

Orman Bakanlığı Yayın No: 047
Müdürlük Yayın No : 010

ISSN 1300 - 9508



**KAZDAĞI YÖRESİ DOĞAL KIZILÇAM
(Pinus brutia Ten.) POPULASYONLARINDA
İZOENZİM ÇEŞİTLİLİĞİ**

(ODC : 165.3)

**Isozyme Variation Within and Between Natural Turkish
Red Pine (Pinus brutia Ten.) Populations from
Kazdağları**

Bünyamin DOĞAN
Orman Yüksek Mühendisi

TEKNİK BÜLTEN NO. : 10

1997

**T.C.
ORMAN BAKANLIĞI
EGE ORMANCILIK ARAŞTIRMA
ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

EGE FORESTRY RESEARCH INSTITUTE

İZMİR / TÜRKİYE

ÖZ

Dünya Bankasınca desteklenen Genetik Çeşitliliğin Yerinde Korunması Projesi kapsamında yapılan bu çalışmada, Kazdağlarında proje Bilimsel Danışma Komitesince (SAC) belirlenen altı adet Kızılçam populasyonunda çalışılmıştır. Belirlenen bu populasyonlardan tesadüfi örnekleme ile Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Enstitüsünce 50'şer adet ağaçtan kozalaklar toplanmıştır. Toplanan bu kozalakların tohumları Ege Ormancılık Araştırma Enstitüsü Laboratuvarında analizlere tabi tutulmuş ve elde edilen veriler BIOSYS1 ve POPGENE İstatistik Değerlendirme Programları kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çalışılan 13 enzim sisteminde 27 lokus gözlenmiş, ancak 21 adedi değerlendirmeye alınabilmiştir. Bunlardan 19 adedi polimorfik diğer iki tanesi monomorfik bulunmuştur. Populasyonlarda polimorfik lokus oranları %80.95 ile %90.48 arasındadır. Lokuslardaki ortalama allel sayısı en az 2.19 ile Karaköy populasyonunda olup, Baharlar populasyonunda 2.24, diğerlerinde ise 2.29 olarak gözlenmiştir. Beklenen heterozigotluk $H_e=0.254$ ile $H_e=0.323$, gözlenen ise $H_o=0.204$ ile $H_o=0.247$ arasında bulunmuştur. Nei'nin yansız genetik mesafe katsayısı bütün populasyonlar arasında 0.0011 ile 0.0360 arasında, ortalamasının ise 0.0139 olması Kazdağlarında Kızılçam populasyonları arasında farklılığın düşük olduğunu göstermiştir. F_{ST} değeri de 0.028 bulunmuştur ki bu da, populasyonlar arasında farklılığın az olduğunu göstermektedir. Fiksasyon indeksleri ise 0.078 ile 0.301 arasında değişmektedir.

Yapılan benzerlik ve uzaklık testlerine göre üç yöreden birer Gen Kaynakları Yönetim Alanının (GEKYA) ayrılması önerilebilir. Kazdağlarının denize bakan yamaçlarındaki populasyonlardan (Edremit-Atkayası, Ezine Çamlıca ve Ayvacık-Baharlar) bir adet, doğuda kalan iki populasyondan (Kalkım-Asar, Yenice-Yenice) ve Kuzey-batıda kalan Bayramiç-Karaköy'den bir adet olmak üzere üç adet GEKYA ayrılması uygun olacaktır.

Anahtar Kelimeler: İzoenzim, Kızılçam, Genetik Çeşitlilik, GEKYA.

ABSTRACT

This study has been carried out 6 Turkish Red Pine (*Pinus brutia* Ten.) populations which were determined by Scientific Advisory Committee (SAC) in Kazdağlari area for İn-Situ Conservation of Genetic Diversity Project which has been funded by The World Bank. 50 trees were chosen each populations by random sampling and cones were collected from them. Seeds of this cones were analyzed in Laboratory of Egean Forestry Research Institute. The data were analyzed by using BIOSYS1 and POPGENE Statistical Programs.

27 loci were observed in 13 enzyme systems, but 21 of them could be interpreted. 19 of the 21 loci were found polymorphic. Percentage of polymorphic loci per population was found quite high, ranged from %80.95 to %90.48. Average number of alleles per locus was observed $A=2.19$ in Baharlar, 2.24 in Karaköy Pop.s and the others' 2.29. Expected heterozygosities were calculated between $H_e=0.254$ and $H_e=0.323$, but observed was between $H_o=0.204$ ile $H_o=0.247$. Nei's Unbiased Genetic Distances showed that the variation between populations is relatively low (0.0011 to 0.0360 and mean=0.0139). F_{ST} value also found 0.028 which is evidence of low variation between populations. Fixation indexes were calculated between 0.078 and 0.301.

According to the Similarity and Distance Tests, 3 Gene Management Zones (GEKYA) are recommended. One population from the seaside of the Kazdağı Mountains (Edremit-Atkayası, Ezine Çamlıca ve Ayvacık-Baharlar), one of the eastern side populations (Kalkım-Asar, Yenice-Yenice) and Bayramiç-Karaköy populations are considered for GEKYA.

Key words: Allozymes, *Pinus brutia*, Genetic Diversity, GMZ.

ÖNSÖZ

Bugün için dünyada önemli kaynaklardan sayılan genetik açıdan zengin olan alanların belirlenip korunmaya alınması ve bu alanlardan gelecekte yapılacak faaliyetlerde yararlanılması çalışmaları oldukça hız kazanmıştır. Bu amaçla gen kaynakları açısından zengin olabilecek alanların belirlenmesi ile bunların korunması ve yönetilmesi çalışmaları hız kazanmıştır.

Ülkemizde de Dünya Bankasınca desteklenen Genetik Çeşitliliğin Yerinde Korunması projesi kapsamında Kazdağlarında yapılan bu çalışma ile, Kazdağlarında hedef tür olarak seçilen Kızılcım için Gen Koruma ve Yönetim Alanları (GEKYA) belirlenmeye çalışılmıştır.

Bu çalışma Dünya Bankasınca desteklenen GEF-In-Situ Conservation Of Genetic Diversity (TU-28632) projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir. Her türlü maddi ve manevi yardımlarını esirgemeyen Dünya Bankası yetkililerine ve tohumların toplanmasını sağlayan Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Enstitüsü yetkililerine ve bu çalışmanın gerçekleşmesinde her türlü desteği esirgemeyen Enstitü Müdürlüğümüz yetkililerine ve personeline teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

İleride yapılacak benzer çalışmalara ışık tutacağına inandığım bu çalışmanın bilim dünyasına yararlı olmasını dilerim.

İZMİR,1997

Bünyamin DOĞAN

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----------|
| ÖZ | 1 |
| ABSTRACT | 3 |
| ÖNSÖZ | 4 |
| 1. GİRİŞ | 6 |
| 2. LİTERATÜR ÖZETİ | 9 |
| 3. MATERYAL VE METOD | 11 |
| 3.1. Populasyonların Tanıtımı Ve Örneklenmesi | 11 |
| 3.2. Tohumların Hazırlanması..... | 12 |
| 3.3. Laboratuar Çalışmaları..... | 13 |
| 3.4. Değerlendirme..... | 16 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA | 17 |
| 4.1. İzoenzim Bant Yapıları ve Genetik Kontrolleri | 17 |
| 4.2. Populasyonların Genetik Yapıları | 22 |
| 4.3. Populasyonlarda Genetik Mesafe..... | 30 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER | 32 |
| ÖZET | 35 |
| SUMMARY | 38 |
| KAYNAKÇA | 40 |

1. GİRİŞ

Bu güne kadar yapılan uygulamalarla hızla tahrip olan doğal kaynaklarımız için en büyük tehlike, türlerin genetik tabanının daraltılmasıdır. İnsanlar tarafından yapılan seçici uygulamalarla doğadaki iyi özellikteki bireyler sürekli olarak ortamdaki uzaklaştırılmaktadır. Ancak bu kullanım sömürü şeklinde sürmekte, mevcut yenilenebilir kaynakların korunması ve bunlardan sürdürülebilir bir şekilde yararlanılması kesinlikle düşünülmemektedir. İnsanın üzerinde bu derece etkili olduğu doğal kaynaklar için hiçbir şey yapılmamakta ve daha da tehlikelisi hızla artan nüfusun gelecekteki ihtiyaçları hiç göz önüne alınmamaktadır. Özellikle ülkemizde orman ve verimli tarım alanları, sanayi ve yerleşim birimleri tarafından hoyratça kullanılmakta, bunun sonucunda geri kazanılmaz bir şekilde yok edilmektedir.

Nüfusun hızla artması nedeniyle insan ihtiyaçları artmakta, bu da ormanların yoğun kullanımı sonucu tahrip edilmesine neden olmaktadır. Bu durum, hem orman alanlarının daraldığı hem de vasfını kaybetmeye başladığı yani genetik olarak üstün bireylerin yok olduğu, genetik tabanın olumsuz yönde etkilendiği şeklinde de ifade edilebilir. Bu nedenle orman ürünlerimizde odun açığı ortaya çıkmış olup, gelecek yıllarda bu açığın daha da artması beklenmektedir.

Odun açığının kapatılması için yapılabilecek olan çalışmaların başında ıslah edilmiş materyal kullanılarak sürdürülebilir ormancılık gelmektedir. Bugüne kadar hızlı gelişen türlerle buna çözüm aranmaya çalışılmışsa da bu türlerin istekleri göz önüne alındığında yetersiz kalacakları görülmektedir. Özel toprak ve su istekleri düşünüldüğünde bu türlerle yapılabilecek üretim bir süre için yeterli olabilecek gibi görünse de hızlı nüfus artışı karşısında gelecekte ihtiyacı karşılayamayacaklardır. Bunun için yapılacak iş; ıslah çalışmalarına en uygun doğal türlerimiz üzerinde çalışmalara başlamaktır.

Ülkemizde geniş yayılış gösteren, yetiştirme muhiti istekleri açısından oldukça kanaatkâr olan ve hızlı gelişen bir türümüz olan Kızılcâm bu ihtiyacı karşılayabilecektir. Çok değişik yetiştirme muhitlerinde yayılış göstermesi ise geniş alanlarda kullanılabilmesini göstermektedir. Odununun kullanım alanları da oldukça fazladır. Islah çalışmaları ile daha kısa idare süresinde daha fazla odun hasılası alınabilir. Yeter ki amaca ve ekolojik koşullara uygun ıslah metotları kullanılsın.

Ağaçlandırma çalışmalarında da oldukça yoğun olarak kullanılmakta, bunun için değişik yörelerden iyi olduğu tahmin edilen bireylerden toplanan tohumlarla ağaçlandırma çalışmaları sürdürülmektedir. Ancak fenotipik olarak iyi vasıfta bireylerin bulunduğu meşçereler, genetik üstünlüğü olup olmadığı dikkate alınmadan, tohum meşçeresi olarak ayrılmışlardır. Genetik olarak üstün bireylerin seçimi yapılabilmesi için genetik yapının incelenmesi gerekmektedir.

Islah çalışmalarında aranan özelliklerin başında, genetik tabanın geniş olması gelmektedir. Genetik çeşitliliğin yüksek olduğu popülasyonlarla başlanan çalışmalarda amaca uygun ıslah edilmiş materyalin bulunması daha kolay ve risksiz olmaktadır.

Genetik çeşitlilik çalışmaları ilk olarak morfolojik karakterlere dayalı olarak başlatılmışsa da, fenotipik karakterlerin genotipi tamamiyle yansıtamadıkları bilinmektedir. Bunun başlıca nedenleri ise, çevre-genotip etkileşimleri ve bir karakter üzerinde birden fazla genin etkili olmasıdır. Bu nedenle çalışmaların moleküller düzeyinde sürdürülmesi gündeme gelmiştir. Bugün genetik çeşitliliğin belirlenmesinde RFLP, RAPD, PCR ve izoenzim analizleri gibi yöntemler kullanılmakta, gerek doğrudan genler üzerinde ve gerekse ürünleri hakkında bilgiler elde edilmeye başlanmış, hatta türlerin gen haritaları yapılmaktadır.

İşte bu çalışmalardan biri olan ve genlerin doğrudan ürünleri olan enzimler üzerinde yapılan çalışmaları içeren izoenzim analizleri ile popülasyonların genetik yapıları hakkında hızlı bir şekilde bilgi sahibi olunabilir. Ayrıca genetik çeşitliliğin

yüksek olduğu gen kaynaklarının belirlenip buraların koruma altına alınması ile bu alanlarda yapılacak gözlemlerde de başarıyla kullanılabilir. Ayrıca türler arası farklılıkların ortaya konulmasında da iyi bir yöntemdir.

Bu amaçla Kazdağlarında hedef tür olarak belirlenen Kızılcamda Gen Koruma ve Yönetim Alanlarının (GEKYA) tespitinde izoenzim analizleri yöntemi kullanılmış ve çalışma sonunda genetik çeşitliliğin seviyesi ile GEKYA'lar belirlenmeye çalışılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Ülkemizin asli ağaç türlerinden olan Kızılçamla ilgili bugüne kadar bir çok çalışma yapılmış olmasına karşın genetik çeşitliliğine yönelik çalışmalara yeni yeni başlanmıştır. Gerçekte Akdeniz bölgesi ve Kafkaslarda yayılış gösteren *Pinus brutia*, *P.halepensis*, *P. pityusa*, *P. elderica* ve *P. stankeviczii* türleri aynı kompleks içinde yer almakta olup, yayılış alanları itibariyle birbirlerinin vikaryantı sayılabilirler. Ayrıca bu türlerin taksonomik problemleri de henüz yeterince çözülebilmemiş değildir. Zira, söz konusu türler çok küçük farklarla birbirinden ayrıldıklarından, bazı araştırmacılar diğer türleri *P. brutia* ve *P.halepensis*'in sinonimi, alt türü ya da varyetesi olarakta kabul etmektedirler (Mirov, 1967). Schiller (1994)'e göre ise, bahsedilen türler arasında yapılan izoenzim analizleri ile yapılan genetik çeşitlilik çalışmasında yayılış alanı içinde doğu ve batı grubu olarak iki alt gruba ayrılabilceği, bunun yanında *P. pityusa*, *P. elderica* ve *P. stankeviczii*'nin büyük bir ihtimalle kızılçamın alt türleri olduğu ve *Pinus brutia* subsp. *stankeviczii*'nin de, büyük bir ihtimalle, *Pinus brutia*-*P.halepensis* kompleksinin atası olabileceği belirtilmektedir.

P. brutia üzerine ülkemizde bugüne kadar birçok çalışma yapılmıştır. Nihayet, 18-23 Ekim 1993 tarihlerinde Marmaris'te düzenlenen "Uluslararası Kızılçam Sempozyumu"nda türe ait değişik içerikte çok sayıda tebliğ sunulmuştur. Esasen ilk geniş kapsamlı çalışma Selik (1963) tarafından gerçekleştirilmiş olup, Yaltırık ve Boydak (1993) türün botanik özellikleri ve genetik çeşitliliği konusunda bugüne değin yapılan çalışmaların geniş bir özetini sunmuşlardır. Yaltırık ve Boydak (1993)'a göre Kızılçam üzerinde yapılmış çalışmalarda türün zengin bir genetik çeşitliliğe sahip olduğu saptanmış ve çeşitli morfolojik varyeteleri tespit edilmiştir. Bunlar *P. brutia* Ten. var. *brutia*, *P. brutia* Ten. var. *agrophioti* Papaj., *P. brutia* Ten. var. *pyramidalis* Selik ve *P. brutia* Ten. var. *densifolia* Yalt. ve Boydak'dır.

Kızılçam doğal populasyonları arasında görülen morfolojik farklılıkların, rakım ve yetiştirme ortamından kaynaklandığı öne sürülmüştür (Arbez, 1974). Islahına yönelik yapılan araştırmaların çoğunluğu farklı tohum kaynaklarının değişik yörelerdeki gelişmesinin incelenmesi üzerinedir. Genetik çeşitliliğin ve genetik parametrelerin tahminine yönelik kapsamlı çalışmalar ise oldukça yenidir (Işık, 1980; Işık, 1986; Işık ve Kaya, 1995, Kara, 1996). Işık 1986'ya göre gözlenen 16 fidan karakterinin 15 adedinde aileler arasında önemli genetik farklılıklar gözlenmiş, ailelerden kaynaklanan varyans oranı ise daha yüksek bulunmuştur. Kara, 1996'ya göre, izoenzim analizleri ile Kızılçam doğal populasyonların da yapılan bir çalışmada, Antalya yöresindeki dokuz Kızılçam populasyonu incelenmiş ve genetik yapıları hakkında bilgiler elde edilmiştir. Bu çalışmaya göre populasyonlar arasında genetik mesafenin düşük olduğu ve genetik çeşitliliğin populasyonlar içinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Bu çalışmaların sonuçlarına göre, Kızılçamın ıslahında yüksek seviyede genetik kazanç sağlanabileceği vurgulanmaktadır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi

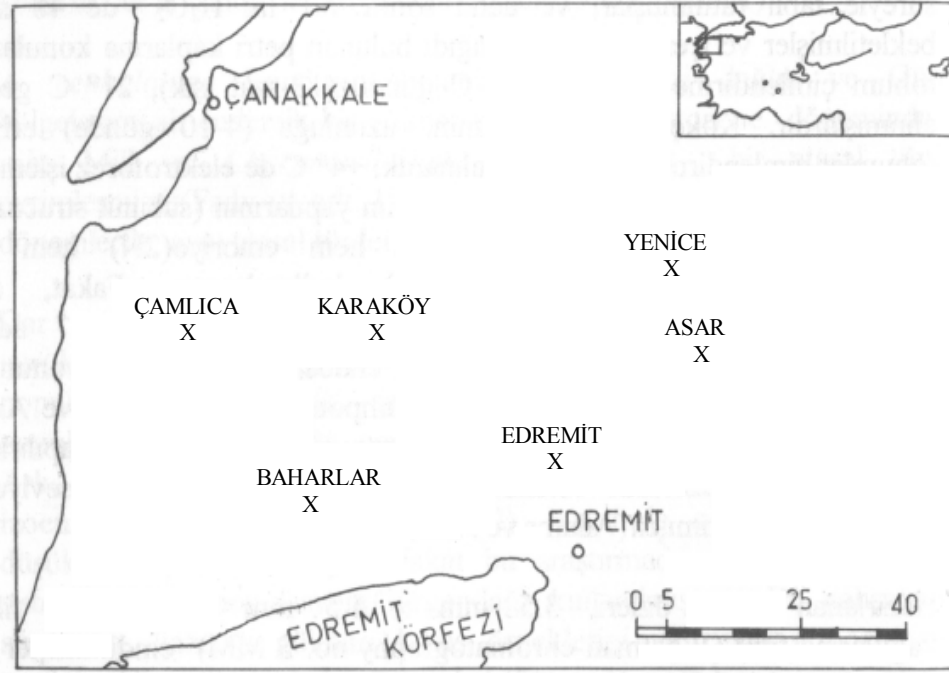
Bu çalışmada, Kazdağlarında belirlenen altı populasyondan 267 adet ağacın açık tozlaşma ürünü tohumlarının endospermleri kullanılmıştır.

Tohumlar, 1994 yılında Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Enstitüsünce toplanmıştır. Ağaçların akraba olması ihtimalini asgariye indirmek için aralarında en az 100 metre mesafe olacak şekilde tesadüfi olarak örnekleme yapılmıştır (Tablo:1. ve Şekil:1.). Ayrıca populasyon içi yükselti farkı 300 metreden daha az tutulmuştur.

Tablo:1.Kazdağlarından Örneklenen Kızılçam Populasyonlarının Konumu

Table:1.Locations of Turkish Red Pine (Pinus brutia Ten.) Populations Sampled From Kazdağları Area.

| Populasyonlar Populations | Enlem (N) Latitude | Boylam (E) Longitude | Yükselti (m) Elevation | Bakı Aspect |
|---------------------------------|------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------|
| Asar-Kalkım (Engece) | 27°17'00" 27°17'30" | 39°50'30" 39°51'00" | 280 | KD |
| Yenice-Yenice | 27°18'00" 27°19'30" | 39°56'00" 39°56'30" | 400 | K |
| Baharlar-Ayvacık (Beşikdağ) | 26°33'00" 26°34'00" | 39°37'00" 39°38'00" | 580 | GB |
| Edremit-Edremit | 27°06'30" 27°07'00" | 39°39'00" 39°39'30" | 380 | G |
| Çamlıca-Ezine | 26°26'00" 26°26'30" | 39°50'00" 39°51'00" | 300 | G |
| Karaköy-Bayramiç (Katrandağ) | 26°53'30" 26°54'00" | 39°51'00" 39°51'30" | 400 | KB |



Şekil:1.Kazdağlarında Seçilen Kızılçam Populasyonlarının Yerleri
Figure:1.Locations of Turkish Red Pine Populations in Kazdağları.

3.2.Tohumların Hazırlanması

Her ağaca ait tohumlardan sekizer adedinde Ege Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Laboratuvarında izoenzim analizleri yapılmıştır. Tohumlar hiçbir ön işleme tabi tutulmadan, içinde nemlendirilmiş filtre kağıtlarının bulunduğu petri kaplarına konulmuş, 22-24 °C sıcaklık aralığında 12 saatlik ışık periyodu kullanılarak çimlendirme dolabına yerleştirilmiştir. Bu şartlar altında tohumlar ortalama 10-12 gün arasında çimlenmeye başlamışlardır.

Her petri kabında ortalama 15 adet çimlenmeye başlamış tohumların kökcükleri 2-4 mm uzunluğa ulaşıncaya, büyümelerini durdurmak amacıyla +4 °C sıcaklıkta, analizler için muhafazaya alınmıştır

Bundan sonra her ağaca ait sekizer adedinin endospermleri (1N) Tablo:2.'deki Conkle ve ark.1982'e göre modifiye edilmiş, özütleme tamponu (Extraction buffer) içinde enzimlerin serbest hale geçmesi için iyice ezilmiştir. Bu işlem Buz kalıplarının üzerinde yapılmış, böylece enzimlerin aktivitelerinin muhafazası sağlanmıştır (Adams ve ark., 1990).

Tablo:2. Özütleme Tamponu
Table:2. Extraction Buffer

| | |
|-------------------------------|-------|
| 0,2 M Phosphate Buffer pH 7.5 | 15 ml |
| Triton X-100 | 30 µl |

3.3.Laboratuvar Çalışmaları

Çimlenmiş tohumlardan başlangıç çalışmaları için bir ağaçtan 40 adet tohumun besi doku kısmı (endospermler) jele yüklenmiş ve enzim yapıları belirlenmeye çalışılmıştır. Ön çalışma sonunda belirlenen enzimler Tablo:3.'te verilmiştir. Yapılan ön çalışma sırasında Conkle ve ark. 1982 esas alınmış ve Kara 1996'da modifiye edilerek kullanılmış boyama sistemlerinden de yararlanılarak, çalışılacak enzimler ile jel-elektrot tampon çözelti ve boyama sistemleri yeniden belirlenmiştir (Tablo:4).

Kullanılan nişasta jeller %12 oranında hazırlanmıştır. Dökülen jeller bir gün soğuk ortamda bekletilmiştir. Jellerin dökülmesinde, içten içe 21.5 cm genişliğinde ve 12.5 cm uzunluğunda jel dökme çıtalrı kullanılmıştır. Çıtaların yüksekliği ise boyanacak jel sayısına göre, Sistem A ve B için 0.5 cm, Sistem C ve D için 0.8 cm olarak değişik kullanılmış ve böylece kimyasal madde tasarrufu sağlanmıştır.

Tablo:3. Çalışılan Enzimler
Table:3. Analyzed Enzymes

| SİSTEM System | ENZİMLER Enzyme | KISA. Abbre. | ENZİM KOD NO E.C. No |
|-------------------------|---------------------------------|------------------------|--------------------------------|
| A | Malate Dehydrogenase | MDH | 1.1.1.37 |
| | Phosphoglucose İsomerase | PGI | 5.3.1.9 |
| B | Glutamate Oxalacetate | GOT | 2.6.1.1 |
| | Menadione Reductase | MNR | 1.6.99.2 |
| | Catalase | CAT | 1.11.1.6 |
| C | Mannose Phosphate Isomerase | PMI | 5.3.1.8 |
| | Phosphoglucomutase | PGM | 5.4.2.2 |
| | Acid Phosphatase | ACP | 3.1.3.2 |
| | Shikimate Dehydrogenase | SKDH | 1.1.1.25 |
| D | Alcohol Dehydrogenase | ADH | 1.1.1.1 |
| | Isocitrate Dehydrogenase | IDH | 1.1.1.42 |
| | 6-Phosphogluconic Dehydrogenase | 6PGD | 1.1.1.44 |
| | Glutamate Dehydrogenase | GDH | 1.4.1.3 |

Özütlenmiş besi dokular, 10x1.5 mm ebatlarında kesilmiş Whatman No:3 filtre kağıtlarına emdirilmiş ve her jele 5 ağaç için 40 adet özütlenmiş besi doku örneği yüklenmiştir. Yükleme esnasında enzimlerin jel üzerinde hareketini gözleyebilmek için jelin her iki tarafına, % 50 oranında içine kırmızı gıda boyası karıştırılmış özütleme tamponu filtre kağıtlarına emdirilerek yüklenmiştir. Daha sonra güç kaynaklarından jellere akım verme işlemi +4 °C soğuk ortamda, enzimlerin yürüyeceği taraf anot (+) olacak şekilde uygulanmıştır. Akım uygulandıktan sonra jel üzerinde kırmızı gıda boyaları 1 cm kadar ilerledikten sonra akım kesilmiş ve fitiller jellerden alınmıştır. Jellere Sistemlerine göre Tablo:5'te verilen akımlar uygulanmıştır. Yeniden akım verildikten sonra Sistem A ve B için boyaların 8 cm, Sistem C ve D için 6 cm ilerlemesi beklenmiş, sonra boyama işlemlerine başlanmıştır.

Tablo:4. Çalışmada Kullanılan Jel ve Elektrot Tampon Sistemleri.
Table :4. Gel ve Tray Buffer Systems Used in This Study.

| SİSTEM A | |
|---|---|
| Jel Tampon Çözeltisi | Elektrot Tampon Çözeltisi |
| 0,02 M Trizma Base | 0,2 M Trizma Base |
| 0,02 M Boric asit | 0,2 M Boric asit |
| 0,001 M EDTA | 0,01 M EDTA |
| | 1 ml/litre Triton X-100 |
| pH 8,4 | pH 8,4 |
| SİSTEM B | |
| Jel Tampon Çözeltisi | Elektrot Tampon Çözeltisi |
| 0,06 M Trizma Base | 0,05 M Sodyum Hidroksit |
| | 0,3 M Boric asit |
| 2 M Citric asit ile pH 8,8'e | pH 8,0 |
| AYARLANDI | (4 N NaOH ile ayarlama yapılabilir) |
| SİSTEM C | |
| Jel Tampon Çözeltisi | Elektrot Tampon Çözeltisi |
| 0,002 M Citric asit | 0,4 M Citric asit |
| pH 6,1 | pH 6,1 |
| (N-3-Aminopropil Morpholin ile ayarlandı) | (N-3-Aminopropil Morpholin ile ayarlandı) |
| | 1 ml/litre Triton x-100 |
| SİSTEM D | |
| Jel Tampon Çözeltisi | Elektrot Tampon Çözeltisi |
| 0,002 M Citric asit | 0,4 M Citric asit |
| H ₂ O | H ₂ O |
| pH 8,3 | pH 8,3 |
| (N-3-Aminopropil Morpholin ile AYARLANDI) | (N-3-Aminopropil Morpholin ile AYARLANDI) |
| | 1 ml/litre Triton x-100 |

GOT enzim sisteminde *Got-3*'ün bantları aynı zamanda katot yönünde de hareket etmektedir. Bu nedenle jelin katot tarafındaki endospermilerin yüklendiği orijinden gerideki parça da boyanmıştır.

Tablo:5. Enzim Sistemlerine Uygulanan Akımlar.
Table :5. Applied Current to the Enzyme Systems

| | |
|-----------------|-----------------------------|
| SİSTEM A (8 cm) | 70 mA (320 voltu aşmayacak) |
| SİSTEM B (8cm) | 70 mA (320 voltu aşmayacak) |
| SİSTEM C (6 cm) | 65 mA |
| SİSTEM D (6 cm) | 60 mA |

3.4.Değerlendirme

Bantların yorumlanmasında jel üzerinde ilerledikleri mesafeler göz önüne alınarak en ilerideki aktif zona Lokus1, daha geride belirlenen aktif zona ise Lokus2 ve bu şekilde devam edilerek lokus numaraları verilmiştir. Lokusların numaralandırılmasında bant yapılarındaki varyasyon dikkate alınmıştır. Lokus numaraları belirlendikten sonra, aktif zonlar içindeki bant yapıları dikkate alınarak en fazla mesafe alana *Allel-1*, sonrakine *Allel-2* diyerek bütün bant yapıları numaralandırılmıştır. Bu prensibe göre elde edilen veriler bilgisayar ortamına girilmiş, POPGENE ve BIOSYS1 programları kullanılarak verilerin yorumlaması yapılmıştır. Populasyonların genetik çeşitliliğini ve GEKYA'ları belirleyebilmek için şu parametreler göz önüne alınmıştır;

- Polimorfik lokuslardaki ortalama allel sayısı,
- Gözlenen ortalama heterozigotluk (H_o),
- Hardy-Weinberg (H-W) şartlarında beklenen ortalama heterozigotluk (H_e),
- Populasyonlar için Nei'nin genetik benzerlik ve uzaklık değerleri,

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1.İzoenzim Bant Yapıları ve Genetik Kontrolleri

Çalışılan 13 enzim sisteminde 21 aktif zon (Lokus) belirlenmiştir (Şekil:2.) Bunlardan 19 adedi çok allelli (polimorfik), 2 adedinde ise tek allelli (monomorfik) yapıda bulunmuştur. Enzim sistemlerinin açılma verilerine ait değerler Tablo:8’de verilmiştir.

CAT: Jelin boyanmasından sonra tek monomorfik bant gözlenmiştir. Diğer ibrelilerde de tek CAT lokusu belirlenmiştir (Harry, 1986; Adams ve ark., 1990, Gülbaba ve ark., 1996). Kızılçamda bu enzimin tek lokus kontrolü altında olduğu kabul edilmiştir.

GDH: İki aktif zon belirlenmesine rağmen, yavaş ilerleyen zonu değerlendirmek mümkün olabilmıştır. Bu lokusta Kara, 1996’da olduğu gibi üç allel tespit edilmiştir. Heterozigot bireylerdeki açılma verileri, *Gdh-2*’nin tek lokus kontrolü altında olduğunu göstermiştir (Tablo:8.).

GOT: Her zaman aktif olarak boyanan üç zon tespit edilmiştir. 1. Lokusta 2 allel, 2.lokusta yine iki allel gözlenmiştir. *Got-1* ve *Got-2*’de alleller tek bant ihtiva ederken, *Got-3*’te ise üç bantlı iki allel gözlenmiştir. *Got-3*’ün bantları aynı zamanda katot yönünde de hareket etmektedir. Scaltsoyiannes ve ark. (1994) ile Doğan ve ark. (1996) Karaçamda aynı yapıyı bulduklarını bildirmişlerdir. Diğer ibrelilerde de benzer sonuçlar bulunmuştur (Strauss ve Conkle 1986; Adams ve ark.,1990; Faddy ve Conkle 1992). Açılma verileri, *Got-2*’nin ve *Got-3* ‘ün 1. allelerinde önemli oranda eksiklik olduğunu göstermektedir (<0.001). *Got-2*’nin 1. alleli için bulunan benzer sonuç, Gülbaba ve ark. (1996) tarafından yapılan Kazdağı Gökarnı çalışmasında da bulunmuştur.

6PGD: İki zon aktivitesi belirlenmiş olup, birinci zonda iki tek bantlı iki allel, ikinci lokusta ise üç allel belirlenmiştir. Her biri tek lokus kontrolünde bulunan iki

aktif zonlu bu enzim sistemi, bir çok ibrelide de bulunmuştur (Kara, 1996; Millar, 1995; .Adams ve ark. 1990 Gülbaba ve ark., 1996, Doğan ve ark., 1996) Açılma verileri ise beklenen değerlerden önemli bir sapma olmadığını göstermiştir.

MNR: Bu enzim sisteminde iki lokus, ve 1. lokusta 3 allel, 2. lokusta da 2 allel gözlenmiştir. Her biri bir lokus kontrolünde olduğu kabul edilen iki aktif zonlu bu enzim sistemi Kara, 1996 tarafından da tespit edilmiştir. Karaçamda yapılan bir çalışmada ise 3 lokuslu ve oldukça zengin bant yapısı gösterdiği belirlenmiştir (Tolun ve ark. 1997) Açılma verileri ise önemli bir sapma olmadığını göstermektedir.

PGI: Bu enzim sisteminde diğer ibrelilere benzer olarak, tek lokus kontrolünde olduğu kabul edilen iki aktif zon belirlenmiştir (Dancik, 1983; Strauss ve Conkle, 1986; Adams ve ark.,1990; Gülbaba ve ark., 1996; Doğan ve ark., 1996). Her iki aktif zonda da üçer adet allel belirlenmiştir. Bu çalışmada ise ikinci aktif zonda Kara, 1996'da bulunduğu gibi üçlü bant yapısı gözlenmiştir. Açılma verileri, *Pgi1-1/Pgi1-2* allel kombinasyonunda 1 allelinin, beklenen 1:1 oranından önemli oranda sapma olduğunu göstermektedir.

MDH: Dört aktif zon görülmesine rağmen, aktif olarak iki zon değerlendirilebilmiştir. Zaman zaman ilerideki zonla birlikte iki farklı aktif zon daha görülmesine rağmen bunlar değerlendirmeye alınamamıştır. Bu nedenle değerlendirmeye alınan iki lokusa *Mdh-3* ve *Mdh-4* olarak isim verilmiştir. Bir çok ibreli için benzer sonuçlar bildirilmiştir (Scaltsoyiannes ve ark., 1994; Gülbaba ve ark 1996; Doğan ve ark., 1996; Tolun ve ark., 1997; Millar 1985) Çalışmada görülen tek Null allel bu lokusta belirlenmiştir. Bütün populasyonlar içinde dağılımı %0.6 ile % 5 arasında bulunmuştur.

Yapılan 1:1 uygunluk (χ^2) testinde *Mdh3-1* ve *Mdh4*'te (N) allelinin beklenenden önemli oranda az olduğu görülmüştür.

PGM: İki zon aktivitesi belirlenen bu enzim sisteminde her iki lokusta da ikişer allel tespit gözlenmiştir. Benzer sonuçlar diğer ibrelilerde de bulunmuştur (Guries ve Ledig, 1978; Adams ve Joly, 1970; Kara,1996).

ACP: Her zaman değerlendirilemeyen hızlı bir zonun gerisinde yer alan ikinci aktif zon değerlendirilmeye alınmıştır. *Acp-2* olarak isimlendirilen bu lokusta iki bantlı üç allel gözlenmiştir. Diğer *Pinus* türlerinde birden dörde kadar değişik sayılarda lokus bildirilmiştir (Adams ve Jolly 1980; Strauss ve Conkle, 1986; Szmidt ve Muona, 1989; Nikolic ve Tucic,1983). *Acp2-2* ile *Acp2-3* arasında yapılan 1:1 uygunluk testi sonucunda allel 3'ün önemli oranda az olduğu görülmüştür.

ADH: İki aktif zon belirlenmiş olmasına karşın, birinci zonun her zaman net olarak gözlenememesi nedeniyle, sadece ikinci aktif zon değerlendirilebilmiştir. Bu zonda diğer çalışmalara benzer olarak iki allel belirlenmiştir (Kara, 1996). Açılma verileri ise *Adh2-1* allelinin beklenenden çok daha az olduğunu göstermektedir.

IDH: İki aktif zon bulunan bu enzim sisteminde, her zaman bant yapısı göstermemesi nedeniyle yavaş olan zon değerlendirmeye alınamamıştır. Genel olarak diğer ibrelilerde tek lokus olarak bildirilmektedir (Guries ve Ledig, 1978; O'Malley ve ark., 1979; Adams ve Joly, 1980; Yeh ve El-Kassaby,1980; Gülbaba ve ark. 1996; Doğan ve ark. 1996;Kara,1996) İbrelilerde nadir olarak polimorfik olduğu bildirilmektedir. Örneğin, white spruce (*Picea glauca*)'da bir lokusta 3 allel bazende anot tarafında ikinci lokus gözlenmektedir (King ve Dancik, 1983). Keza knobcone pine (*Pinus attenuata* Lemmon) için de buna benzer sonuç bulunmuştur (Strauss and Conkle, 1986).

PMI: İki aktif zonda ikişer allel belirlenmiş olup, knobcone pine için Strauss ve Conkle 1986 ve Karaçamda Tolun ve ark., 1997'de yapılan çalışmalar ile benzer sonuçlar göstermektedir.

Tablo:8. Heterozigot Bireylerde Endosperm Açılımları ve 1:1 Uygunluk (χ^2) Testi

Table:8. Segregation of megagametophytes in heterozygous individuals and goodness-of-fit to the expected 1:1 ratio (χ^2).

| Lokus Lokus | Allelik Kombinasyonlar Allelic Combinations | | Gözlenme Sayısı Observed No | | Sapmalar Deviation | |
|----------------|--|---|--------------------------------|-----|-----------------------|---------------------|
| | F | S | F | T | χ^2 (1) | Olasılık Probab. |
| <i>Gdh2</i> | 1 | 2 | 38 | 96 | 2.083 | 0.05-0.10 |
| <i>Gdh2</i> | 1 | 3 | 4 | 8 | 0.000 | >0.95 |
| <i>Gdh2</i> | 2 | 3 | 77 | 128 | 2.641 | 0.10-0.25 |
| <i>Got1</i> | 1 | 2 | 218 | 408 | 0.961 | 0.25-0.50 |
| <i>Got2</i> | 1 | 2 | 103 | 272 | 8.007 | <0.001 |
| <i>Got3</i> | 1 | 2 | 50 | 144 | 6.722 | <0.001 |
| <i>6nød1</i> | 1 | 2 | 439 | 896 | 0.181 | 0.50-0.75 |
| <i>6nød2</i> | 1 | 2 | 253 | 536 | 0.840 | 0.25-0.50 |
| <i>6nød2</i> | 1 | 3 | 48 | 80 | 1.600 | 0.10-0.25 |
| <i>6nød2</i> | 2 | 3 | 240 | 456 | 0.632 | 0.50-0.75 |
| <i>Mnr1</i> | 1 | 2 | 100 | 232 | 2.207 | 0.10-0.25 |
| <i>Mnr1</i> | 1 | 3 | 29 | 56 | 0.036 | 0.75-0.90 |
| <i>Mnr1</i> | 2 | 3 | 88 | 160 | 0.800 | 0.25-0.50 |
| <i>Mnr2</i> | 1 | 2 | 141 | 280 | 0.007 | >0.90 |
| <i>Pøi1</i> | 1 | 2 | 206 | 488 | 5.918 | <0.025 |
| <i>Pøi1</i> | 1 | 3 | 18 | 32 | 0.250 | 0.50-0.75 |
| <i>Pøi1</i> | 2 | 3 | 107 | 184 | 2.446 | 0.10-0.25 |
| <i>Pøi2</i> | 1 | 2 | 155 | 336 | 1.006 | 0.25-0.50 |
| <i>Pøi2</i> | 1 | 3 | 48 | 96 | 0.000 | >0.95 |
| <i>Pøi2</i> | 2 | 3 | 102 | 216 | 0.333 | 0.75-0.90 |
| <i>Mdh3</i> | 1 | 2 | 367 | 872 | 10.920 | <0.001 |
| <i>Mdh4</i> | 1 | 2 | 78 | 184 | 2.130 | 0.10-0.25 |
| <i>Mdh4</i> | 2 | N | 139 | 184 | 24.011 | <0.001 |
| <i>Pøml</i> | 1 | 2 | 285 | 528 | 1.670 | 0.10-0.25 |
| <i>Pøml</i> | 1 | 2 | 71 | 168 | 2.012 | 0.05-0.10 |
| <i>Acn2</i> | 1 | 2 | 262 | 568 | 1.704 | 0.05-0.10 |
| <i>Acn2</i> | 1 | 3 | 19 | 40 | 0.050 | 0.75-0.90 |
| <i>Acn2</i> | 2 | 3 | 137 | 232 | 3.802 | 0.05-0.10 |
| <i>Adh2</i> | 1 | 2 | 118 | 328 | 12.902 | <0.001 |
| <i>Idh2</i> | 1 | 2 | 26 | 64 | 1.125 | 0.25-0.50 |
| <i>Idh2</i> | 1 | 3 | 27 | 64 | 0.781 | 0.25-0.50 |
| <i>Idh2</i> | 2 | 3 | 16 | 48 | 2.667 | 0.10-0.25 |
| <i>Pmi1</i> | 1 | 2 | 334 | 728 | 2.473 | 0.10-0.25 |
| <i>Pmi2</i> | 1 | 2 | 435 | 864 | 0.021 | 0.75-0.90 |

F:Hızlı, S:Yavaş ilerleyen alleller

F:Fast, S:Slow migrate allelles

SKDH: Bu çalışmada, CAT'dan sonra monomorfik bulunan ikinci enzim sistemidir. Bir lokusta genel olarak tek bantlı, bazen ikili bant veren tek allel gözlenmiştir. Diğer ibrelilerde üç lokusun varlığı bildirilmektedir (Millar, 1985). Ancak Strauss ve Conkle 1985'da bu enzim sistemi çok az ya da hiç polimorfizmin olmadığı enzimlerden olarak belirtilmektedir.

Lokuslarda allel çiftleri arasında yapılan 1:1 uygunluk testi (χ^2) sonucunda bazı allellerin beklenenden az oranda görülmesinin nedeni, seleksiyon etkisi ile azalma yada bağlılık (Linkage) ile bir diğer lokusa sıkıca bağlanma olabilir.

4.2.Populasyonların Genetik Yapıları

Çalışmada 19 polimorfik lokusta 46 adet allel gözlenmiştir. Allellerin frekansları ve değişkenlik (Heterogeneity) değerleri, Tablo:9'da verilmiştir. Tek null allel *Mdh4* lokusunda gözlenmiştir. Polimorfik lokuslarda allel frekansları 0.02 (*Mdh4-3*) ile 0.96 (*Got3-2*) arasında değişmektedir. Bütün lokuslarda baskın allelin frekansı oldukça yüksektir (0.67-0.96). χ^2 testi ile değişkenliğin kontrolünde de görüldüğü gibi bütün lokuslarda allel yoğunlukları arasında önemli fark vardır.

Allel frekanslarının bir populasyonda yüksek iken diğerinde daha az olması, yani populasyonlar arasında değişkenlik göstermesi, doğal seleksiyonun alleller üzerindeki olumsuz etkisi ile veya allel yoğunluklarının populasyonlar içinde mekansal heterojenliği ile açıklanabilir (Spiess, 1977).

F_{IS} değeri her bir populasyon içinde, F_{IT} ise populasyonların tümünde Hardy-Weinberg dengesinde beklenen heterozigotluk düzeyinden olan sapmanın derecesini vermektedir. F_{IS} değeri ortalama 0.187 bulunmuş olup, buna göre de gözlenen heterozigotluk beklenenden daha düşüktür.

Tablo:9. Populasyonlarda Allel Frekansları ve Değişkenlik (Heterogeneity) Değerleri
Table:9. Allele frequencies of populations and Heterogeneity

| | | | POPULASYONLAR <i>Populations</i> | | | | | | Değişkenlik <i>Heterogeneity</i> | | |
|-------|-------|--------|-------------------------------------|--------|----------|---------|---------|---------|-------------------------------------|----|------|
| Enzim | Lokus | | Asar | Yenice | Baharlar | Edremit | Çamlica | Karaköy | χ^2 | df | prob |
| GDH | 2 | Allel1 | 0.0250 | 0.0850 | 0.0310 | 0.0480 | 0.0360 | 0.1300 | 68.75 | 10 | 0 |
| | | Allel2 | 0.9500 | 0.8830 | 0.9470 | 0.8990 | 0.9250 | 0.8050 | | | |
| | | Allel3 | 0.0250 | 0.0320 | 0.0220 | 0.0530 | 0.0390 | 0.0650 | | | |
| GOT | 1 | Allel1 | 0.8530 | 0.8750 | 0.9410 | 0.8110 | 0.9140 | 0.9210 | 40.99 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.1470 | 0.1250 | 0.0590 | 0.1890 | 0.0860 | 0.0790 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| | 2 | Allel1 | 0.0810 | 0.0560 | 0.0690 | 0.0590 | 0.0480 | 0.0820 | 5.55 | 5 | 0.35 |
| | | Allel2 | 0.9190 | 0.9440 | 0.9310 | 0.9410 | 0.9520 | 0.9180 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| | 3 | Allel1 | 0.0420 | 0.0400 | 0.0190 | 0.0690 | 0.0630 | 0.0000 | 32.69 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.9580 | 0.9600 | 0.9810 | 0.9310 | 0.9380 | 1.0000 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| 6PGD | 1 | Allel1 | 0.6920 | 0.6410 | 0.5630 | 0.5900 | 0.5710 | 0.4240 | 61.65 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.3080 | 0.3590 | 0.4380 | 0.4100 | 0.4290 | 0.5760 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| | 2 | Allel1 | 0.1170 | 0.1220 | 0.2250 | 0.2340 | 0.2680 | 0.2830 | 79.38 | 10 | 0 |
| | | Allel2 | 0.7330 | 0.7310 | 0.7000 | 0.6890 | 0.5800 | 0.5710 | | | |
| | | Allel3 | 0.1500 | 0.1460 | 0.0750 | 0.0770 | 0.1520 | 0.1470 | | | |
| MNR | 1 | Allel1 | 0.0830 | 0.1280 | 0.1060 | 0.1650 | 0.1520 | 0.1630 | 20.67 | 10 | 0.02 |
| | | Allel2 | 0.8440 | 0.8010 | 0.8380 | 0.7870 | 0.7950 | 0.7930 | | | |
| | | Allel3 | 0.0720 | 0.0720 | 0.0560 | 0.0480 | 0.0540 | 0.0430 | | | |
| | 2 | Allel1 | 0.9310 | 0.8830 | 0.9280 | 0.8430 | 0.7230 | 0.7040 | 126.74 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.0690 | 0.1170 | 0.0720 | 0.1570 | 0.2770 | 0.2960 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| PGI | 1 | Allel1 | 0.1310 | 0.1460 | 0.1590 | 0.2390 | 0.1130 | 0.2170 | 79.69 | 10 | 0 |
| | | Allel2 | 0.8500 | 0.8110 | 0.7720 | 0.6360 | 0.8270 | 0.6980 | | | |
| | | Allel3 | 0.0190 | 0.0430 | 0.0690 | 0.1250 | 0.0600 | 0.0840 | | | |

| | | | | | | | | | | | |
|-----|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----|---|
| | 2 | Allel1 | 0.1360 | 0.1250 | 0.0840 | 0.1520 | 0.1220 | 0.1630 | 29.68 | 10 | 0 |
| | | Allel2 | 0.7440 | 0.7370 | 0.8410 | 0.7740 | 0.8040 | 0.7150 | | | |
| | | Allel3 | 0.1190 | 0.1380 | 0.0750 | 0.0740 | 0.0740 | 0.1220 | | | |
| MDH | 3 | Allel1 | 0.2530 | 0.2690 | 0.2660 | 0.1860 | 0.2530 | 0.4920 | 99.44 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.7470 | 0.7310 | 0.7340 | 0.8140 | 0.7470 | 0.5080 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| | 4 | Allel1 | 0.0280 | 0.0660 | 0.0560 | 0.0080 | 0.0180 | 0.0650 | 51.31 | 10 | 0 |
| | | Allel2 | 0.9220 | 0.9070 | 0.9380 | 0.9810 | 0.9640 | 0.9190 | | | |
| | | Allel3 | 0.0500 | 0.0270 | 0.0060 | 0.0110 | 0.0180 | 0.0160 | | | |
| PGM | 1 | Allel1 | 0.7920 | 0.7230 | 0.8470 | 0.7420 | 0.7530 | 0.6360 | 45.86 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.2080 | 0.2770 | 0.1530 | 0.2580 | 0.2470 | 0.3640 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| | 2 | Allel1 | 0.1060 | 0.0740 | 0.0720 | 0.0320 | 0.1490 | 0.1300 | 38.98 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.8940 | 0.9260 | 0.9280 | 0.9680 | 0.8510 | 0.8700 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| ACP | 2 | Allel1 | 0.1170 | 0.1170 | 0.2780 | 0.3460 | 0.3360 | 0.4320 | 193.27 | 10 | 0 |
| | | Allel2 | 0.8250 | 0.8320 | 0.6590 | 0.6380 | 0.5600 | 0.4840 | | | |
| | | Allel3 | 0.0580 | 0.0510 | 0.0630 | 0.0160 | 0.1040 | 0.0840 | | | |
| ADH | 2 | Allel1 | 0.0780 | 0.0900 | 0.0940 | 0.0350 | 0.0600 | 0.1410 | 31.38 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.9220 | 0.9100 | 0.9060 | 0.9650 | 0.9400 | 0.8590 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| IDH | 1 | Allel1 | 0.6750 | 0.7530 | 0.8690 | 0.8030 | 0.8750 | 0.9780 | 197.5 | 10 | 0 |
| | | Allel2 | 0.2190 | 0.1760 | 0.1310 | 0.1890 | 0.0510 | 0.0220 | | | |
| | | Allel3 | 0.1060 | 0.0720 | 0.0000 | 0.0080 | 0.0740 | 0.0000 | | | |
| PMI | 1 | Allel1 | 0.8390 | 0.8240 | 0.6970 | 0.5690 | 0.6760 | 0.5540 | 127.39 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.1610 | 0.1760 | 0.3030 | 0.4310 | 0.3240 | 0.4460 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |
| | 2 | Allel1 | 0.2500 | 0.2470 | 0.2970 | 0.3270 | 0.5120 | 0.4050 | 81.65 | 5 | 0 |
| | | Allel2 | 0.7500 | 0.7530 | 0.7030 | 0.6730 | 0.4880 | 0.5950 | | | |
| | | Allel3 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | | | |

Populasyonların genetik yapılarını incelemek için H_e , H_o ve Wright'ın F Değerleri kullanılmıştır (Tablo:10 ve 11). Ortalama beklenen heterozigotluk oranı, $H_e=0.285$ (0.036) iken ortalama gözlenen heterozigotluk değeri $H_o=0.229$ (0.036) olarak hesaplanmıştır. Tüm populasyonlarda da $H_e < H_o$ olarak bulunmuştur. Hamrick ve ark. (1981) açık tohumlularda ortalama heterozigotluk oranını 0.270 olarak bildirmişlerdir. Tüm ibreliler için ise bu değer ortalama 0.151 olarak bildirilmektedir (Hamrick ve ark., 1992).

F_{IS} en yüksek değerini Çamlıca (0.301), en düşük değerini ise Asar (0.078) populasyonunda almaktadır. Genel olarak tüm lokuslarda gözlenen heterozigotluk beklenenden düşük çıkmıştır. Sadece *6Pgd2* ve *Mdh4* lokuslarında gözlenen heterozigotluğun beklenen heterozigotluktan daha yüksek olduğu görülmektedir. Benzer sonuçlar F_{IT} (=0.209) değeri incelendiğinde de görülmekte ve bu değer F_{IS} değerinden daha da büyüktür. Populasyonlar arası farklılığa lokusların katkılarını belirten ya da populasyonlar arasındaki gen farklılaşmasının derecesini gösteren F_{ST} değeri ise, en düşük *Got-2* (0.002) lokusunda, en yüksek *Mnr-2* ve *Acp-2'* de (0.054) bulunmuştur.

Kızılcamin Antalya yöresindeki 9 populasyon için yapılan izoenzim çeşitliliğinin araştırılması çalışmasında da $H_e=0.219$ ve $H_o=0.263$, $F_{IS}=0.167$ ve $F_{IT}=0.211$ olarak bulunmuştur (Kara,1996).

Gözlenen heterozigotluğun beklenen heterozigotluktan düşük olması, yani homozigotlukta fazlalık olması, genel olarak dışarıdan döllenmiş bitkilerde gözlenir (Brown, 1979). Bunun nedeni, mekansal heterojenlik (Wahlund etkisi), benzer genotipler arasında eşleşme, akrabalar arası eşleşme, seleksiyonun homozigotların lehine olması veya bu kadar yüksek genetik çeşitliliğin populasyon içinde homojen olmamasından kaynaklanan örnekleme hatasından kaynaklanıyor olabilir (El-Kassaby ve ark.,1987; Fady ve Conkle, 1993).

Tablo:10. Altı Populasyonda Polimorfik Lokus Oranı (P), Lokus Başına Düşen Ortalama Allel ve Etkili Allel Sayısı (A ve E), Gözlenen ve Beklenen Heterozigotluk Değerleri (H_o ve H_e) (%95)

Table:10. In 6 Populations, Percentage of polimorphic locus (P), mean number of alleles and effective alleles per locus (A and E), Observed and Expected Heterozygosity (H_o and H_e) (% 95)

| Populasyon | Ort.Örnek Sayısı | A | E | PL | P | H_o | H_e | F_{IS} |
|-----------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------|--------------|----------------------|----------------------|--------------|
| Population | Mean sample size | | | | | | | |
| Asar | 45 (0.0) | 2.29 (0.64) | 1.37 (0.27) | 19 | 90.48 | 0.246 (0.035) | 0.262 (0.031) | 0.078 |
| Yenice | 47 (0.0) | 2.29 (0.64) | 1.39 (0.26) | 19 | 90.48 | 0.247 (0.035) | 0.282 (0.031) | 0.146 |
| Baharlar | 40 (0.0) | 2.24 (0.62) | 1.38 (0.32) | 19 | 85.71 | 0.213 (0.040) | 0.254 (0.036) | 0.196 |
| Edremit | 48 (0.0) | 2.29 (0.64) | 1.46 (0.36) | 19 | 80.95 | 0.219 (0.032) | 0.290 (0.038) | 0.219 |
| Camlıca | 42 (0.0) | 2.29 (0.64) | 1.48 (0.40) | 19 | 90.48 | 0.204 (0.032) | 0.297 (0.038) | 0.301 |
| Karaköy | 46 (0.0) | 2.19 (0.68) | 1.57 (0.44) | 18 | 80.95 | 0.245 (0.044) | 0.323 (0.044) | 0.295 |
| ORTALAMA (Mean) | 44.67 (0.0) | 2.26 (0.14) | 1.44 (0.34) | 18.8 | 86.51 | 0.229 (0.036) | 0.285 (0.036) | 0.187 |

Gözlenen heterozigotluğun beklenen heterozigotluktan düşük olmasına rağmen genetik çeşitliliğin oldukça yüksek olması, populasyonların homojen olmadığını diğer bir göstergesidir. Dolayısıyla Kızılcımda populasyonları altpopulasyonlar şeklinde ayırmak, hatta genetik çeşitliliğin % 97.2'sinin populasyon içinden kaynaklandığı düşünülecek olursa farklılıkları birey düzeyinde düşünmek gerekecektir.

19 polimorfik lokusta elde edilen sonuçlara göre, genetik çeşitlilik büyük oranda populasyon içinden bulunmuştur.(Tablo:12). Ortalama genetik çeşitlilik değeri $H_T=0.2763$ (0.0261) olarak bulunmuştur. $H_s=\%97.2$ 'si populasyon içinden kaynaklanmaktadır (Tablo:12). Kızılcımda ile yapılan diğer çalışmalarda bu değere çok yakın sonuçlara ulaşılmıştır (Işık, 1986;Işık ve Kaya, 1995;Kara, 1996). Çamlarda yapılan diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Genetik çeşitlilik, *Pinus contorta*'da %96, *P. rigida*'da %97 oranında populasyon içinden kaynaklanmaktadır (Nikolic and Tucic, 1983). Populasyonlar arası genetik farklılığın az olması, bu türün geniş alanlarda

yayılış göstermesi ve rüzgarla tozlaşma sonucu polen hareketini engelleyecek önemli bir fiziki engelin olmamasıdır. Populasyon içi genetik çeşitliliğin yüksek olması ise, dölleme mekanizmalarının yoğun olarak etkili polen mesafesi olan bir ağaç boyu içinde geliştiğini göstermektedir. Bunun sonucunda da populasyon içinde genetik homojenite olmamakta ve beklenen değerlerden sapmalar görülmektedir. Bu özelliği ile de değişik şartlara çok kolay uyum gösterebilmektedir.

Her bir kuşaktaki gen akış oranını gösteren $N_e m$ değeri ise ortalama 7.54 olarak bulunmuştur. Bu değer dış döllek bitkilerin ortalamasından (4.750) bir hayli yüksektir (Hamrick, 1989). Kızılcamda rüzgarla tozlaştığı için uzak mesafelerde gen akımı söz konusudur. Etkili polen mesafesi göz önüne alınırsa, populasyon içinde bir hayli yoğun dölleme mekanizmaları bulunmaktadır. Bu nedenle Kızılcamda populasyon içi genetik çeşitlilik, populasyonlar arasındakinden daha dinamiktir ve bunun sonucunda da populasyon içi genetik çeşitlilik daha yüksektir.

Tablo:11. Populasyonlarda F-Değerleri**Table:11. F- Values of populations**

| Lokus | F _{IS} | | | | | | Ort. | F _{IT} | F _{ST} |
|---------------|-----------------|-------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-----------------|-----------------|
| Locus | Asar | Yeni- ce | Bahar- lar | Edre- mit | Çam- lıca | Kara- köy | Mean | | |
| <i>Gdh-2</i> | -0.053 | 0.223 | -0.050 | 0.503 | 0.695 | 0.760 | 0.436 | 0.448 | 0.022 |
| <i>Got-1</i> | -0.015 | -0.160 | -0.067 | 0.043 | 0.378 | 0.227 | 0.054 | 0.071 | 0.018 |
| <i>Got-2</i> | -0.098 | 0.228 | 0.530 | -0.091 | 0.063 | 0.138 | 0.115 | 0.117 | 0.002 |
| <i>Got-3</i> | 0.365 | 0.366 | -0.026 | 0.142 | 0.282 | ... | 0.243 | 0.258 | 0.020 |
| <i>öpgd-1</i> | -0.283 | -0.014 | -0.182 | -0.069 | 0.114 | 0.134 | 0.082 | 0.104 | 0.024 |
| <i>öpgd-2</i> | -0.037 | 0.252 | 0.378 | 0.273 | 0.598 | 0.434 | -0.036 | -0.017 | 0.019 |
| <i>Mnr-1</i> | 0.110 | 0.427 | 0.640 | 0.447 | 0.581 | 0.528 | 0.352 | 0.355 | 0.006 |
| <i>Mnr-2</i> | 0.225 | -0.088 | 0.080 | 0.304 | 0.203 | 0.354 | 0.496 | 0.523 | 0.054 |
| <i>Pgi-1</i> | -0.095 | -0.049 | 0.387 | 0.142 | 0.270 | 0.362 | 0.152 | 0.168 | 0.018 |
| <i>Pgi-2</i> | -0.014 | -0.107 | -0.026 | 0.330 | 0.222 | -0.130 | 0.168 | 0.175 | 0.009 |
| <i>Mdh-3</i> | -0.082 | -0.127 | -0.069 | -0.035 | -0.071 | 0.158 | 0.017 | 0.052 | 0.035 |
| <i>Mdh-4</i> | -0.084 | 0.149 | 0.357 | 0.358 | 0.507 | 0.493 | -0.044 | -0.031 | 0.013 |
| <i>Pgm-1</i> | -0.001 | 0.453 | 0.360 | 0.478 | 0.727 | 0.373 | 0.322 | 0.338 | 0.024 |
| <i>Pgm-2</i> | 0.775 | 0.021 | 0.175 | 0.181 | 0.373 | -0.086 | 0.555 | 0.563 | 0.018 |
| <i>Acp-2</i> | 0.184 | 0.073 | 0.124 | -0.055 | -0.105 | 0.495 | 0.146 | 0.192 | 0.054 |
| <i>Adh-2</i> | 0.136 | 0.837 | 0.895 | 0.743 | 0.451 | 1.000 | 0.151 | 0.159 | 0.009 |
| <i>Idh-1</i> | 0.466 | 0.175 | -0.105 | 0.056 | 0.290 | 0.154 | 0.680 | 0.695 | 0.048 |
| <i>Pmi-1</i> | 0.038 | 0.021 | 0.286 | 0.224 | -0.048 | -0.113 | 0.104 | 0.147 | 0.048 |
| <i>Pmi-2</i> | -0.056 | 0.088 | 0.041 | 0.187 | 0.209 | 0.028 | 0.049 | 0.088 | 0.041 |
| Mean | 0.078 | 0.146 | 0.196 | 0.219 | 0.301 | 0.295 | 0.187 | 0.209 | 0.028 |

Tablo:12. Kazdağlarında Kızılcım Populasyonlarında Genetik Çeşitliliğin Yapısı

Table:12. Pattern of genetic diversity in Kazdağları-Turkish red pine populations

| Lokus Locus | Örnek Büyüküğü Sample size | H _T | H _S | % H _S | D _{ST} | %G _{ST} | N _e m |
|-------------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|
| <i>Cat</i> | 2136 | 0.0000 | 0.0000 | 0.00 | 0.0000 | **** | **** |
| <i>Gdh-2</i> | 2136 | 0.1823 | 0.1782 | 97.75 | 0.0041 | 2.25 | 10.87 |
| <i>Got-1</i> | 2136 | 0.2024 | 0.1985 | 98.07 | 0.0039 | 1.95 | 12.60 |
| <i>Got-2</i> | 2136 | 0.1224 | 0.1220 | 99.67 | 0.0004 | 0.26 | 95.79 |
| <i>Got-3</i> | 2136 | 0.0743 | 0.0732 | 98.52 | 0.0011 | 1.52 | 16.15 |
| <i>öpg-1</i> | 2136 | 0.4872 | 0.4735 | 97.19 | 0.0137 | 2.81 | 8.65 |
| <i>öpg-2</i> | 2136 | 0.4957 | 0.4858 | 98.00 | 0.0099 | 2.01 | 12.19 |
| <i>Mnr-1</i> | 2136 | 0.3235 | 0.3220 | 99.54 | 0.0015 | 0.48 | 52.10 |
| <i>Mnr-2</i> | 2136 | 0.2752 | 0.2585 | 93.93 | 0.0167 | 6.04 | 3.89 |
| <i>Pgi-1</i> | 2136 | 0.3811 | 0.3722 | 97.66 | 0.0089 | 2.34 | 10.43 |
| <i>Pgi-2</i> | 2136 | 0.3815 | 0.3784 | 99.19 | 0.0031 | 0.83 | 29.90 |
| <i>Mdh-3</i> | 2136 | 0.4087 | 0.3903 | 95.50 | 0.0184 | 4.51 | 5.30 |
| <i>Mdh-4</i> | 2136 | 0.1172 | 0.1158 | 98.81 | 0.0014 | 1.23 | 20.04 |
| <i>Pgm-1</i> | 2136 | 0.3762 | 0.3679 | 97.79 | 0.0083 | 2.21 | 11.07 |
| <i>Pgm-2</i> | 2136 | 0.1701 | 0.1670 | 98.18 | 0.0031 | 1.80 | 13.63 |
| <i>Acp-2</i> | 2136 | 0.4786 | 0.4475 | 93.50 | 0.0311 | 6.49 | 3.60 |
| <i>Adh-2</i> | 2136 | 0.1520 | 0.1499 | 98.62 | 0.0021 | 1.42 | 17.31 |
| <i>Idh-1</i> | 2136 | 0.2995 | 0.2831 | 94.52 | 0.0164 | 5.47 | 4.32 |
| <i>Pmi-1</i> | 2136 | 0.4253 | 0.4008 | 94.24 | 0.0245 | 5.76 | 4.09 |
| <i>Pmi-2</i> | 2136 | 0.4486 | 0.4311 | 96.10 | 0.0175 | 3.90 | 6.16 |
| <i>Skdh</i> | 2136 | 0.0000 | 0.0000 | 0.000 | 0.0000 | **** | **** |
| Ort (<i>Mean</i>) | 2136 | 0.2763 | 0.2674 | 97.20 | 0.0089 | 2.80 | 7.54 |
| Standart Sp. <i>St.Dev</i> | | 0.0261 | 0.0240 | | | | |

H_T :Toplam genetik çeşitlilik (Total Genetic Diversity)

H_S :Populasyon içi genetik çeşitlilik (Genetic Diversity within Populations)

%H_S :Yüzde Populasyon içi genetik çeşitlilik (Percentage of H_S)

D_{ST} :Populasyonlar arası genetik çeşitlilik (Genetic Diversity Among Populations)

G_{ST} :Genetik farklılaşma katsayısı (Coefficient of Gene differentiation)

N_em :Her bir kuşaktaki gen akış oranı (Gene flow rate)

4.3.Populasyonlarda Genetik Mesafe

Nei (1978)'e göre, Kazdağlarından örneklenen 6 doğal Kızılcım populasyonu arasındaki genetik mesafeler hesaplanmıştır (Tablo:13 ve Şekil:3.). Ortalama genetik mesafe 0.0139 olarak bulunmuştur. Yenice ile Asar populasyonları arasında fark bulunamamıştır. Dolayısıyla bu iki populasyon benzer kabul edilmiştir. En büyük mesafe ise Asar ile Karaköy populasyonları arasında bulunmuştur (0.0360).

Bu verilerle çizilen diyagrama (Şekil:3) göre;

-Benzer ekolojik koşullardaki Asar ve Yenice populasyonları birbirine benzer,

-Kazdağlarının denize bakan güney bakısından alınan Edremit, Baharlar ve Çamlıca populasyonları bir grup yapmaktadır.

-Ekolojik açıdan tüm bu populasyonlardan farklı bir konumda yer alan ve Kazdağlarının kuzey batı bakısından örneklenen Karaköy populasyonu ise diğerlerinden ayrılmaktadır.

Bu çalışma ile elde edilen bu gruplaşmalar, ekolojik verilerle de karşılaştırıldığında benzer ekolojik alanlardan gelen populasyonlar arasında pek fazla bir fark olmadığı açıkça görülmektedir.

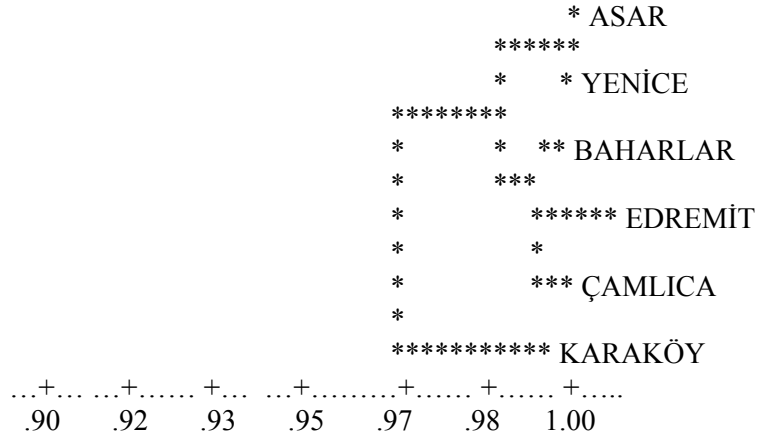
Tablo:13. Populasyonların Yansız Genetik Mesafe ve Benzerlikleri (Nei 1978)

Table:13.Nei (1978) Unbiased genetic identity and distance among populations

| Populasyonlar Populations | Asar | Yenice | Baharlar | Edremit | Çamlıca | Karaköy |
|------------------------------|--------|--------|----------|---------|---------|---------|
| Asar | ***** | 0.0011 | 0.0077 | 0.0140 | 0.0180 | 0.0360 |
| Yenice | 0.9989 | ***** | 0.0063 | 0.0115 | 0.0153 | 0.0284 |
| Baharlar | 0.9923 | 0.9937 | ***** | 0.0056 | 0.0081 | 0.0174 |
| Edremit | 0.9860 | 0.9885 | 0.9944 | ***** | 0.0094 | 0.0175 |
| Çamlıca | 0.9820 | 0.9847 | 0.9919 | 0.9906 | ***** | 0.0115 |
| Karaköy | 0.9640 | 0.9721 | 0.9826 | 0.9825 | 0.9885 | ***** |

Üst Kısım: Yansız Genetik Mesafe (Unbiased Genetic Distance)

Alt Kısım: Yansız Genetik Benzerlikler (Unbiased Genetic Identity)



Şekil:3. Altı Populasyonun Benzerlik Diyagramı

Figure:3.Similarity diagram of 6 populations

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünya Bankasınca desteklenen GEF-Genetik Çeşitliliğin Yerinde Korunması Projesi kapsamında yapılan bu çalışmayla, Kazdağlarındaki hedef türlerden olan Kızılçam populasyonlarında yapılan izoenzim analizleri ile populasyonların genetik yapıları ortaya konulmuş ve GEKYA'lar belirlenmeye çalışılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre Kazdağları yöresinde Kızılçamda genetik çeşitlilik oldukça yüksek bulunmuştur. Lokuslardaki ortalama allel sayısı (en az 2.19, en fazla 2.29) açısından populasyonlar arasında fazla fark olmamasına rağmen etkili allel sayısı farklıdır (1.37-1.57). Karaköy populasyonu polimorfik lokuslardaki ortalama allel sayısının en az olan (2.19 (0.14)) populasyon olmasına rağmen etkili allel sayısının en fazla olduğu populasyondur (1.57 (0.44)). Bunun yanında $H_e=0.323$ (0.044) ve $H_o=0.245$ (0.044) de en yüksek olduğu populasyonlardan birisidir. F_{IS} değerinin yüksek olması da (0.295) dikkat çekicidir.

Hardy-Weinberg şartlarında heterozigot bireylerde yapılan 1:1 uygunluk testi sonuçları ve allellerin populasyonlar içindeki frekansları incelendiğinde gözlenen allellerin beklenenden önemli oranda sapmalar gösterdiği belirlenmiştir (Tablo:9.). Tahmin edilen parametreler açısından aralarında pek bir fark olmamasına karşın F_{IS} değerinin Yenice populasyonunda iki katına yakın çıkması, örnekleme hatasını gündeme getirmektedir. Ancak bunun başka nedenlerden kaynaklanıp kaynaklanmadığı fidan karakteristikleri gibi kantitatif karakterler üzerinde yapılacak çalışmalarla tüm populasyonlar için incelenmelidir.

Gözlenen heterozigotluk değeri, Kazdağlarının Kuzey bakısında kalan Asar, Yenice ve Karaköy populasyonlarında (Ortalaması 0.246 (0.038)), Güney bakıdaki Edremit, Baharlar ve Çamlıca populasyonlarından (Ortalaması 0.212

(0.035)) daha yüksektir. Bu da kuzey bakıldaki nemli koşullar nedeniyle, doğal seleksiyon baskısının bazı alleller üzerinde daha az etkili olduğunu göstermektedir. Genel olarak tüm populasyonlar için bulunan ortalama beklenen heterozigotluk oranı $H_e=0.285$ (0.036) diğer tüm ibreliler için bulunan ortalamadan yüksektir. Ancak yapılan diğer çalışmalar ve açık tohumlular için bulunan değerle uyum içerisindedir.

Nei (1978)'e göre yapılan genetik benzerlik ve mesafe testinde populasyonlar gruplandırılmıştır. Bu verilerle çizilen diyagrama göre;

-Benzer ekolojik koşullardaki Asar ve Yenice populasyonları birbirine benzer ancak Yenice populasyonu lokuslardaki etkili allel sayısı ve gözlenen heterozigotluğun daha yüksek olması nedeniyle GEKYA olmaya daha uygun gibi görünmesine rağmen, Asar'ın Fiksasyon indeksi değeri daha düşük olduğu için Asar populasyonu tercih edilebilir.

-Kazdağlarının denize bakan güney bakısından alınan Edremit, Baharlar ve Çamlıca populasyonları bir grup yapmaktadır. Etkili allel sayısı en fazla Çamlıca'da bulunmasına karşın, H_o en düşük olan ve Fiksasyon indeksi en yüksek olan bu populasyondur. Muhafaza kolaylığı, insan baskısının azlığı gibi faktörler de gözönüne alındığında en uygun populasyonun Baharlar olduğu düşünülebilir.

- H_e açısından en yüksek populasyon olan ve ekolojik açıdan tüm populasyonlardan farklı bir konumda yer alan ve Kazdağlarının kuzey batı bakısından örneklenen Karaköy populasyonu ise diğerlerinden farklılık göstermektedir. Bu nedenle GEKYA'lardan birisi bu populasyon içinden seçilmelidir.

Yapılan değerlendirmelerde F_{IS} değerlerinin oldukça yüksek bulunması nedeniyle bazı tereddütler bulunsada, Kazdağlarında Kızılçamın kesintisiz yayılış göstermesi, diğer parametrelerin birbiriyle ve bundan önceki yapılmış çalışmalarla uyum göstermesi bunun büyük bir ihtimalle örnekleme hatasından

kaynaklanabileceğini göstermektedir. Ancak, bu riskide azaltmak için kantitatif karakterler üzerinde yapılacak çalışmalarla desteklenmelidir.

GEKYA'ların belirlenmesinde yukarıda bahsedilen değerlendirmelerin yanında biyolojik çeşitliliğin durumu, ekolojik koşullar, mevcut fauna ve flora, diğer hedef türlerle birlikteliği, sosyal baskı, popülasyonun durumu, konumu, çeşitli zararlıların varlığı yokluğu, ulaşılabilirliği, korunabilirliği, yönetim imkanları, vb faktörlerde göz önünde bulundurulmalıdır. Bunun yanında bu GEKYA'larda belirlenen mevcut durumun zaman içindeki değişimini izleyecek metodlar belirlenmeli ve çalışmalar planlanmalıdır.

ÖZET

Bu çalışma, Kazdağlarında hedef orman ağacı türlerinden biri olan Kızılcımda, belirlenmiş altı popülasyon içinde Gen Koruma ve Yönetim Alanları (GEKYA)nın izoenzim analizleri ile belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla bu altı popülasyondan tohumlar, 1994 yılında Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Enstitüsünce toplanmıştır. Toplanan tohumlarla Ege Ormancılık Araştırma Enstitüsü İzoenzim Analizleri Laboratuvarında analizler yapılmıştır. Laboratuvarında bu altı popülasyona ait 267 ağacın besi dokularında (endospermeleri) analizler yapılmıştır. Yapılan analizlerde 13 enzim sisteminde çalışılmış ve 27 adet lokus gözlenmiştir. Ancak bunlardan 21 adet lokus değerlendirmeye alınabilmiştir. Bu lokuslardan 19 adedi polimorfik, 2 adedi ise monomorfik yapı göstermektedir.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda gözlenen heterozigotluğun beklenen heterozigotluktan daha az olduğu görülmüştür ($H_e=0.285$ (0.036) ve $H_o=0.229$ (0.036)). Ortalama F_{IS} değerinin 0.205 olarak pozitif yönde bulunması da bunu desteklemektedir. Lokuslarda yapılan 1:1 uygunluk testlerine (χ^2) göre, bazılarında beklenenden önemli oranda sapmalar gözlenmiştir. Bunun nedeni, Popülasyon içi genetik çeşitliliğin oldukça yüksek ve dinamik olması, yani bir yeknesaklığın olmamasından kaynaklanan örnekleme hatası, akrabalar arası döllenmelerin yoğun olarak meydana gelmesi, bağlılık (linkage) veya allel yoğunluklarının popülasyon içinde lokal olarak heterojenlik göstermesi olabilir.

Gözlenen heterozigotluk değeri, Kazdağlarının Kuzey bakısında kalan Asar, Yenice ve Karaköy popülasyonlarında (Ortalaması 0.246 (0.038)), Güney bakıdaki Edremit, Baharlar ve Çamlıca popülasyonlarından (Ortalaması 0.212 (0.035)) daha yüksektir. Kuzey bakılardaki nemli koşullar nedeniyle, seleksiyon baskısının alleller üzerinde daha az etkili olması sonucunda genetik çeşitliliğin yüksek olmasını sağlamıştır. Genel olarak tüm popülasyonlar için bulunan ortalama $H_e=0.285$ (0.036) diğer tüm ibreliler için bulunan ortalamadan

yüksektir. Ancak Kızılcamda yapılan diğer çalışmalar ve açık tohumlular için bulunan değerle uyum içerisindedir.

Toplam genetik çeşitlilik büyük oranda populasyon içi genetik çeşitlilikten kaynaklanmaktadır (% 97.20). Kızılcamda bu güne kadar yapılan çalışmalarla da bu desteklenmektedir ki ıslah çalışmaları için çok iyi bir göstergedir.

Nei (1978)'e göre populasyonlar arası genetik mesafeler ve benzerlikler incelenmiştir. Buna göre Kazdağlarının benzer ekolojik koşullarındaki Asar ve Yenice populasyonları birbirine benzer, denize bakan güney bakışından alınan Edremit, Baharlar ve Çamlıca populasyonları bir grup yapmakta, ekolojik açıdan tüm bu populasyonlardan farklı bir konumda yer alan ve Kazdağlarının kuzey batı bakışından örneklenen Karaköy populasyonu ise diğerlerinden ayrılmaktadır. Populasyonlar arası genetik mesafeler ise en fazla 0.0360 olarak bulunmuş olup, Karaköy ile Asar populasyonu arasındadır. Ortalama genetik mesafe ise 0.0139'dur.

Yapılan analizlerin değerlendirilmesi sonucu, populasyonların genetik yapıları ortaya konulmuş ve GEKYA için aday alanlar belirlenmeye çalışılmıştır. Buna göre; Asar ve Yenice populasyonları içinde bir adet, Edremit, Baharlar ve Çamlıca populasyonlarından bir adet ve Karaköy populasyonundan bir adet olmak üzere 3 adet GEKYA ayrılması uygun olacaktır. Yapılan değerlendirmelerde F_{IS} değerlerinin yüksek bulunması nedeniyle bazı tereddütler bulunsa da, Kazdağlarında Kızılcamın izole populasyonlar olmaması, diğer parametrelerin birbiriyle ve bundan önceki yapılmış çalışmalarla uyum göstermesi bunun büyük bir ihtimalle örnekleme hatasından kaynaklanabileceğini göstermektedir.

GEKYA'ların belirlenmesinde yukarıda bahsedilen değerlendirmelerin yanında biyolojik çeşitliliğin durumu, ekolojik koşullar, mevcut fauna ve flora, diğer hedef türlerle birlikteliği, sosyal baskı, populasyonun durumu, konumu,

çeşitli zararlıların varlığı yokluğu, ulaşılabilirliği, korunabilirliği, yönetim imkanları, vb faktörler de gözönünde bulundurulmalıdır. Ayrıca bu alanların ex-situ muhafaza yöntemleri ile korunması herhangi bir olumsuz durumda kaynağın kaybedilmesini önleyecektir. Bunun yanında bu GEKYA'larda mevcut durum izlenmeli ve değişiklikler belirlenmelidir.

SUMMARY

This study was carried out to determine the Gene Management Zones (GMZ) in six natural populations of Turkish Red Pine (*Pinus brutia* Ten.) which was selected as a target forest species in Kazdağları Area. For this purpose, Forest Trees and Seeds Breeding Institute collected seeds of the trees from these populations in 1994. Collected seeds were analyzed in Egean Forest Research Institute Isozyme Analysis Lab. The megagametophytes of the seeds of 267 trees, belong to these populations, were analyzed in 13 enzyme systems. Twenty-one loci were examined and 19 of them were found polymorphic.

The results of analysis showed that observed heterozygosity is less than expected heterozygosity ($H_e=0.285$ (0.036) and $H_o=0.229$ (0.036)). Positive mean F_{IS} value (0.205) also supports that. According to the test of goodness-of-fit to the expected 1:1 ratio (χ^2) significant deviation was observed in some loci. Sampling error, which is caused by fairly high and dynamic genetic diversity within population or lack of homogeneity, mating of close relatives, linkage and local heterogeneity of alleles within populations can give rise to that.

Observed heterozygosity of northern side populations (Asar, Yenice and Karaköy populations, mean=0.246 (0.038)) of Kazdağı area is higher than Southern side populations (Edremit, Baharlar and Çamlıca population, Mean=0.212 (0.035)). Because of the more humidity conditions in northern side is caused that the high genetic diversity. In generally, mean $H_e=0.285$ (0.036) for all populations was found higher than mean of the all Conifers, but this result is supported by the other Turkish Red Pine and gymnospermae studies.

Genetic diversity within population (% 97.20) shares most of the total genetic diversity (H_T). This is a good indicator for breeding of Turkish Red Pine and the other studies are supporting it.

Genetic similarity and identity were checked with the method given in Nei (1978). According to the result, Asar and Yenice populations, which have the same ecological conditions were found similar, the populations from southern side (Edremit, Baharlar and Çamlıca) are in same group and Karaköy population which is from different ecological conditions in south-western side of Kazdagları is separate from the others. Genetic distance between populations was found max. 0.0360 and mean 0.0139.

As a result, we tried to examine the genetic structure of populations and candidate areas for GEKYA. Three GEKYA areas can be suggested, one from Asar and Yenice populations, one from Edremit, Baharlar and Çamlıca populations and another one from Karaköy population. There are some hesitations due to the high F_{IS} values. But Turkish Red Pine populations are continuous populations in Kazdagları area and the results of these studies are in harmony with the other results of studies. Therefore, this value should be supposed a sampling error. In order to reduce the risk, studies on quantitative characters should be done

There are many factors should be considered during the determination of the GEKYA areas; such as biological diversity, ecological conditions, present flora and fauna, coexistence the other target species, social pressure, existence and non-existence of harmful animal and insects, accessibility, protection, management, etc. Ex-situ conservation methods will provide additional caution in case of any undesirable situation. On the other hand, the present situation should be monitored and any change should be determined in these areas.

KAYNAKÇA

- ADAMS, W. T. and JOLY, R. J., 1980: Genetics of allozyme variance in Loblolly pine, Jour. Here.,71:33-40.
- ADAMS, W. T., NEALE, D. B., DOERKSEN, A. H. and SMITH, D. B., 1990: Inheritance and linkage of isozyme variants from seed and vegetative bud tissues in coastal Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii* (Mirb.)Franco), Silvae Genetica 39:153-167.
- BROWN, A. H. D.,1979: Enzyme Polymorphism in plant populations, Theo. Pop. Bio. 15:1-42.
- DOĞAN, B., ÖZER, A.S., GÜLBABA, A. G., VELİOĞLU, E., DOERKSEN, A.H. ve ADAMS, W.T. 1996:Inheritance and linkage of allozymes in Black pine (*Pinus nigra* Arnold.) From Kazdagları, Presented In-Situ Conservation of Genetic Diversity Symposium in Antalya 11-22 Oct 1996.
- EL-KASSABY, Y. A., YEH, F. C. and SZIKLAI, O.,1982:Inheritance of allozyme variants in coastal Douglas-fir, Can. J. Gen. Cytol., 24:325-335.
- EL-KASSABY, Y. A., MEAGHER, M. D., PARKINSON, J. and PORTLOCK, F. T.,1987: Allozyme inheritance, heterozygosity and outcrossing rate among *Pinus monticola* near Ladysmith British Columbia, Heredity, 58:173-181.
- FADY, B. and CONKLE, M.T., 1992:Segregation and Linkage of Allozymes in seed tissues of hybrid Greek Fir *Abies borisii regis* Matt. Silvae Genetica 41:273-277.

- FADY, B. and CONKLE, M.T., 1993: Allozymes variation and possible phylogenetic implications in *Abies cephalonica* Loudon and same related Eastern Mediterranean, *Silvae Genetica* 42:351-359.
- GURIES, R. P: and LEDIG, F. T.,1978:Inheritance and some polymorphic isozymes in pitch pine, *Heredity*, 40:27-32.
- GÜLBABA, A. G., VELİOĞLU, E., ÖZER A. S., DOĞAN, B., DOERKSEN A. H. ve ADAMS , W. T.,1996: Kazdağı göknarı (*Abies equitrojani* Aschers et sint) populasyonlarının genetik yapıları ve gen kaynaklarının yerinde korunması,DOA Dergisi 2:23-48 TARSUS.
- HARRY, D. E., 1986:Inheritanceand linkage of isozyme variants in incense-cedar, *Jour. Heredity* 77:261-266.
- HAMRICK, J. L., 1989: Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. *Isozymes in Plant Biology* (SOLTIS,D. E. and SOLTIS,P. S.) Chapman and Hall. London.
- HAMRICK, J. L., MITTON, J. B and LINHART, Y. B., 1981: Levels of genetic variation in trees: Influence of life history characteristics,USDA Gen. Tech. Rept. PSW 48;35-41.
- HAMRICK, J. L., GODT, M. J. W. and SHERMAN-BROYLERS, S. L.,1992: Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species, *New Forests* 6:95-124.
- IŞIK, K., 1986:Altitudinal variation in *Pinus brutia* Ten.: Seed and Seedling characteristics. *Silvae Genetica* 35:58-65.
- IŞIK, F. ve KAYA, Z., 1995:Toroslarda Güney-Kuzey Doğrultusunda Örneklenen Kızılcım Populasyonlarında Genetik Çeşitliliğin Yapısı, *Batı Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, Sayı:1, ANTALYA.

- KARA, N., 1996:Kızılcamin (*Pinus brutia* Ten.) doğal populasyonlarında izoenzim çeşitliliğinin araştırılması. Yük. Lisans Tezi.Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Ens. ANTALYA.
- KING, N. J. and DANCİK, P. B.,1983: Inheritance and linkage isozymes in white spruce (*Picea glauca*), Can. J. Genet. Cytol. 25:430-436.
- MILLAR, C. I., 1985: Inheritance of allozyme variants in Bishop pine (*Pinus muricata* D. Don) Biochem. Genet. 23:933-946.
- NIKOLIC, D. and TUCIC, N., 1983: Izoenzyme variation within and among populations of European Black pine, Silvae Genetica 32:80-89.
- O'MALLEY, D. M., ALLENDORF, F.W. and BLAKE, G. M., 1979: Inheritance of isozyme variation and heterozygosity in *Pinus ponderosa*, Biochem. Genet, 17:233-250.
- SCALTSOYIANNES, A., ROHR, R., PANETSOS, K. P. and ISAKTSIRA, M., 1994: Allozyme Distributions in five European populations of black pine (*Pinus nigra* Arnold.): 1-Estimation of genetic variation within and among populations, 2-Contribution of isozyme analysis to the taxonomic status of the species. Silvae Genet. 43:20-30.
- SPIESS, E. B., 1977: Genes in populations, John Wiley & Sons, Inc. New York.
- STRAUSS, S. H. and CONKLE, M. T., 1986: Segregation, linkage and diversity of allozymes in Knobcone pine, Theor. Appl. Genet. 72:483-493.
- SWOFFORD D. L. and SELANDER, R. B., 1989:BIOSYS-1: A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics and biochemical systematics, Illinois Natural History Survey.
- SZMIDT, A. E. and MUONA, O., 1989:Linkage relationships of allozyme loci in *Pinus sylvestris*, Hereditas 111:91-97.

- TOLUN, A .A., VELİOĞLU, E., NAZLIER, B. ve KAYA, Z., 1997: Genetic structure of Black pine (*Pinus nigra* Arnold subsp. *pallasiana*) populations sampled from Bolkar Mountains (GEF Projesi Sonuç Raporu, Yayınlanmamış.)
- YEH, F. C. and EL-KASSABY, Y. A., 1980: Enzyme variation in natural populations of sitka spruce (*Picea sitchensis*) I: Genetic variation patterns among trees from 10 IUFRO provenances, Can. J. For. Res. 10:415-422.
- YEH, F. C., RONGCAI, Y. and BOYLE, T.,1997: POPGENE Microsoft Window-based Software for Population Genetics Analysis, A Quick User's Guide University of Alberta, Edmonton, AB Canada.