1000 µg/ml aras,nda de i mi tir. Sonuç olarak, PCR uygulamalar, için tüm DNA örnekleri 20 ng/ml olacak ekilde seyreltilmi tir. Bu örnekler çal, ma süresince +4°Cøde saklanm, t,r.

### 3.2.3. RAPD Primerleri

Daha önce farklı, çal, malarda kullan,lan RAPD-PCR primerleri denenerek en çok polimorfizm veren 10 primer seçilmi tir (Çizelge 2). Kullan,lan primerlerin dizileri G+C içeri i % 60-70 olup, sonlar, birbirlerini tamamlamayacak ekilde sentezlenmi tir. Bu 10 primerle, 18 populusyondan 360 DNA örne i taranm, t,r.

#### Çizelge 2. S, la için kullan,lan RAPD primerleri

Table 2. RAPD primers used to screen sweet gum populations

Primer No Primer No.	Dizi Bilgisi (5'- 3') Primer Sequence
<b>UBC-514</b>	CGG TTA GAC G-
<b>UBC-694</b>	GGT TTG GAG G
<b>UBC-692</b>	AAA CCA GGC G
<b>UBC-652</b>	CCC AAC ACA C
<b>UBC-121</b>	GTG ACG CCG C
<b>UBC-138</b>	CTG CGG GTC A
<b>UBC-162</b>	GGC CGA TGA T
<b>UBC-165</b>	GAG TGG TGA C
<b>UBC-187</b>	GGA AGG GAG T
<b>UBC-190</b>	GGC CGA TGA T

### 3.2.4. RAPD-PCR Ko ullan,

Daha önce farklı, çal, malarda kullan,lan PCR artlar, (tepkime kar, ,m,) ve döngüleri kullan,larak farklı, kombinasyonlar denenmi tir.

PCR tepkime kar, ,m,n,n optimizasyonu için, farklı, DNA ve primer konsantrasyonlar, denenmi tir. Sonuç olarak; s, la için kullan,lan tepkime artlar, Çizelge 3øde, PCR döngüsü Çizelge 4øde verilmi tir.

**Çizelge 3. RAPD primerleri için kullanılan PCR tepkime karışımı,**  
Table 3. Optimized PCR mixture conditions for RAPD primers

PCR tepkime içeriği PCR Contents	Kullanılan miktar Volume used	Son etkin miktar Final concentration
Steril Su	15.25 µl	
dNTP (10 mM)	4 µl	1.6 mM
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	1.5 µl	1.5 mM
Tampon (10x)	2.5 µl	1x
Primer (100 µM)	0.25µl	1 µM
TaqDNA Polimeraz (5 u/µl)	0.3 µl	1 u
DNA (ng/µl)	1.2	
<b>Toplam Miktar</b>	<b>25 µl</b>	

**Çizelge 4. RAPD primerleri için kullanılan PCR döngüsü**  
Table 4. Optimized PCR cycles for RAPD primers

Sıcaklık Temperature	Süre Duration	Döngü Sayısı No. of cycles	Tanım Explanation
95°C	1 dk.	1	İlk sarmal bozulumu
94°C	1 dk.	45	Sarmal bozulumu
36°C	2 dk.		Birleşme
72°C	2 dk.		Uzama
72°C	15 dk.	1	Son Uzama

### 3.2.5. Jellerin Yorumlanması,

Elde edilen PCR ürünleri 2 µl yükleme boyası, eklenerek, % 1.7'den fazla agaroz jelde, 1x TAE tamponuyla, 80 Voltta 3 saat yürütülmüştür. Ayrıca jellerde 2-3 kuyucu olarak, elde edilen bantların büyüklüklerini belirlemek amacıyla DNA standardı, (GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus, MBI Fermentas, Litvanya) eklenmiştir. Daha sonra jeller etidyum bromid solüsyonuyla 30 dk boyanmış ve jel görüntüleme sistemiyle dijital ortama aktarılmıştır.

PCR amplifikasyonu ürünleri görsel olarak değerlendirilmiştir. Her bir ana genotipi her bir lokusta bulunan bantlardan karşılaştırılmıştır. Bir örnekte RAPD bantlarının gözlenmesi durumunda öl, gözlenmemesi durumunda öö olarak kodlanmıştır.

### 3.2.6. Veri Analizi

Veri toplama aşaması tamamlandıktan sonra veriler popülasyon genetiği analiz programlarında değerlendirilmek üzere elektronik ortama

aktar,lm, t,r. Etkili ( $N_e$ ) ve gözlenen ( $N_a$ ) allel say,s,, beklenen heterozigotluk ( $h$ ), Shannon Sabiti ( $I$ ) ve polimorfik lokus ( $P$ ) oranlar, POPGENE (Microsoft Window-based Freeware for Population Genetics Analysis, Version 1.31) kullan,larak hesaplanm, t,r (YEH ve ark. 1997). POPULATIONS 1.0 program, (LANGELLA 2000) kullan,larak NEI (1972)ın genetik mesafe de erleriyle öyak,n ba lant, a açlar,ö (Neighbor-joining trees) olu turulmu tur.

### 3.2.6.1. Allel Frekanslar,

Bant yap,lar,n,n belirlenmesinin ard,ndan allel frekanslar,n,n tahmini a a ,daki formülle yap,lm, t,r:

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

Bu formüldeki

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

$N$  : popülasyondaki birey say,s,,

$N_{ii}$  ve  $N_{ij}$  : s,ras,yla  $A_{ii}$  ve  $A_{ij}$  genotiplerinin say,s,,

$m$  : bir lokustaki allel say,s,n, temsil etmektedir (NEI 1987).

### 3.2.6.2. Allel Say,s,

Genetik varyasyonun bir di er göstergesi de lokus ba ,na dü en allel say,s,d,r ( $A$ ). Allelik zenginlik olarak da an,lan bu ölçüt örnek say,s,ndan etkilenmektedir (NEI 1987).

$$\text{Ortalama}(n_a) = \frac{\sum_i n_{a_i}}{r} \quad n_{a_i} : i \text{ lokusunun allel say,s,, } r : \text{ lokus say,s,d,r}$$

### 3.2.6.3. Etkili Allel Say,s,

KIMURA ve CROW (1978) taraf,ndan geli tirilen bu ölçüt homozigotlu un tersidir (devri idir).

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

$n_e$  : etkili allel say,s,

$x_i$  :  $i$  allelinin frekans,d,r.

### 3.2.6.4. Heterozigotluk

Bir popülasyondaki genetik varyasyonun en yayg,n kullan,lan ölçütü heterozigotluktur.

Bir lokustaki beklenen heterozigotlukun ( $\hat{h}$ ) tahmininde aşağıdaki formül kullanılmaktadır:

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

$N$  : birey sayısı,

$X$  : allel frekansları (NEI 1987).

### 3.2.6.5. Polimorfik Lokus Oranı,

En yaygın allelin ( $x_i$ ) frekansı, 0.99 veya 0.95'ten fazla veya az ise o lokusa polimorfik denmektedir. Bu çalışmada 0.99 kriteri kullanılmaktadır. Polimorfik lokus oranı ( $P$ ) aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$P = \frac{n_p}{r} \quad n_p : \text{polimorfik lokus sayısı}, \quad r : \text{lokus sayısı (NEI 1987)}.$$

### 3.2.6.6. Shannon Sabiti

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

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

$H_0$  : Shannon sabiti

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

### 3.2.6.7. Genetik Çeşitliliğin Yapılandırılması,

Heterozigotluk, genetik çeşitliliğin 3 seviyede tespitinde kullanılmaktadır (NEI 1987). Bunlar:

$H_1$  = Bir bireyin alt-popülasyondaki gözlenen heterozigotluk değeri,

$H_S$  = Bir bireyin alt-popülasyondaki beklenen heterozigotluk değeri,

$H_T$  = Bir bireyin tüm popülasyonlardaki beklenen heterozigotluk değeridir.

$H_1$  aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır:

$$H_1 = \frac{\sum_{j=1}^s \hat{h}_{o_j}}{s} \quad s : \text{popülasyon sayısı}, \quad \hat{h}_{o_j} : j \text{ popülasyonundaki gözlenen heterozigotluk}.$$

$H_S$  a a ,daki formülle hesaplanmaktadır,(NEI 1987):

$$H_S = \frac{\sum_{j=1}^s \hat{h}_j}{s} \quad \hat{h}_j : j \text{ populasyonundaki beklenen heterozigotluk de eridir}$$

$H_T$  a a ,daki formülle hesaplanmaktadır, (NEI 1987):

$$H_T = 1 - \sum_i x_{ia}^2 \quad x_{ia} : i \text{ allelinin tüm populasyonlar için ortalama frekans,d,r}$$

$D_{ST}$  alt-populasyonlar aras,ndaki ortalama çe itlili in ölçütü olup alt-populasyonlar,n birbirleriyle kar ,la t,rmas,n, da kapsamaktadır.  $D_{ST}$  ile bir bireyin heterozigotlu u aras,ndaki ili ki a a ,daki ekildedir:

$$D_{ST} = H_T - H_S$$

Ayr,ca alt-populasyonlar aras,ndaki genetik farklı,la man,n boyutu  $G_{ST}$  de eriyle ölçülmektedir:

$$G_{ST} = D_{ST} / H_T$$

$G_{ST}$  populasyonlar aras, genetik farklı,la may, gösteren en kapsaml, ölçütlerden biridir. Daima 0 ile +1 aras,nda de i en pozitif de erler al,r.  $G_{ST}$  de eri 0.05 ve daha azsa populasyon içi genetik farklı,la ma ihmal edilebilir düzeydedir, ancak 0.25'den büyükse ciddi ölçüde genetik farklı,la madan söz edilebilir.

Ayr,ca, bu parametreler kullan,larak populasyonlar aras,ndaki gen ak, , ( $N_m$ ) hesaplanabilmektedir. Gen ak, ,, bir populasyon içinde veya tozla ma yapan populasyonlar aras,nda (polen saç,ımas, veya tohum göçüyle) genlerin yay,ımas,d,r. Her jenerasyonda 1 bireyin göçü genetik sürüklenmeden kaynaklanan genetik varyasyon azalması,n önleyecektir. Bu de er populasyon büyüklü ünden ba ,ms,zd,r. E er  $N_m$  de eri 1'den küçükse, populasyonlar aras,nda genetik kayma yüzünden farklı,la ma gözlenir, bu de er 0.5 veya daha dü ük oldu undaysa kritik bir de eri ifade eder (WRIGHT 1969).

### 3.2.6.8. Populasyonlar Aras, Genetik Mesafe

Genetik mesafe populasyon (ya da tür) çiftleri aras,ndaki gen farklı,l,klar,n büyüklü üdür. Bu de erler genellikle geometrik uzakl,klarla e tir, yani mesafe de erinin ö0ö olmas, farklı,l,k olmad, ,na i arettir. Benzerlik (I) ve mesafe (D) de erleri birbirine komplementerdir ( I+D = 1 ).

En s,k kullan,lan genetik mesafe de eri Nei'nin Genetik Mesafesidir (NEI 1972).

$$I = \frac{J_{xy}}{(J_x J_y)^{1/2}} \quad J_{xy} = \sum_i^m x_i y_i \quad J_x = \sum_i^m x_i^2 \quad J_y = \sum_i^m y_i^2$$

$I$  : x ve y populasyonlar,n,n genetik benzerli idir.  
 $x_i$  ve  $y_i$ ,  $i$  allelinin x ve y populasyonlar,ndaki frekanslar,d,r.

Çal, ,lan tüm lokuslar için  $J_{xy}$ ,  $J_x$  ve  $J_y$  toplan,p lokus say,s,na bölünerek tüm alleller için ortalamas, alınmaktadır. Elde edilen ortalama de erler ( $J'_{xy}$ ,  $J'_x$  ve  $J'_y$ ) genetik mesafe ( $D'$ ) ve benzerli in tahmininde kullan,lmaktadır.

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

### 3.3. Kloroplast *rps16* intron Bölgesi

Protein sentezini katalize eden ribozomlar 40S ve 80S olmak üzere iki üniteden oluşur. *rps16* geni, 40S ünitesinin bile enlerinden olan S16 isimli ribozomal proteini kodlamaktadır (NEUHAUS ve ark. 1989). Bu gen bir çok bitkide grup II intronlarla bölünmü tür (DOWNIE VE PALMER 1992). Dizi verisi bulunan türlerde bu intronun uzunluğu 707 ile 951 bazçifti arasında değişmektedir.

Kloroplast (Cp) DNA *rps16* intron bölgesinin bitki sistematiğinde kullan,labilirliği filogenetik çal, malarla gösterilmiştir (LIDEN ve ark. 1997; OXELMAN ve ark. 1997; DOWNIE VE KATZ-DOWNIE 1999; MORTON ve ark., 2003).

#### 3.3.1. Kloroplast *rps16* Primerleri

Bu çal, mada, daha önce *Caryophyllaceae* türlerinde yapılan çal, malardan seçilen iki primer kullan,lm, t,r (OXELMAN ve ark. 1997).

#### Çizelge 5. Cp DNA *rps16* bölgesi için kullan,lan primerler

Table 5. Primers used for chloroplast *rps16* region

Primer	Primer baz dizisi (5'→3')
Primer	Primer sequence
rpsF1	GTGGTAGAAAGCAACGTGCGACTT
rpsR2	TCGGGATCGAACATCAATTGCAAC



### 3.3.2. Kloroplast Genomu *rps16* Bölgesi PCR Ko ullar,

PCR tepkime kar, ,m,n,n optimizasyonu için, daha önce farklı çal, malarda kullanılan PCR artlar, (tepkime kar, ,m,) ve döngüleri kullan,larak farklı kombinasyonlar denenmiştir. Sonuç olarak kloroplast *rps16* bölgesi için kullanılan tepkime artlar, Çizelge 6'da, PCR döngüsü Çizelge 7'de verilmiştir.

**Çizelge 6. CpDNA *rps16* bölgesi için kullanılan PCR tepkime kar, ,m,**  
Table 6. Optimized PCR mixture conditions for chloroplast *rps16* region

PCR tepkime içeri i PCR Contents	Kullan,lan miktar Volume used	Son etkin miktar Final concentration
Steril Su	36 µl	
dNTP (10 mM)	0.5 µl	0.1mM
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	5 µl	2 mM
Tampon (10x)	5 µl	1x
Primer (100 µM)	2 µl	3.6 µM
TaqDNA Polimeraz (5 u/µl)	0.5 µl	2.5 u
DNA (3 ng/µl)	4	12 ng
<b>Toplam Miktar</b>	55 µl	

**Çizelge 7. CpDNA *rps16* bölgesi için kullanılan PCR döngüsü**  
Table 7. Optimized PCR cycles for chloroplast *rps16* region

S,cakl,k Temperature	Süre Duration	Döngü Say,s, No. of cycles	Tan,m Explanation
94°C	5 dk.	1	İlk sarmal bozulumu
94°C	30 sn.	30	Sarmal bozulumu
56°C	30 sn.		Birle me
72°C	45 sn.		Uzama
72°C	5 dk.	1	Son Uzama

### 3.3.3. Jellerin Yorumlanması,

Elde edilen PCR ürünleri 2 l yükleme boyası, eklenerek, % 1.7'dik agaroz jelde, 1xTAE tamponuyla, 90-100 Voltta 1 saat yürütülmü tür. Ayrıca jellerde 2-3 kuyucu a, elde edilen bantlar,n büyüklüklerini belirlemek amacıyla DNA standard, (GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus, MBI Fermentas, Litvanya) eklenmiştir. Daha sonra jeller etidyum bromid solüsyonuyla 30 dk boyanmış ve jel görüntüleme sistemiyle dijital ortama aktarılmış, t,r. Elde edilen bantlar kesilerek jelden çıkartılmış ve dizi analizine gönderilmiştir.

### 3.3.4. Veri Analizi

Elde edilen bantlar, n dizi analizleri Refgen Biyoteknoloji firmas, na yapt, r, lm, t, r. Bu dizilerin, hizalama (alignment) ve düzeltme (proofreading) i lemleri elle yap, lm, t, r. DNA dizileri MEGA-Molecular Evolutionary Genetics Analysis 3.1 Software (KUMAR ve ark. 2004) program format, na uygun ekilde haz, rlanm, ve bu programla analiz edilmi tir.

Çal, ,lan populasyonlar için populasyon içi genotipler aras, genetik mesafe de erleri MEGA-Molecular Evolutionary Genetics Analysis 3.1 Software (KUMAR ve ark. 2004) program, kullan, larak tahmin edilmi tir. ki dizi bilgisi aras, ndaki evrimsel mesafenin tahmininde nükleotid de i ikliklerinin say, s, kullan, lmaktad, r. Evrimsel mesafe de erleri, moleküler evrim çal, malar, nda ve filogenetik yap, land, rmalarda s, kl, kla kullan, lmaktad, r. Bu mesafelerin tahmininde pekçok yöntem kullan, lmaktad, r. Çal, mam, zda öp-distanceö modeli seçilmi tir (NEI ve KUMAR 2000). Bu mesafe, kar, la t, r, lan iki dizi bilgisi aras, ndaki farklı, nükleotidlerin oran, d, r. Nükleotid farklı, l, klar, n, n, kar, la t, r, lan toplam nükleotid say, s, na bölünmesiyle elde edilir.

Minimum farklı, la ma a ac, (Minimum Spanning Tree), Arlequin Software Version 2000 (SCHNEIDER ve ark. 2000) kullan, larak olu turulmu tur. Bu a ac, n olu turulmas, nda, öp-distanceölerden olu turulan tüm haplotip çiftleri kullan, lan matrixten yararlan, lmaktad, r.

### 3.4. Çekirdek Ribozomal DNA ITS Bölgesi

Ribozomal DNA (rDNA), ribozomun RNA parças, n, kodlar. rDNA ökaryotlarda çekirdekte yer alan kopyalar, pe pe e dizili çoklu bir gen ailesidir ( ekil 2). Tekrarlanan her bir bölge 18S, 5.8S ve 28S rRNA genlerini içermektedir. Bu genler ITS1 ve ITS2 (Internal Transcribed Spacer), ETS (External Transcribed Spacer) ve IGS (Intergenic Spacer) isimli bölgelerle birbirinden ayr, lm, t, r. Yüksek frekanslı, mutasyonlar gösteren ITS bölgesi cinsler içindeki türler aras, nda ya da populasyonlar aras, nda farklı, l, klar göstermektedir (WHITE ve ark. 1990; MUIR ve SCHLOTTERER 1999).



ekil 2. Çekirdek ribozomal DNA ITS bölgesi  
Figure 2. Nuclear ribosomal DNA ITS region

### 3.4.1. ITS Primerleri

Bu çal, mada, daha önce NICKRENT ve ark. (1994) taraf,ndan kullan,lan primerler seçilmi tir.

**Çizelge 8. ITS Bölgesi için kullan,lan primerler**

Table 8. Primers used for amplification of ITS region

Primer Primer	Primer baz dizisi (5'3') Primer sequence
18s 1830 F	AACAAGGTTTCCGTAGGTGA
26s 25 R	TATGCTTAAAYTCAGCGGGT

### 3.4.2. ITS Bölgesi PCR Ko ullar,

Daha önce farklı çal, malarda kullan,lan tepkime kar, m, ve döngüleri kullan,larak farklı kombinasyonlar denenmi tir. Sonuç olarak kullan,lan tepkime artlar, Çizelge 9'da, PCR döngüsü Çizelge 10'da verilmi tir.

**Çizelge 9. ITS bölgesi için kullan,lan PCR tepkime kar, m,**

Table 9. Optimized PCR mixture conditions for ITS region

PCR Tepkime içeriği PCR contents	Kullan,lan Miktar Volume used	Son etkin miktar Final concentration
Steril Su	25.4 µl	
dNTP (10 mM)	6.6 µl	0.1mM
MgCl <sub>2</sub> (25mM)	4.4 µl	2 mM
Tampon (10x)	5.5 µl	1x
Primer (100 µM)	4.4 µl	1.25 µM
TaqDNA Polimeraz (5 u/µl)	0.2 µl	1.25 u
DNA (3 ng/µl)	4.4	13.2 ng
<b>Toplam Miktar</b>	55 µl	

**Çizelge 10. ITS bölgesi için kullan,lan PCR döngüsü**

Table 10. Optimized PCR cycles for ITS region

S,cakl,k Temperature	Süre Duration	Döngü Say,s, No. of cycles	Tan,m Explanation
95°C	5 dk.	1	İk sarmal bozulumu
94°C	30 sn.	30	Sarmal bozulumu
55°C	30 sn.		Birle me
72°C	50 sn.		Uzama
72°C	5 dk.	1	Son Uzama

### **3.4.3. Jellerin Yorumlanması,**

Elde edilen PCR ürünleri 2 l yükleme boyası, eklenerek, % 1.7lik agaroz jelde, 1xTAE tamponuyla, 90-100 Voltta 1 saat yürütülmü tür. Ayrıca jellerde 2-3 kuyucu a, elde edilen bantların büyüklüklerini belirlemek amacıyla DNA standardı, (GeneRuler™ 100bp DNA Ladder Plus, MBI Fermentas, Litvanya) eklenmiştir. Daha sonra jeller etidyum bromid solüsyonuyla 30 dk boyanmış ve jel görüntüleme sistemiyle dijital ortama aktarılmış, t.r. Elde edilen bantlar jelden kesilerek ç, kartı, lm, ve dizi analizine gönderilmiştir.

### **3.4.4. Veri Analizi**

Dizi analizleri Refgen Biyoteknoloji firmasına yaptırılmış, t.r. Elde edilen dizilerin hizalama (alignment) ve düzeltme (proofreading) işlemleri elle yapılmış, t.r. DNA dizileri MEGA-Molecular Evolutionary Genetics Analysis 3.1 Software (KUMAR ve ark. 2004) program formatına uygun şekilde hazırlanmış ve bu programla analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlarla Yakın Bağlantı Ağacı, (Neighbor Joining Tree) çizilmiştir.

#### 4. BULGULAR ve TARTI MA

##### 4.1. Populasyonlar,n Genetik Yap,s,

Çal ,lan 10 primerde 119 polimorfik RAPD bant, gözlenmi tir. Ancak baz, bantlar her populasyonda gözlenmedi i ve frekanslar, çok dü ük (<10 %) oldu u için de erlendirme d , , b,rak,lm, t,r. Be lokus tüm populasyonlarda monomorfiktir; di er lokuslar 18 populasyonun en az birinde polimorfiktir. Sonuç olarak, analizler 75 polimorfik bantla gerçeikle tirilmi tir. Belirli bir populasyona özgü(n) bir allele rastlanmam, t,r. Primerler taraf,ndan üretilen polimorfik bant say,s, Çizelge 11'de gösterilmi tir. Görülen bant say,s, 3 (UBC6652) ile 10 (UBC6514 ve UBC6138) aras,nda de i mi tir (Çizelge 11).

##### Çizelge 11. RAPD primerlerinin üretti i polimorfik bant say,s,

Table 11. RAPD primersøpolymorphic band numbers

Primer Primer	Polimorfik Bant Say,s, Number of polymorphic bands
UBC-514	10
UBC-694	5
UBC-692	6
UBC-652	3
UBC-121	7
UBC-138	10
UBC-162	8
UBC-165	9
UBC-187	8
UBC-190	9
<b>Toplam</b>	<b>75</b>

##### 4.2. Genetik Çe itlilik

Populasyonlar,n genetik çe itlili ini belirlemede; gözlenen allel say,s,, etkili allel say,s,, beklenen ve gözlenen heterozigotluk, Shannon sabiti ve polimorfik lokus oran, kullan,lm, t,r (Çizelge 12).

##### 4.2.1. Allelik Zenginlik

Genetik çe itlili in bile enlerinden biri olan ortalama allel say,s, ( $N_a$ ), bütün populasyonlar ve lokuslar için  $1.45 \pm 0.05$ , etkili allel say,s, ( $N_e$ ) ise  $1.30 \pm 0.04$  aras,nda görülmü tür (Çizelge 12).

Buna göre, en yüksek allel say,lar, Ayd,n-Umurlu ( $1.60 \pm 0.05$ ), Mu la-K,z,lyaka ( $1.60 \pm 0.05$ ) ve Köyce iz-Köyce iz ( $1.57 \pm 0.05$ ) populasyonlar,nda

**Çizelge 12. S, la için 10 RAPD primeriyle hesaplanan genetik çe itlilik de erleri**

Table 12. Genetic diversity parameters estimated for seet gum populations by RAPD markers

<b>Populasyon Population</b>	<b>Na</b>	<b>Ne</b>	<b>h</b>	<b>I</b>	<b>P(%)</b>
Ac,payam-Bozda (BOZD)	1.43±.05	1.28±.04	0.16±.02	0.22±.03	43
Bucak-Pamucak (PAMC)	1.44±.05	1.28±.04	0.16±.02	0.23±.03	44
Köyce iz- Köyce iz (KOYC)	1.57±.05	1.39±.04	0.22±.02	0.3±.03	52
Marmaris-Günnücek (GUNN)	1.40±.05	1.25±.04	0.14±.02	0.20±.03	40
Fethiye-Günlükba , (GUNL)	1.44±.05	1.30±.04	0.17±.02	0.23±.03	44
Marmaris-De irmenyan, (DEGM)	1.45±.05	1.34±.04	0.19±.02	0.25±.03	45
Ayd,n-Umurlu (UMUR)	1.60±.04	1.36±.04	0.21±.02	0.29±.03	60
Mu la-Y,lanl, (YILN)	1.51±.05	1.31±.04	0.18±.02	0.25±.03	47
Mu la-K,z,lyaka (KIZY)	1.60±.05	1.39±.04	0.22±.02	0.30±.03	55
Antalya-Serik (SERK)	1.43±.05	1.31±.04	0.17±.02	0.23±.03	43
Mu la-K,yra (KIYR)	1.48±.05	1.32±.04	0.18±.02	0.25±.03	48
Marmaris-Günnücek (GUNC)	1.49±.05	1.33±.04	0.19±.02	0.26±.03	49
Köyce iz- Köyce iz (KOTB)	1.44±.05	1.28±.04	0.16±.02	0.22±.03	44
Ac,payam-Alc, (ALCI)	1.24±.05	1.16±.03	0.09±.02	0.12±.02	24
Marmaris-Çetibeli (CETB)	1.53±.05	1.36±.04	0.20±.02	0.28±.03	53
Marmaris-Hisarönü (HISR)	1.35±.05	1.22±.03	0.13±.02	0.18±.02	32
Burdur-Sö ütda (SOGT)	1.37±.05	1.26±.04	0.14±.02	0.19±.03	37
Mu la-Yata an (YATN)	1.48±.05	1.29±.03	0.17±.02	0.24±.03	48
<b>ORTALAMA</b>	<b>1.45±.05</b>	<b>1.30±.04</b>	<b>0.17±.02</b>	<b>0.24±.03</b>	<b>45</b>

gözlenmi tir. En dü ük allel say,s, ise  $1.24\pm 0.05$  de eriyle Ac,payam-Alc, populasyonunda gözlenmi tir.

En yüksek etkili allel say,s,  $1.39\pm 0.04$  de eriyle Köyce iz-Köyce iz ve Mu la-K,z,lyaka populasyonlar,nda, en dü ük etkili allel say,s, ise  $1.16\pm 0.03$  de eriyle Ac,payam-Alc, populasyonunda gözlenmi tir.

S, la için hesaplanan ortalama allel say,s, ve etkili allel say,s, de erleri, di er yaprakl, türlere göre dü üktür. HUANG ve ark. (1998) Amerikan kestanesinde RAPD belirteçleri kullanarak yapt,klar, çal, mada allel say,s,n, 1.8, etkili allel say,s,n, 1.57 olarak belirlemi lerdir.

#### **4.2.2. Heterozigotluk**

Genetik çe itlili in önemli bile enlerinden biri olan heterozigotluk de eri  $0.09\pm 0.05$  (Ac,payam-Alc,) ile  $0.22\pm 0.02$  (Köyce iz-Köyce iz ve Mu la-K,z,lyaka) de erleri aras,ndadır (Çizelge 12).

S, la için hesaplanan heterozigotluk de eri, di er yaprakl, türlere göre daha dü ük bulunmu tur. HUANG ve ark. (1998) Amerikan kestanesinin genetik çe itlili ini RAPD belirteçleri kullanarak belirledikleri çal, mada, beklenen heterozigotlu u 0.36 olarak tahmin etmi lerdir. Benzer ekilde, YEH ve ark. (1995) titrek kavakta ayn, de eri 0.65 olarak tahmin etmi lerdir.

Anadolu Pleistosen döneminde pek çok ibrelil tür için bir s, ,nak oldu undan, ibreliler yüksek genetik çe itlilik göstermektedir (LEDIG 1998). Yaprakl, a aç türleri son buzul döneminden sonra Anadolu üzerinden bat,ya do ru göç etmesi nedeniyle, oldukça farklı bir seyir izlemi lerdir (BRICE 1978). Bu nedenle de çe itlilik kayb,na u rad,klar, belirtilmektedir (LEDIG 1998). Ayr,ca s, la populasyonlar, birbirinden kopuk, yani parçalanm, ve dar alanda yay,l, göstermektedir. Bir kaç generasyon boyunca küçük kalan populasyonlarda genetik kayma, fiksasyona neden olabilmektedir (LEDIG 1998). Bu durumda, baz, alleller kaybolurken, di er alleller hakim olur.

#### **4.2.3. Polimorfik Lokus Oran,**

Çal, ,lan 18 s, la populasyonunda polimorfik lokus oranlar, % 24-60 aras,nda de i mektedir (Çizelge 12). En yüksek oran % 60'da Ayd,n-Umurlu populasyonunda, en dü ük oransa % 24'de Ac,payam-Alc, populasyonunda gözlenmi tir.

Bu çal, mada hesaplanan oranlar di er yaprakl, a aç türlerine göre oldukça dü üktür. HUANG ve ark. (1998) Amerikan kestanesinde RAPD belirteçleri kullanarak yapt,klar, çal, mada polimorfik lokus oran,n, % 79,2 olarak tespit etmi lerdir. YEH ve ark. (1995), titrek kavakta polimorfik lokus oran,n, % 90 olarak tespit etmi lerdir.

#### 4.2.4. Shannon Sabiti

Shannon sabiti, çal, ,lan s, la populasyonlar, için 0.12 (Ac,payam-Alc.) ile 0.30 (Ayd,n-Umurlu ve Köyce iz- Köyce iz) aras,nda de erler alm, t,r (Çizelge 12). S, la için hesaplanan bu de erler de di er yaprakl, türlere oranla dü üktür.

YEH ve ark. (1995), titrek kavakta yapt,klar, RAPD çal, mas,nda Shannon sabitini ortalama 0.65 olarak tahmin etmi lerdir. GILLIES ve ark. (1999), mahonyada Shannon sabitini 0.27-0.41 aras,nda gözlemi lerdir.

#### 4.2.5. Genetik Çe itlili in Yap,lanmas,

RAPD belirteçleriyle heterozigotluk de erleri her bir lokus için oldu u gibi ortalama olarak da hesaplanarak, genetik çe itlili in yap,lanmas, belirlenmi tir (Çizelge 13, 14). Bu sonuçlara göre, populasyon içi genetik çe itlilik % 16 olarak hesaplanm, t,r. Toplam genetik çe itlilik yani  $H_T$  de eri % 35 olarak tahmin edilmi tir.

Populasyonlar aras, genetik farklıla may, gösteren  $G_{ST}$  de eri 0.54'dür.  $G_{ST}$  de eri 0-1 aras,nda de erler almakta olup, bu de erin 0.25'den büyük olmas, populasyonlar aras,nda çok büyük oranda farklıla ma oldu una i arettir. Anadolu s, la populasyonlar, için hesaplanan  $G_{ST}$  de eri de bu de erin oldukça üstündedir.

Bu de er di er yaprakl, türlerle kar ,la t,r,ld, ,nda oldukça farklı,d,r. Pek çok türde RAPD belirteçleriyle yap,lan çal, malar sonucunda genetik farklıla man,n büyük k,sm,n,n populasyon içinde oldu u görülmü tür. KANASHIRO ve ark. (1997) çn,n *Bertholletia excelsa* (Brezilya f,nd, ) türünde yapt,klar, çal, mada, genetik farklıla man,n % 68,7'sinin populasyon içinde, % 31,3'ünü ise populasyonlar aras,nda oldu u bulunmu tur. Benzer sonuçlar, *Eucalyptus globulus* (NESBITT ve ark. 1995), *Camelia sinensis* (WACHIRA ve ark. 1995) ve *Grevillia scapigero* (ROSETTO ve ark. 1995) türlerinde de gözlenmi tir. Ancak YEH ve ark. (1995), titrek kavakta genetik çe itlili in % 97,4'ünü populasyon içinde tesbit etmi lerdir.



**Çizelge 13. RAPD belirteçleriyle herbir lokus için hesaplanan gen çeşitliliği, genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri**

Table 13. Gene diversity, population differentiation and gene flow estimates for each loci

Lokus Loci	Ht	Hs	Gst	Nm	Lokus Loci	Ht	Hs	Gst	Nm
P514-1	0.49	0.17	0.65	0.27	P121-1	0.26	0.02	0.93	0.04
P514-2	0.50	0.13	0.74	0.17	P121-2	0.30	0.05	0.84	0.10
P514-3	0.20	0.15	0.27	1.38	P121-3	0.43	0.03	0.92	0.04
P514-4	0.21	0.05	0.74	0.18	P121-4	0.01	0.01	0.05	10.23
P514-5	0.44	0.16	0.64	0.29	P121-5	0.28	0.03	0.88	0.07
P514-6	0.47	0.19	0.61	0.32	P121-6	0.16	0.02	0.85	0.09
P514-7	0.23	0.15	0.37	0.87	P121-7	0.37	0.04	0.90	0.05
P514-8	0.21	0.18	0.18	2.25	<b>ORT.</b>	<b>0.26</b>	<b>0.03</b>	<b>0.77</b>	<b>1.51</b>
P514-9	0.22	0.16	0.26	1.44	P165-1	0.39	0.02	0.94	0.03
P514-10	0.42	0.32	0.23	1.65	P165-2	0.40	0.05	0.87	0.08
<b>ORT.</b>	<b>0.34</b>	<b>0.17</b>	<b>0.47</b>	<b>0.78</b>	P165-3	0.43	0.02	0.95	0.03
P694-1	0.13	0.07	0.43	0.66	P165-4	0.29	0.07	0.75	0.17
P694-2	0.40	0.11	0.72	0.19	P165-5	0.33	0.02	0.95	0.03
P694-3	0.32	0.24	0.24	1.56	P165-6	0.10	0.00	1.00	0.00
P694-4	0.32	0.18	0.43	0.67	P165-7	0.46	0.32	0.30	1.15
P694-5	0.49	0.16	0.68	0.24	P165-8	0.46	0.16	0.65	0.26
<b>ORT.</b>	<b>0.33</b>	<b>0.15</b>	<b>0.50</b>	<b>0.66</b>	P165-9	0.46	0.07	0.85	0.09
P692-1	0.50	0.18	0.65	0.27	<b>ORT.</b>	<b>0.36</b>	<b>0.08</b>	<b>0.81</b>	<b>0.20</b>
P692-2	0.24	0.14	0.42	0.70	P187-1	0.24	0.03	0.88	0.07
P692-3	0.44	0.26	0.41	0.72	P187-2	0.44	0.11	0.75	0.16
P692-4	0.30	0.21	0.30	1.18	P187-3	0.24	0.03	0.88	0.07
P692-5	0.32	0.23	0.30	1.18	P187-4	0.46	0.27	0.40	0.74
P692-6	0.48	0.40	0.18	2.34	P187-5	0.32	0.16	0.50	0.50
<b>ORT.</b>	<b>0.38</b>	<b>0.24</b>	<b>0.38</b>	<b>1.07</b>	P187-6	0.05	0.04	0.32	1.06
P162-1	0.46	0.14	0.69	0.22	P187-7	0.34	0.24	0.29	1.22
P162-2	0.50	0.10	0.80	0.12	P187-8	0.46	0.24	0.48	0.53
P162-3	0.36	0.14	0.60	0.34	<b>ORT.</b>	<b>0.26</b>	<b>0.14</b>	<b>0.56</b>	<b>0.42</b>
P162-4	0.40	0.11	0.72	0.20	P652-1	0.32	0.16	0.50	0.50
P162-5	0.39	0.15	0.63	0.30	P652-2	0.29	0.07	0.75	0.17
P162-6	0.45	0.06	0.86	0.08	P652-3	0.44	0.11	0.75	0.16
P162-7	0.49	0.27	0.44	0.64	<b>ORT.</b>	<b>0.35</b>	<b>0.11</b>	<b>0.67</b>	<b>0.28</b>
P162-8	0.39	0.17	0.57	0.38	P190-1	0.42	0.24	0.43	0.68

Lokus Loci	Ht	Hs	Gst	Nm	Lokus Loci	Ht	Hs	Gst	Nm
<b>ORT.</b>	<b>0.44</b>	<b>0.19</b>	<b>0.77</b>	<b>0.29</b>	P190-2	0.46	0.32	0.32	1.07
P138-1	0.48	0.33	0.32	1.07	P190-3	0.50	0.35	0.29	1.20
P138-2	0.32	0.23	0.28	1.31	P190-4	0.49	0.36	0.27	1.34
P138-3	0.38	0.24	0.38	0.83	P190-5	0.50	0.39	0.21	1.88
P138-4	0.48	0.30	0.38	0.82	P190-6	0.14	0.11	0.26	1.45
P138-5	0.18	0.11	0.36	0.89	P190-7	0.25	0.19	0.25	1.52
P138-6	0.42	0.20	0.52	0.46	P190-8	0.40	0.27	0.33	1.03
P138-7	0.46	0.26	0.45	0.62	P190-9	0.31	0.19	0.38	0.83
P138-8	0.32	0.21	0.34	0.98	<b>ORT.</b>	<b>0.37</b>	<b>0.27</b>	<b>0.29</b>	<b>1.26</b>
P138-9	0.47	0.34	0.27	1.33					
P138-10	0.13	0.12	0.14	3.02					
<b>ORT.</b>	<b>0.37</b>	<b>0.22</b>	<b>0.34</b>	<b>1.26</b>					

Bir populasyonu oluşturan alt-populasyonlarda genetik çeşitliliğin miktarı farklı olabilir. Yani mikro habitat farklılıkları yarattığı, seleksiyon baskıncu, genetik çeşitliliğin dağılımını etkileyebilir. Bu çalışmada hesaplanan  $H_T$ ,  $H_S$  ve  $G_{ST}$  değerleri tüm lokuslar için farklıdır (Çizelge 13). Bu durum, tüm populasyondaki lokusların çevresel faktörlerdeki değişimlerden baskıncu olarak etkilendiğini göstermektedir. Lokus başına düşen  $G_{ST}$  değerinin büyüklüğü, o lokusun populasyonlar arasındaki farklılığı göstermektedir. Çizelge 13 incelendiğinde, populasyonlar arasındaki farklılığa en büyük etkiyi P16566 (1.0), P16563 (0.95), P16565 (0.95) lokusları yapmıştır, görülmektedir.

**Çizelge 14. RAPD belirteçleriyle hesaplanan genetik çeşitlilik, genetik farklılık ve gen akışı değerleri**

Table 14. Gene diversity, population differentiation and gene flow estimates for studied sweet gum populations by RAPD markers

$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$N_m$
0.35±0.001	0.16±0.001	0.54	0.42

Bu çalışmada örneklenen populasyonlar için hesaplanan ortalama genetik farklılık değeri ( $N_m$ ) 0.42'dir (Çizelge 14). LED G (1998), değeri için çalışmaları malara atılarak bulunarak,  $N_m$  değerini kuzey için 4.8, güney için 5.3, kestane için 3.5, Avrupa kayınları için 3.9 olarak bildirmektedir. Söz konusu çalışmada hesaplanan bu değerler, kritik değerin altında olduğundan  $N_m$  değeri 1'den küçükse, populasyonlar arasında genetik kayma yüzünden farklılıkların bu değerler

0.5 veya daha düşük oldu unda, kayman, n bir sonucu olarak farklılaşma kritik bir durum alır (WRIGHT 1969). Parçalanmalar sonucunda gen ak, n, n azalması, ve dolayısıyla önceleri birbirleriyle ilişkili olan izole grupların etkili bir popülasyon büyüklüğüne yitirmesi durumunda, orman parçaları, n, n varlığı, tehlikeye girer (LEDIG 1998).

Popülasyonların parçalanması, veya birbirinden kopması, gen ak, n, s, n, rlayarak akrabalar-arası, döllenmeyi teşvik eder. Bitkiler içerisinde uzun ömürlü aç türleri bu duruma en az adapte olabilen türlerdir (LEDIG 1998). Akrabalar-arası, döllenme yapan gruplar arasında, kendinden-başka bireylerle döllenme yapan popülasyonlar arasında olduğu undan daha büyük farklılaşma beklenir. Akrabalar-arası, döllenmede, özellikle kendi-kendine döllenmede çekim allelleri hızla seleksiyona uğrayarak, heterozigotlar homozigot duruma gelirler (SORENSEN 1969; FRANKLIN 1972). Anadolu s, las, popülasyonları, n, n alan olarak küçük ve birbirinden kopuk olmaları, çoğu popülasyonun dere içi vejetasyon eklinde kalması, nedeniyle,  $N_m$  de erinin kritik e i in altında gözlenmiştir. Heterozigotlukun düşük olduğu,  $G_{ST}$  de erinin 0.54 olması, ve popülasyonların birbirinden kopukluğu, akrabalar-arası, döllenme olduğu varsayımı, n, güçlendirmektedir. Bu sonuçta göre, s, la popülasyonları, n, n genetik kayma yüzünden, birbirlerinden ciddi ölçüde farklılaşması, beklenmektedir.

#### 4.2.6. Popülasyonlar Arası, Genetik Mesafe

Çizelge 15'de Neimin popülasyonları arasındaki genetik mesafe ve genetik benzerlik değerleri verilmektedir. Popülasyonları arasındaki genetik ilişki NEI (1972) standart genetik mesafeleriyle Neighbor-joining yöntemiyle oluşturulan dendrogramda da gözlenmektedir (ekil 3). Dendrogramda her bir ayrılmada bulunan sayı, yüzde olarak güvenilirlik değerlerini belirtmektedir.

Genetik benzerlik değerlerine bakıldığında, birbirine en yakın popülasyonlar Mu la-Y, lanlı ve Mu la-K, z, lyaka'dır (0.9312) (Çizelge 15, ekil 3). Yine 0.903 de eri ile Ac, payam-Bozda ve Köyce iz-Köyce iz yüksek genetik benzerlik değerine sahip popülasyonlardır (Çizelge 15, ekil 3). En yüksek genetik mesafe de eri Mu la-Y, lanlı ve Ac, payam-Alc, popülasyonları, arasındadır.

Dendrograma ( ekil 3) bakıldığında, popülasyonları üç ana kola ayrılmış, görülmüştür. Fethiye-Günlükbaşı, n, di er popülasyonlardan ayrılmış, gözlenmektedir. Üçüncü kolu ise Marmaris-De irmenyan, ve Marmaris-Çetibeli popülasyonları, oluşturmaktadır. Di er 15 popülasyonun oluşturduğu ikinci kol kendi içinde iki ana gruba ayrılmıştır.

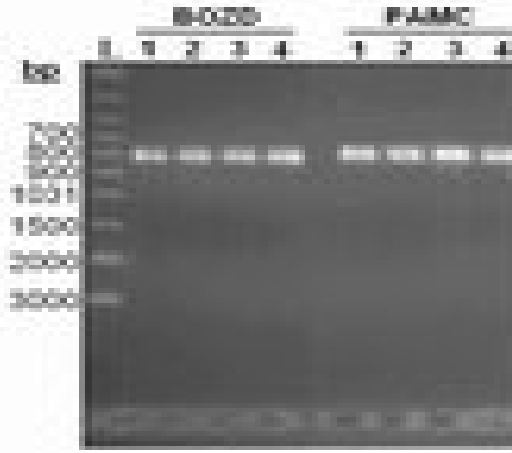


**Çizelge 15. Neimin genetik benzerlik (üst diyagonal) ve genetik mesafe de erleri (alt diyagonal)**  
**Table 15. Neim genetic identity (upper diagonal) and genetic distance measures**

pop	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	****	0.7380	0.7838	0.7535	0.7529	0.7488	0.7021	0.7831	0.8136	0.7779	0.7991	0.7988	0.9030	0.6413	0.7118	0.6878	0.7174	0.7123
2	0.3038	****	0.8054	0.8267	0.8098	0.7439	0.7463	0.7878	0.7745	0.7559	0.8755	0.8213	0.7450	0.7484	0.7841	0.6841	0.7097	0.7985
3	0.2436	0.2164	****	0.7880	0.8010	0.7995	0.8141	0.8743	0.9214	0.7706	0.7897	0.8308	0.7710	0.6632	0.7785	0.7995	0.7997	0.8074
4	0.2830	0.1903	0.2382	****	0.8988	0.8046	0.7768	0.7298	0.7830	0.7791	0.8016	0.8151	0.7492	0.8228	0.8432	0.7766	0.7685	0.7890
5	0.2838	0.2110	0.2218	0.1067	****	0.8047	0.7592	0.7818	0.8191	0.7322	0.8240	0.7819	0.7923	0.7392	0.8415	0.7389	0.7529	0.7696
6	0.2893	0.2959	0.2238	0.2174	0.2173	****	0.7775	0.7717	0.7909	0.7064	0.8050	0.7666	0.7499	0.7082	0.9244	0.7117	0.7807	0.7895
7	0.3537	0.2926	0.2056	0.2526	0.2754	0.2517	****	0.7348	0.7696	0.7193	0.8012	0.7404	0.6939	0.7761	0.7752	0.6834	0.8643	0.8750
8	0.2445	0.2385	0.1343	0.3149	0.2462	0.2592	0.3082	****	0.9312	0.7277	0.8153	0.7516	0.7473	0.6039	0.7802	0.7277	0.7070	0.7557
9	0.2063	0.2555	0.0819	0.2446	0.1996	0.2346	0.2619	0.0713	****	0.7553	0.7908	0.7798	0.7861	0.6146	0.7615	0.7724	0.7473	0.8065
10	0.2512	0.2798	0.2606	0.2496	0.3117	0.3476	0.3294	0.3179	0.2806	****	0.7156	0.8979	0.7959	0.7882	0.7398	0.8302	0.7109	0.7551
11	0.2242	0.1330	0.2361	0.2211	0.1935	0.2169	0.2217	0.2042	0.2347	0.3347	****	0.7739	0.7939	0.7341	0.8043	0.6788	0.7860	0.8506
12	0.2247	0.1968	0.1853	0.2045	0.2460	0.2658	0.3006	0.2855	0.2487	0.1077	0.2564	****	0.8151	0.7545	0.7901	0.8067	0.7393	0.7663
13	0.1021	0.2943	0.2600	0.2887	0.2328	0.2878	0.3654	0.2912	0.2407	0.2283	0.2308	0.2045	****	0.6680	0.7488	0.7462	0.7099	0.6967
14	0.4442	0.2898	0.4107	0.1951	0.3022	0.3450	0.2534	0.5044	0.4867	0.2380	0.3091	0.2817	0.4034	****	0.7815	0.7391	0.7046	0.7328
15	0.3400	0.2432	0.2504	0.1706	0.1726	0.0787	0.2546	0.2483	0.2725	0.3014	0.2178	0.2356	0.2893	0.2465	****	0.7641	0.7497	0.7896
16	0.3743	0.3796	0.2238	0.2528	0.3025	0.3401	0.3806	0.3178	0.2583	0.1860	0.3875	0.2148	0.2927	0.3023	0.2690	****	0.6744	0.7069
17	0.3321	0.3429	0.2236	0.2633	0.2838	0.2475	0.1458	0.3467	0.2913	0.3412	0.2408	0.3021	0.3427	0.3501	0.2881	0.3940	****	0.8823
18	0.3392	0.2250	0.2139	0.2370	0.2619	0.2363	0.1336	0.2802	0.2150	0.2810	0.1618	0.2662	0.3613	0.3108	0.2363	0.3469	0.1252	****

#### 4.3. Kloroplast *rps16* Bölgesi

S, la kloroplast *rps16* bölgesinin genetik yap,lanmas, 18 populyasyondan 4er bireyin DNA dizi analizleriyle belirlenmi tir. ekil 4de Pamucak ve Bozda populyasyonlar,nda bu bölgenin bant yap,lar, görölmektedir. Elde edilen verilerle populyasyon içi genetik mesafe (p-distance) de erleri hesaplanm, , minimum farkl,la ma a ac, çizilmi tir (Çizelge 15, ekil 5).



ekil 4. Bozda ve Pamucak Populyasyonlar,nda CpDNA *rps16* Bölgesi Bantlar, (L: DNA Standard,)

Figure 4. Bands obtained for Chloroplast *rps16* region for Bozda and Pamucak Populations (L:DNA Ladder)

##### 4.3.1. Populyasyon içi Genetik Mesafe (p-distance)

Ayn, populyasyona ait bireyler (genotipler) aras,ndaki dizi farkl,klar,n, ortaya koyan öp-distanceö de erleri çal, lan 18 s, la populyasyonunda 0 ile 0.0065 aras,nda de i mektedir (Çizelge 16). Çal, lan dokuz populyasyonda genotipler aras, genetik mesafe ööö olarak tesbit edilmi tir. Mu la-Yata an populyasyonu 0.0065 de eriyle, bireyler aras,nda en fazla farkl,la sahip populyasyondur.

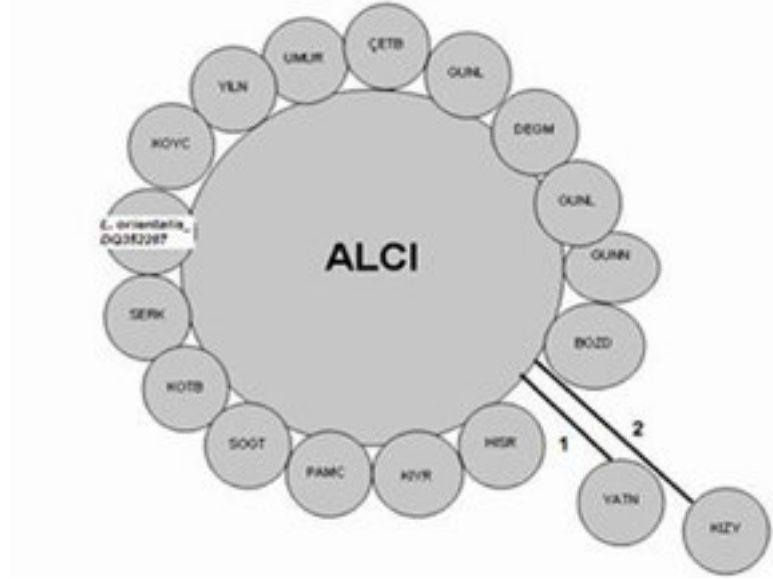
**Çizelge 16. *rps16* primerleriyle hesaplanan genetik mesafe değerleri**  
 Table 16. Genetic distance values estimated by *rps16* primers

Populasyon Ad, Population	Genotipler Aras, Genetik Mesafe ( $\pm$ standart hata) p-distance ( $\pm$ standard error)
Ac,payam-Alc,	0.0033 ( $\pm$ 0.0019)
Marmaris-Çetibeli	0.0008 ( $\pm$ 0.0008)
Marmaris-De ırmenyan,	0.0041 ( $\pm$ 0.0017)
Fethiye-Günlükba ,	0.0000 ( $\pm$ 0.0000)
Mu la-K,z,lkaya	0.0035 ( $\pm$ 0.0017)
Marmaris-Günnücek	0.0000 ( $\pm$ 0.0000)
Marmaris-Günnücek	0.0033 ( $\pm$ 0.0015)
Ac,payam-Bozda	0.0000 ( $\pm$ 0.0000)
Marmaris-Hisarönü	0.0000 ( $\pm$ 0.0000)
Mu la-K,yra	0.0000 ( $\pm$ 0.0000)
Köyce iz-Köyce iz	0.0025 ( $\pm$ 0.0014)
Göhlhisar-Pamucak	0.0000 ( $\pm$ 0.0000)
Antalya-Serik	0.0000 ( $\pm$ 0.0000)
Burdur-Sö ütda	0.0008 ( $\pm$ 0.0008)
Köyce iz-Köyce iz	0.0000 ( $\pm$ 0.0000)
Ayd,n-Umurlu	0.0008 ( $\pm$ 0.0008)
Mu la-Yata an	0.0065 ( $\pm$ 0.0023)
Mu la-Y,lanl,	0.0000 ( $\pm$ 0.0000)

#### 4.3.2. Minimum Farklı,la ma A ac,

Minimum farklı,la ma a ac, 18 populasyona ait dizi bilgisi kullanılarak oluşturulmuştur ( ekil 5). Bu amaçla oluşturulurken, çalınan 18 populasyondan, d, nda ayrıca NCBI'nin (National Center for Biotechnology Information) GenBank web sitesinden (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/index.html>) alınan bir *L. orientalis* örneğine ait dizi bilgisi de karşılaştırma yapmak amacıyla kullanılmıştır.

Oluşturulan amaçta GenBank'tan alınan populasyon, çalınan mada kullanılarak 18 populasyonla birlikte yer almıştır. Yalnızca Mu la-Yata an ve Mu la-K,z,lyaka populasyonlar, 1-2 baz farklı,la sahiptir.



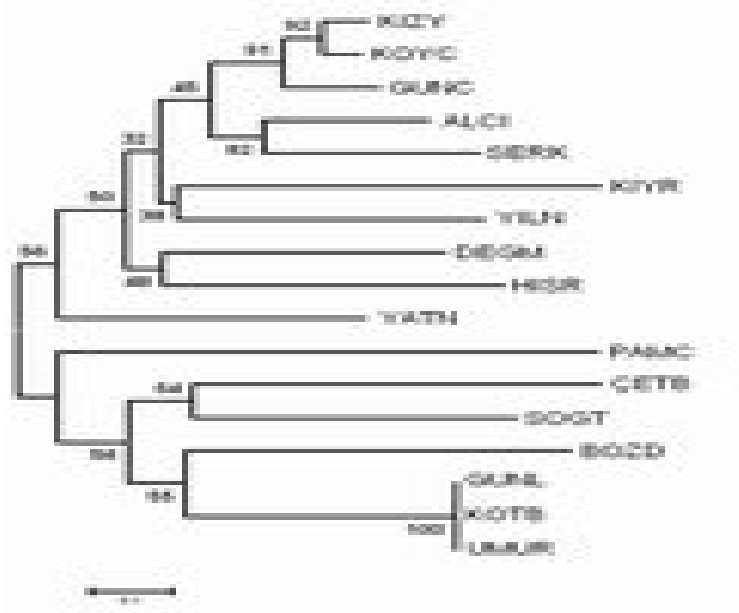
ekil 5. CpDNA *rps16* bölgesi verileriyle oluşturulan minimum farklılaşma ağacı, (Çizgilerin üzerinde bulunan rakamlar, populasyonlar arasındaki baz de i ikliklerini; dairelerin içindeki rakamlar populasyon numaraları, n göstermektedir.)

Figure 5. Minimum Spanning Tree Constructed By Chloroplast *rps16* Region Data (Numbers on the lines refer to number of base substitution, numbers in the circles refer to population numbers)

#### 4.4. Çekirdek Ribozomal DNA ITS Bölgesi

Elde edilen dizi bilgileriyle yakınlık analizi yapılmıştır. Oluşturulan ağaçta 2 ana grup gözlemlenmiştir. Birinci grup, kendi içinde tekrar kollara ayrılmış ve bu kollardan oluşan bir grup % 91 ve % 92 güvenilirlik payıyla 3 populasyonu (Köyce iz-Köyce iz, Mu la-K,z,lyaka, Marmaris-Günnücek) kapsamaktadır. Bu gruba bağlı olarak bir grupta % 82 güvenilirlik payıyla 2 populasyonu (Ac,payam-Alc., Antalya-Serik) kapsamaktadır. Diğer gruplarla olan güvenilirlik payları daha azdır. İkinci ana kol içinde oluşan bir grupla mada da % 100 güvenilirlik payıyla (Köyce iz-Köyce iz (TB), Fethiye-Günlükba ) ve Aydın-Umurlu populasyonu görülmüştür.





**ekil 6. Çekirdek ribozomal DNA ITS bölgesi verileriyle olu turulan yak,n ba lant, a ac,**  
 Figure 6. Neighbor joining tree constructed by nuclear ribozomal DNA ITS region data

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ülkemizdeki Anadolu s, las, populasyonlarında bulunan genetik çe itlili in miktar ve yap,lanmas, ara t,r,lm, t,r. Elde edilen sonuçlar de erlendirilerek, Anadolu s, las, için koruma stratejileri önerilmiştir. D R K (1994), ormanc,l,кта kullanabilmenin temel ko ullar,ndan biri olan koruman,n; bir yandan yasal ve yönetsel önlemlerin al,nmas,n,, di er yandan da teknik çal, malar,n ekolojik ve biyolojik ilkelerle uyumlu olmas,n,, bu ilkelerin temel dayanaklar,ndan birinin de ormanlar,n genetik yap,lar, oldu unu belirtmektedir.

Yap,lan analizler ve de erlendirmeler sonucunda, s, la populasyonlar,n,n genetik yap,lar,yla ilgili önemli bilgiler elde edilmiştir. Populasyonlar 10 RAPD primeriyle taranm, ve 75 lokustan ortalama % 45'inin polimorfik oldu u tespit edilmiştir. Etkili allel say,s, ortalamas, 1.30, heterozigotluk 0.17 ve Shannon sabiti 0.24 olarak bulunmu tur. Populasyonlar,n farklıla mas,n, gösteren genetik çe itlili in yap,lanmas, ve gen ak, , de erlerinin istatistik analizi sonuçlar,na göre s, lada toplam genetik çe itlili in % 54'ü populasyonlar aras,nda, kalan % 46's, populasyonlar içerisinde dir. Populasyonlar aras, gen ak, ,n, gösteren  $Nm$  de eri ise 0.42 olup, kritik gen ak, , de erinin (0.5) alt,ndadır.

RAPD analizi sonucu elde edilen bulgulardan Anadolu s, las,nda genetik çe itlili in yüksek olmad, , ve çe itlili in daha çok populasyonlar aras,nda yap,land, , anla ,lmaktad,r. Populasyonlar içerisinde genetik çe itlili in dü ük olmas,, Anadolu s, las,nda dü ük genetik çe itlili in göstergesidir. Uzun dönemde, çe itlili in dü ük olmas, populasyon ve taksonlar,n evrim yoluyla çevresel de i imlere cevap verebilme yetene ini tehdit edecektir (LANDE 1995). Elde edilen dü ük gen ak, , de eri s, la populasyonlar,n,n genetik kayma yüzünden birbirlerinden ciddi ölçüde farklıla t, ,na ve türün neslinin tehlike alt,nda oldu una i arettir. Küresel iklim de i ikli inin gündemde oldu u günümüzde, dü ük genetik çe itlili e sahip olan Anadolu s, las,n,n bu de i ikli e uyum göstermede zorlanaca ,n, söyleyebiliriz.

Anadolu s, las,nda heterozigotlu un dü ük olmas,, populasyonlar aras, genetik farklıla may, gösteren  $G_{ST}$  de erinin 0.25'den büyük olmas,,  $Nm$ 'nin kritik gen ak, , de erinin alt,nda olmas,, genetik kayma meydana geldi ini yani populasyonlar aras,nda farklıla ma ba lad, ,na i aret etmektedir. Populasyonlar,n birbirinden kopuk olmas,, dar alanda yay,l, göstermesi nedeniyle akrabalar-aras, döllenme ba lam, , bu da farklıla maya neden olmu tur. Örne in çal, t, ,m,z populasyonlar,n içinde en büyük me cereyi olu turan Burdur-Sö ütda , populasyonunun büyüklü ü sadece 8 hektar kadard,r.

Parçalanmalar sonucunda gen ak, ,n,n azalmas, ve dolay,s,yla önceleri birbirleriyle ili kisi olan izole guruplar,n etkili bir populasyon büyüklü ünü yitirmesi durumunda, orman parçalar,n,n varl, , tehlikeye girmektedir. Bütünlükleri yak,n bir zamanda bozularak parçal, hale gelmi olan türlerin durumu, tehlikede olan türlere örnektir (LEDIG 1998). Bu tür durumlarda, gen al, veri ini te vik eden yönetim teknikleri, akrabalar-aras, döllemenin etkilerini dengelemek için önerilebilir.

Bu çal, mada ayr,ca, s, lan,n çekirdek ribozomal DNA ITS ve kloroplast *rps16* bölgelerinin dizi analizlerinden yararlan,lm, t,r. Rps16 belirteçleriyle olu turulan minimum farklı,la ma a ac,, Mu la-Yata an ve Mu la-K,yra populasyonlar,n,n di erlerinden 1-2 baz çifti farklı,la t, ,n, göstermektedir.

Tüm analiz sonuçlar, birlikte de erlendirildi inde, çal, ,lan s, la populasyonlar,n,n bilinen varyete ayr,mlar,n, do rulayacak ekilde belirgin bir grupla ma ya da farklı,la ma olu turmad, , gözlenmi tir.

Çal, ,lan s, la populasyonlar,nda gözlenen dü ük genetik çe itlilik ve dü ük gen ak, , de erleri, bütün populasyonlar,n *in-situ* korumaya al,nmas, gereklili ine i aret etmektedir. Ac,payam-Bozda ve Gölhisar-Pamucak Gen Koruma Orman, (ANON M 2001), Burdur-Sö ütda Tabiat, Koruma Alan, (ANON M 2000) olarak yerinde korunmaktad,r. Di er populasyonlar,n da yerinde korunmas, önerilmektedir. Ancak populasyonlar,n yay,l, alanlar, göz önüne al,nd, ,nda, ço unun ülkemizin önemli turizm bölgelerinde bulundu u ve bu durumda yerinde koruman,n problemler yaratabilece i bilinmektedir. Ancak Marmaris-De irmenyan, ve Köyce iz-Köyce iz populasyonlar, me çere olu turdu undan, *in situ* korumaya al,nmas, yerinde olacakt,r.

Mu la-Yata an populasyonu, baraj yap,m, nedeniyle yok olmak üzeredir. Dolay,s,yla baz, populasyonlar,n *ex-situ* korumaya al,nmas,, daha garantili olacakt,r. Zaten *in-situ* koruma ile birlikte, *ex-situ* koruma önerilmektedir (KAYA 1990; D R K 1994; LEDIG 1998). *Ex-situ* koruma ile kendinden-ba ka bireylerle dölleme de te vik edilerek, çe itlili in de artmas, \*salanacakt,r. Anadolu s, las, için *ex-situ* koruma stratejisi belirlemek amac,yla RAPD, ITS ve kloroplast *rps16* bölgesi analizlerinin sonuçlar, birlikte de erlendirilmi tir. RAPD analizi de erlendirmesi sonucu yüksek genetik çe itlili e sahip olan populasyonlar ile, ITS ve *rps16* bölgesi dizi verileriyle olu turulan a açlarda en çok farklı,l,k gösteren populasyonlar belirlenmi tir. Her üç analizde de ortak olan 8 populasyonun (Ac,payam-Bozda , Mu la-Y,lanl,, Marmaris-Günnücek, Köyce iz-Köyce iz, Fethiye-Günlükba ,, Marmaris-De irmenyan,, Mu la-K,yra, Mu la-Yata an) *ex-situ* korumaya al,nmas,na karar verilmi tir.

## ÖZET

Ülkemizin endemik orman ağacı türlerinden olan Anadolu sığirci, için koruma yöntemlerini belirlemek amacıyla RAPD çekirdek ribozomal DNA (ITS) ve kloroplast DNA *rps16* bölgesi analizleri yapılmıştır. Sığirci, Türkiye'deki yayılım alanından 18 popülasyondan 20'er birey örneklenmiştir. Genetik çeitlilik parametreleri ve popülasyonlar arasındaki farklar her popülasyondan 20 bireyin 10 adet RAPD belirteciyle taranması sonrasında yapılan istatistik analizlerle belirlenmiştir. Minimum farklılaşma amacıyla her popülasyondan 4'er bireyin kloroplast DNA *rps16* gen bölgesinin DNA dizi analizi sonrasında oluşturulmuştur.

RAPD analizi sonuçları, sığirci popülasyonları, yüksek genetik çeitliliğe sahip olmadıkları ve genetik kayma sonucu popülasyonlar birbirinden farklılık göstermektedir. Polimorfik lokus oranı % 45, etkili allel sayısı ortalaması 1.30 ve heterozigotluk 0.17 olarak hesaplanmıştır.

Genetik çeitliliğin önemli kısmı (% 54) popülasyonlar arasında olup, popülasyonlar içi genetik çeitlilik oldukça düşüktür (% 46). Popülasyonlar arasında genetik farklılaşma katsayısı da ( $N_m=0.42$ ) düşük bulunmuştur.

Kloroplast DNA *rps16* gen bölgesi analizi sonuçlarına göre oluşturulan minimum farklılaşma amacıyla Muğla-Yatağan ve Muğla-Kıyran popülasyonları arasındaki 1-2 baz çifti farklılık göstermektedir.

Çalışılan sığirci popülasyonları arasındaki farklılıklar ve düşük genetik çeitlilik değerleri göz önüne alınarak bütün popülasyonların *in-situ* korumaya alınması önerilmektedir. Ancak önemli turizm bölgelerinde bulunan bu popülasyonların yerinde korunması zor olacaktır. Ancak Köyceiz-Köyceiz ve Marmaris-Deirmenyan popülasyonlarının *in-situ* korunması önerilmiştir. Dolayısıyla her iki yöntemin sonuçları değerlendirilerek *ex-situ* koruma planı yapılmıştır. Genetik çeitliliği yüksek olan popülasyonlardan en çok farklılaşma gösteren 8 popülasyonun (Acıpayam-Bozdağ, Muğla-Yatağan, Marmaris-Günnücek, Köyceiz-Köyceiz, Marmaris-Deirmenyan, Fethiye-Günlükbaşı, Muğla-Kıyran, Muğla-Yatağan) *ex-situ* koruma altına alınması önerilmiştir.

## SUMMARY

RAPD nuclear ribosomal DNA (ITS) and chloroplast DNA *rps16* region analysis have been done to determine conservation strategies for sweet gum, one of the endemic species of Turkey. 20 families were sampled from 18 populations within the natural distribution area of sweet gum. Genetic diversity parameters and relationships between populations were determined by statistical analyses after screening of 20 families from each population by 10 RAPD markers. Minimum spanning tree were constructed after DNA sequence analysis of chloroplast DNA *rps16* region of 4 individuals from each population.

Results of RAPD analysis indicated that genetic diversity of populations was not high and populations have been differentiated from each other due to the genetic drift. Percentage of polymorphic loci, effective allele number and heterozygosity were calculated as 45%, 1.30 and 0.17, respectively.

Most of the genetic diversity resides between populations (54 %) and genetic diversity within populations (46 %) were quite low. Gene flow coefficient between populations ( $Nm=0.42$ ) were also low.

Minimum spanning tree that have been constructed by using DNA sequence data of chloroplast *rps16* gene region indicated that Mu la-K,yra, Mu la-Yata an populations were differentiated by 1-2 basepair from other populations.

*In-situ* conservation of all populations was suggested when considered differentiation of studied populations and low genetic diversity parameters. However *in-situ* conservation of these populations, that are located in important tourism regions of Turkey, is complicated. Köyce iz-Köyce iz and Marmaris-De irmenyan, populations were determined for *in-situ* conservation. Therefore, *ex-situ* conservation strategy has been developed by considering results of both methods studied. It was proposed to have *ex-situ* conservation for the most differentiated 8 populations (Ac,payam-Bozda , Mu la-Y,lanl., Marmaris-Günnücek, Mu la-K,yra, Köyce iz-Köyce iz, Mu la-Yata an, Marmaris-De irmenyan., Fethiye-Günlükba .,) with higher genetic diversity.

## KAYNAKÇA

- ACAR, M. . 1988a.** S, la (*Liquidambar orientalis* Mill.) A açland,rma- lar,nda Köklü Çelik Kullan,m,n,n Gerek ve Önemi. Ormanc,l,k Ara t,rma Enstitüsü Yay,nlar,, Dergi Serisi, Cilt:34, Say,:2, No:68.
- ACAR, M. . 1988b.** S, la (*Liquidambar orientalis* Mill.) Balzam, (S, la Ya ) Eterik Ya ,n,n GC-MS-DS Sistemi le Analiz Edilerek Bile iminin Belirlenmesi. Ormanc,l,k Ara t,rma Enstitüsü Yay,nlar,, Teknik Raporlar Serisi, No:33.
- ACAR, M. ., KIZILEL, M. 1988.** S, la Ormanlar,n,n Dünyü, Bugünü ve Gelece i. Ormanc,l,k Ara t,rma Enstitüsü Yay,nlar,, Dergi Serisi, Cilt:34, Say,:1, No:67.
- ACAR, M. ., GEM C , Y., GENÇ, A., ÖZEL, N. 1992.** Anadolu S, la (*Liquidambar orientalis* Mill.) Ormanlar,n,n Geçmi teki ve Günümüzdeki Durumu. 1. Uluslararası, Ekoloji ve Çevre Sorunlar, Sempozyumu. 127-133.
- ACATAY, A. 1963.** S, la A aç, (*Liquidambar orientalis* Mill.)n,n Türkiye'de Yay,l,, Yeni Tesbit Edilen Varyetesi ve S, la A açlar,na Musallat Olan Böcekler. . Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri A, Cilt 8, Say, 2, stanbul.
- AKMAN, Y. 1995.** Türkiye Orman Vejetasyonu. A. Ü. Fen Fakültesi Botanik Ana Bilim Dal,. Ankara.
- AKMAN, Y., KETENO LU, O., KURT, L. 1992.** Fethiye-Marmaris ve Bucak Çevrelerinde Yeti en *Liquidambar orientalis* Mill. Topuluklar,n,n Floristik Yap,s,. Do a-Turkish Journal of Botany. Vol:16, 273-286.
- ALAN, M., KAYA, Z. 2003.** Oriental Swet Gum. (*Liquidambar orientalis* Mill.). EUFORGEN Technical Guidelines.
- ANON M. 1984.** Günlük Ormanlar,m,z, Kurtarabiliriz. Ormanc,l,k Ara t,rma Enstitüsü Yay,nlar,, Ara t,rma Bülteni, S,ra No:32.
- ANON M. 1995.** Pasific Northwest Tree Improvement Research Cooperative Annual Report (4/1/1994-9/30/1995), Placerville, California, USA.
- ANON M. 2000.** Türkiye'nin Tabiat, Koruma Alanlar,. K,rsal Çevre ve Ormanc,l,k Sorunlar, Ara t,rma Derne i, Yay,n no:9. Ankara.
- ANON M. 2001.** Orman A açlar, ve Tohumlar, Islah Ara t,rma Müdürlü ü, 2000 Y,l, Çal, ma Raporu, 2001 Y,l, Çal, ma Program,. Çe itli Yay,nlar Serisi. Say,:3, Ankara.
- ATAY, . 1985.** S, la A aç,n,n (*Liquidambar orientalis* Mill.) Önemi ve Silvikültürel Özellikleri. . Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri:B, Cilt:35, Say,:1.

- AYKIN, R. 1976.** Isparta Orman Bölge Müdürlü ü Sütçüler İletmesi Ormanlar,nda *S. la* (*Liquidambar orientalis* Mill.) Me cereleri. Orman Mühendisli i Dergisi, Kas,m-Aral,k, Say,:5, 17-25.
- BERKEL, A. 1955.** *S. la* A ac, (*Liquidambar orientalis* Mill.) Odununun Makroskopik Özellikleri ve Anatomik Strüktürü Hakk,ndaki Ara t,rmalar. . Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri A, Cilt 5, Say, 1-2, stanbul.
- BERKEL, A., HU , S. 1944.** *S. la* A ac, Ormanlar, ve *S. la* Ya , Üzerine Ara t,rmalar. Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü Dergisi, Cilt:3, Y,l:2, Say,:1 (5), 9-28.
- BOZKURT, Y., GÖKER, Y., KURTO LU, A. 1989.** *S. la* a ac,n,n baz, özellikleri. . Ü. Or. Fak. Der. Seri B, Cilt:39, Say,:1.
- BOZKURT, Y., GÖKER, Y., KURTO LU, A. 1990.** *S. la* odununun fiziksel ve mekaniksel özellikleri. . Ü. Or. Fak. Der. Seri A, Cilt:40, Say,:2.
- CONKLE, M. T. 1980.** Amount and Distribution of Isozyme Variation in Various Conifer Species. In: Proceedings of the 7<sup>th</sup> Meeting. Canadian For. Ser. pp: 109-117.
- 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).
- BRICE, W. C. 1978:** The desiccation 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.
- ÇET NTA , G. 1990.** Anadolu s, la a ac,na ilgisizlik devam edecekmi?. Çevre ve Ormanc,l,k Dergisi, Cilt:6, Say,:1.
- DAVIS, P. H. 1972.** Flora of Turkey & The East Aegeon Island.Cilt IV.
- D R K, H. 1986.** Anadolu *S. las*, (*Liquidambar orientalis* Mill.)n,n Gençle tirilmesi Üzerine Çal, malar. . Ü. Orman Fakültesi Yüksek Lisans Tezi, stanbul.
- D R K, H. 1986.** Genetik çe itlilik ve orman gen kaynaklar,n,n korunmas,. . Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri B, Cilt 44, Say, 3-4, stanbul.
- DOWNIE, S.R., J.D. PALMER. 1992.** Use of chloroplast DNA rearrangements in reconstructing and plant phylogeny. Pp. 14-35. In: Molecular Systematics of Plants. P.S. SOLTIS, D.E. SOLTIS, J.J. DOYLE (Eds). New York:Chapman and Hall.
- DOWNIE, S. R., KATZ-DOWNIE, D. S. 1999.** Phylogenetic analysis of chloroplast *rps16* intron sequences reveals relationships within the woody southern African Apiaceae subfamily Apioideae. Can. J. Bot., 77: 1120-1135.

- DOYLE, J. J., DOYLE, J. L. 1990.** Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15.
- DURU, M .E., ÇAKIR, A., HARMANDAR, M. 2002.** Composition of Volatile Oils Isolated from The Leaves of *Liquidambar orientalis* Mill. var. *orientalis* and *L.orientalis* var. *integriloba* from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*. 17 (2), 95-98.
- EFE, A. 1987.** *Liquidambar orientalis* Mill. (S, la A ac,)ın Morfolojik ve Palinolojik Özellikleri Üzerine Ara tırmalar. . Ü. Orman Fakültesi. Dergisi Seri A. Cilt: 37, Say,:2, 273-286, stanbul.
- EFE, A., D R K, H. 1992.** Une Espece Peu Connue de la Foret Mediterraneenne *Liquidambar orientalis*. *Foret Mediterraneene Tome: X111, Numero:2.*
- EK M, T., KOYUNCU, M., VURAL, M., DUMAN, H., AYTAÇ, Z., ADIGÜZEL, N. 2000.** Türkiye Bitkileri K,rm,z, Kitab, (E relti ve Tohumlu Bitkiler). Türkiye Tabiat,n, Koruma Derne i ve Van 100. Y,l Üniversitesi Yay,n,.
- FAK R, H., DO ANO LU, Ö. 2003.** Isparta s, la (*Liquidambar orientalis* Mill.) orman, tabiat, koruma alan, bitki taksonlar,. SDÜ Or. Fak. Dergisi, Seri:A, Say,:1.
- FAK R, H. 2005.** Isparta s, la orman, tabiat, koruma alan, an,t a açlar,. SDÜ Or. Fak. Dergisi, Seri:A, Say,:1.
- FRANKLIN, E. C. 1972.** Mutant forms found by self-pollination in loblolly pine. *Journal of Heredity* 60: 315-320.
- GENÇ, A. 1994.** S, la A ac,n,n (*Liquidambar orientalis* Mill.) Genetik Varyasyonundan A , Yoluyla Yararlanma. Ormanc,l,k Ara t,rma Enstitüsü Yay,nlar,, Teknik Raporlar Serisi, No:57.
- GENÇ, A. 1999.** S, la A ac, (*Liquidambar orientalis* Mill.)ın Doku Kültürü Tekni i le Üretilmesi. Ege Ormanc,l,k Ara t,rma Müdürlü ü, Teknik Bülten No:14.
- GENÇ, A., AKGÜL, E., ÖZEL, N., UMUT, B. 1993.** S, la (*Liquidambar orientalis* Mill.) Ormanlar,n,n Yeti me Ortam, Özellikleri le Gençle tirilmesi Üzerine Ara tırmalar. Ege Ormanc,l,k Ara t,rma Müdürlü ü, Teknik Bülten No:14.
- GILLIES, A. C. M., NAVARRO, C., LOWE, A. J., NEWTON, A. C., HERNANDEZ, M., WILSON, J., CORNELIUS, J. P. 1999.** Genetic diversity in Mesoamerican populations of Mahogany (*Swietenia macrophylla*) assesed using RAPDs. *Heredity* 83:722-732.
- GOOD, R. 1974.** The Geography of flowering plants. 4th edition. Longman Group Ltd., London.



- GÜL, S. 1986.** S, la A ac, (*Liquidambar orientalis* Mill.) Kabuk S,yr,nt,lar,ndan Ya Elde Etme Yöntemleri Üzerine Ara t,rmlar. Ormanc,l,k Ara t,rma Enstitüsü Yay,nlar,, Teknik Bülten Serisi, No:178.
- GÜNER, A., VURAL, M., DUMAN, H., DÖNMEZ, A. A., A BAN, H. 1993.** Günlük a ac, (*L. orientalis*)- Köyce izødeki Durum. The Karaca Arboretum Magazine Vol II, Part 1.
- HAFIZO LU, H. 1982.** Analytical Studies on the Balsam of *Liquidambar orientalis* Mill. by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *Holzforschung*36, 311-313. Berlin- New-York.
- HOEY, M. T., PARKS, C. R. 1991.** Genetic divergence between eastern Asian, North American and Turkish Species of *Liquidambar* (Hamamelidaceae). *Amer. J. Bot.* 78: 938-947.
- HOEY, M. T., PARKS, C. R. 1994.** Genetic divergence in *Liquidambar styraciflua*., *L. formosana* and *L. acalycina* (Hamamelidaceae). *Syst. Bot.* 19:308-316.
- HUANG, H., DANE, F., KUBISIAK, T. L. 1998.** Allozyme and RAPD analysis of the genetic diversity and geographic variation in wild populations of the American chestnut (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 85: 1013-1021.
- HU , S. 1947.** Reçine ve s, la ya , elde etme metotlar,. Tar,m Bakanl, ,, OGM Yay,nlar,, Özel Say,:36.
- HU , S. 1949.** S, la A ac,n,n (*Liquidambar orientalis* Mill.) Ormanc,l,k Bak,m,ndan Önemi ve S, la Ya ,n,n Kimyasal Ara t,r,lmas,. Orman Genel Müdürlü ü Yay,n,, Özel Say,: 83. 7-61.
- IK, K. 1988.** Orman A ac, Türlerimizde Lokal Irklar,n Önemi ve Genetik Kirlenme Sorunlar,. *Orman Mühendisleri Dergisi*, 25(11):25-30.
- KTÜEREN, ., ACAR, . 1987.** S, la A ac,n,n (*Liquidambar orientalis* Mill.) Do al Yay,l, ,, S, la Ya , Üretimi ve Pazarlamas,. Ormanc,l,k Ara t,rma Enstitüsü Yay,nlar,, Dergi Serisi, Cilt:33, Say,:2, No:66.
- STEK, A., HAFIZO LU, H. 2004.** S, la a ac, (*Liquidambar orientalis* Mill.) odununun anatomik özelliklerinin belirlenmesi. *Bart,n Or. Fak. Dergisi*, Say,:1.
- STEK, A., HAFIZO LU, H. 2005.** S, la a ac, (*Liquidambar orientalis* Mill.) odunu kabu unun kimyasal bile enleri. *G. Ü. Kastamonu Or. Fak. Dergisi*, Cilt:5, No:1.
- C , M. 1988.** S, la (Günlük) Ormanlar,n,n Amenajman Esaslar,. K.T.Ü. Orman Fakültesi Yüksek Lisans Tezi. Trabzon.
- KANASHIRO, M., HARRIS, S. A., SIMONS, A. 1997.** RAPD diversity in Brazil nut. *Silvae Genetica* 46, 4: 219-223.

- KAYA, Z.1990.** Orman gen kaynaklar,m,z: Ulusal miras,m,z. Fidan Dergisi, Nisan, Say,:28, Ankara.
- 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.
- KESERC O LU, T. 1973.** Türkiye Bitkileri Üzerinde Sitotaksonomik Anatomik ve Morfolojik Ara t,rmalar. E. Ü. Fen Fakültesi İmi Raporlar Serisi, No:173, 3-14.
- KETENO LU, O., KURT, L., KURT, F. 2003.** S, la (Günlük) A ac,n,n (*Liquidambar orientalis* Mill) Ekolojik Özellikleri. Çevre ve nsan Dergisi Say,:56, Çevre Bakanl, , Yay,n,.
- KIMURA, M, CROW, J. M. 1978.** Effect of overall phenotypic selection on genetic change at individual loci. Proc.Natl.Acad.Sci. 75:6168-6171.
- KUMAR, S., TAMURA, K., NEI, M. 2004.** MEGA 3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics and Sequence Alignment. Briefings in Bioinformatics 5:150-163.
- LANGELLA, O.** POPULATIONS: population genetics software (Individuals or populations distances, phylogenetic trees). CNRS, France. <http://pge.cnrs-gif.fr/bio-info/populations>. (2000).
- LANDE, R. 1995.** Mutation and conservation. Conservation Biology 9: 782-791.
- LEDIG, F. T. 1998.** Genetic diversity in tree species: with special reference to conservation in Turkey and the eastern Mediterranean. In: Zencirci *et al.* (Eds.) The Proceedings of International Symposium on *in situ* Conservation of Plant Genetic Diversity. 249-256. CRIFC, Turkey.
- LEWONTIN, R. C. 1972.** The apportionment of human diversity. *Evol Biol* 6: 3816398.
- LI, J., BOGLE, A. L. 1997.** Interspecific relationships and Genetic Divergence of the disjunct Genus *Liquidambar* (Hamamelidaceaea) inferred from DNA sequences of plastid gene *Matk*. *Rhodora*. 99 (899): 229-240.
- LI, J., BOGLE, A. L., KLEIN, A. S. 1999.** Phylogenetic relationships in the Hamamelidaceaea: Evidence from the nucleotide sequences of the plastid gene *matk*. *Plant. Syst. Evol.* 218:205-219.
- LIANG, H. 1997.** The phylogenetic reconstuction of the grass family (Poaceae) using matK gen sequences. PhD Thesis of the Faculty of the Virginia Polytechnic Inst,tute and State University. Blacksburg, Virginia, USA.
- LIDÉN, M., FUKUHARA, T., RYLANDER, J., OXELMAN, B. 1997.** Phylogeny and classification of Fumariaceae, with emphasis on *Dicentra* s.l., based on the plastid gene *rps16* intron. *Plant Syst.Evol.* 206: 4116420.

- MILLAR, C. I., MARSHALL, K. A. 1991.** Allozyme Variation of Port-Orford-Cedar (*Chamaecyparis lawsoniana*): Implications for Genetic Conservation. *Forest Sci.* 37:1060-1075.
- MORTON, C. M., GRANT M., BLACKMORE S. 2003.** Phylogenetic relationships of the Aurantioideae inferred from chloroplast DNA sequence data. *American J. Bot.*, 90: 1463-1469.
- MUIR, D., SCHLOTTERER, C. 1999.** Limitations to the phylogenetic use of ITS sequences in closely related species and populations - a case study in *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. Chapter 11 in: Which DNA Marker for Which Purpose? Final Compendium of the Research Project Development, optimisation and validation of molecular tools for assessment of biodiversity in forest trees in the European Union DGXII Biotechnology FW IV Research Programme Molecular Tools for Biodiversity. Gillet, E.M. (ed.).
- NAMKOONG, G., BARNES, R. D., BURLEY, J. 1980.** A Philosophy of Breeding Strategy for Tropical Forest Trees Commonwealth Forestry Institute, Tropical Forestry Papers No:16. Oxford University Press, Oxford.
- NEALE, D. B., DEVEY, M. E., JERMSTAD, K. D., AHUJA, M. R., ALOSI, M. C., MARSHALL, K. A. 1992.** Use of DNA Markers in Forest Tree Improvement Research. *New Forests.* 6: 391-407.
- NEI, M. 1972.** Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 106: 283-292.
- NEI, M. 1987.** Molecular evolutionary genetics. Columbia University Press, New York.
- NEI, M., KUMAR, S. 2000.** Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press, New York.
- NESBITT, K. A., POTTS, B. M., VAILLANCOURT, 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: (6) 628-637.
- NEUHAUS, H., SCHOLZ, A., LINK, G. 1989.** Structure and expression of a split chloroplast gene from mustard (*Sinapis alba*): ribosomal protein *rps16* reveals unusual transcriptional features and complex RNA maturation. *Curr. Genet*, 15: 63-70.
- NICKRENT, D. L., SCHUETTE, K. P., STARR, E. M. 1994.** A molecular phylogeny of Arceuthobium (*Viscaceae*) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences.
- OR, M. 2007.** Kloroplast genomundaki kodlanmayan ötrnö bölgelerinin kar,la t,r,lmas, yap,larak *Liquidambar orientalis* varyetelerinin filogenetik analizi. ODTÜ, Master Tezi.

- OXELMAN, B., LIDÉN, M., BERGLUND, D. 1997.** Chloroplast *rps16* intron phylogeny of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae). *Plant Syst. Evol.* 206: 393-410.
- ÖNAL, S., ÖZER, S. 1985.** Ülkemizdeki Silene, üretim ve Değerlendirilmesindeki Sorunlar. Orman Ürünleri Endüstri Kongresi (ÖRENKO). Trabzon.
- ÖRTEL, E. 1988.** Silene ormanlarındaki durumu. Ormancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi Cilt 17, sayı 194: 16-19.
- ÖZDİLEK, A. 2007.** Kloroplast genomundaki *matK* gen bölgesine göre *Liquidambar orientalis* varyetelerinin genetik farklılaşması. ODTÜ, Master Tezi.
- ÖZKAHRAMAN, M. 1984.** Anadolu Silene, yok oluyor. *Bilim ve Teknik Dergisi*, Cilt:17, Sayı:194.
- PAMUKÇUOĞLU, A. 1964.** Memleketimizin *Liquidambar orientalis* Orman Sahası. *Türk Biyoloji Dergisi*, 14, 2.
- PERRY, D. A. 1978.** Variation Between and Within Species. IUFRO, Proc. Ecology of Evenaged Forest Plantation. 71-98.
- PEMEN, H. 1972.** The Genus *Liquidambar L.* in Davis, Flora of Turkey. Vol:4, 264-265, Edinburgh.
- 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.
- RUSSELL, 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.
- SAMARODOVA-BIANKI, G. B. 1957.** De Genere *Liquidambar L.* *Notule Systematicae ex Herbario Academiae Scientiarum URSS.* a. B. K. Scuischkiy Redactus. Leningrad (XVIII), 77-89.
- SCHNEIDER, S., ROESSLI, D., EXCOEFFIER, L. 2000.** Arlequin Software Version 2.000. A Software for population genetics data analysis. Department of Anthropology and Ecology. University of Geneva, Switzerland.
- SHI, S., CHANG, H. T., YUEQING, C., LIANGHU, Q., WEN, J. 1998.** Phylogeny of the Hamamelidaceae based on the ITS sequences of nuclear ribosomal DNA. *Biochemical Systematics and Ecology.* 26:55-69.
- SHI, S., HUANG, Y., ZHONG, Y., ZHANG, Q., CHANG, H., BOUFFORD, D. E. 2001.** Phylogeny of the Altingiaceae based on cpDNA *matK*, *trnT-trnL* and nrDNA ITS sequences. *Plant. Syst. Evol.* 230: 13-24.
- SORENSEN, F. C. 1969.** Embryonic genetic load in coastal Douglas-fir, *Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*. *American Naturalist* 103: 389-398.

- TANKER, M., SAYRON, E. 1974.** Strax Liquidus Üzerine Farmokognozük Ara t,rmalar. A. Ü. Eczac,lık Fakültesi Mecmuas,, Vol:4, No:1.
- TET K, M., R N, G. 2002.** Karacaören I. ve II. Barajlar,n,n, Karacaören Tabiat Orman,ındaki Doğal S, la (*Liquidambar orientalis* Mill.) Me ceresi Üzerine Etkileri. Bat, Akdeniz Orman,lık Ara t,rma Müdürlü ü Yay,nlar,, Dergi Serisi, Say,:4.
- TOPÇUO LU, A. 1947.** S, la ya , istihsalı. Orman ve Av, Y,il:19, Say,:9.
- TOPÇUO LU, A. 1950.** S, la ya ,n,n ekonomik de eri. Orman ve Av, Y,il:22, Say,:1.
- TOPÇUO LU, A. 1968.** Si la Ormanlar,n,n Islah,, Bak,m,, S, la Ya , stihsalı ve K,ymetlendirilmesi. Orman Genel Müdürlü ü, Teknik Haberler Bülteni, Y,il:7, Say,:28, 3-23.
- WACHIRA, F. N., WAUGH, R., HACKETT, C. A., POWELL, W. 1995.** Detection of genetic diversity in tea (*Camellia sinensis*) using RAPD markers. Genome. 38:201-210.
- WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, J. TAYLOR, W. 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White. Academic Press, Inc., New York.
- WRIGHT, S. 1969.** Evolution and genetics of populations: The theory of gene frequencies. Chicago University Press.
- YEH, F. C., YANG, R., BOYLE, T. 1997.** POPGENE Version 1.20. Windows-Based Software for Population Genetics Analysis. (<http://www.ualberta.ca/~fyeh/>)
- YEH, F. C., CHONG, D. K. X., YANG, R.-C. 1995.** RAPD variation within and among natural populations of trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) from Alberta. Journal of Heredity 86: 454-460.
- YÜCEL, M. 1991.** Orman Ağaçlar,m,zdan S, la Ağac, ve Kazda , Göknar,, Fen ve T,p Bilimlerinde Ara t,rma. Cilt:3, Say,:35.