KASATURA KÖRFEZİ TABİATI KORUMA ALANINDAKİ KARAÇAM (*Pinus nigra* Arnold.) POPULASYONUNUN GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİNİN RAPD YÖNTEMİYLE BELİRLENMESİ

Ercan VELİOĞLU Burcu ÇENGEL Gaye KANDEMİR
Yasemin İÇGEN Zeki KAYA

Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Müdürlüğü
OGM Tesisleri Yeni Fidanlık Binası SÖĞÜTÖZÜ-GAZİ/ANKARA
biotek@ortohum.gov.tr

ÖZET

Bu çalışma ile Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanında bulunan doğal karaçam (*Pinus nigra* Arnold.) meşceresindeki genetik çeşitliliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kasatura Körfezindeki 39, üç tohum meşceresindeki 25'er ağaçtan toplanan açık tozlaşma ürünü tohumların megagametofit dokularından DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA örnekleri yedi RAPD (Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA) primeriyle taranmıştır. Çalışmada yedi RAPD primeri ile 74 polimorfik lokus elde edilmiştir. Kasatura Körfezi için gözlenen ortalama allel sayısı 1.96, etkili allel sayısı 1.60'dir. Gözlenen heterozigotluk 0.40, beklenen heterozigotluk 0.35 olarak hesaplanmıştır. F istatistiği sonuçlarında görülen negatif F_{IT} (-0.03) ve F_{IS} (-0.16) değerleri, çalışılan populasyonlarda heterozigotluk fazlalığına işaret etmektedir. F_{ST} değeri (0.11), genetik çeşitliliğin önemli miktarının (% 89) populasyon içinde olduğunu göstermektedir. Populasyonlar arasındaki gen akışını gösteren Nm değeri ise 2.0 çıkmıştır. F_{IS}, F_{IT} ve F_{ST} değerlerinin bütün primerlerde ve sonuçta bütün lokuslarda farklı olduğu görülmüştür. Populasyonlar arasındaki farklılaşmaya en büyük etkiyi UBC-190 (0.170) ve UBC-162 (0.160) primerlerinde görülen lokuslar yapmıştır.
Anahtar Kelimeler: Karaçam, *Pinus nigra,* RAPD, Genetik Çeşitlilik, Tabiatı Koruma Alanı

DETERMINING THE GENETIC DIVERSITY OF A NATURAL BLACK PINE (*Pinus nigra* Arnold) POPULATION OF KASATURA BAY NATURE CONSERVATION AREA BY RAPD METHOD

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the genetic diversity of a natural black pine (*Pinus nigra* Arnold.) population located in Kasatura Bay Nature Conservation Area. Open pollinated seeds from 39 trees from Kasatura Bay and 25 trees from each of three other natural seed stands were sampled and DNA's were isolated from megagametophyte tissues. All the DNA samples were scanned with seven RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) primers. Seven RAPD primers generated 74 polymorphic loci. For Kasatura Bay mean number of observed alleles was 1.96 and mean number of effective alleles was 1.60. Observed heterozygosity values were calculated as 0.40. Negative F_{IT} (-0.03) and F_{IS} (-0.16) values imply excess heterozygosity in the studied populations. Mean F_{ST} value (0.11) indicated that vast majority (89 %) of genetic diversity is contained within populations. Nm value, which shows gene flow between populations, was 2.0. F_{IS}, F_{IT} and F_{ST} values were different in all primers and in all loci. Variation among populations was mainly influenced by loci that were observed with primers UBC-190 (0.170) and UBC-162 (0.160).
Keywords: Black Pine, *Pinus nigra,* RAPD, Genetic Variation, Nature Conservation Area.

GİRİŞ

Trakya'nın toplam yüzölçümü 23 500 km^2 olup, 198 000 hektar verimli koru ormanı bulunmakta ve bunun 32 bin hektarını ibreliler (kızılçam, karaçam, ardıç) oluşturmaktadır (Yaltırık ve Eliçin, 1982). Karadeniz, Ege ve Marmara Denizi arasına girmiş bir üçgen olan Trakya, yükselti farklılıkları ile değişik iklim bölgelerinin etkisi altında bulunmasından dolayı değişik iklim yörelerine sahiptir (Irmak, 1975). Kuzey Trakya'da nemli, İç Trakya'da kuru, Güney Trakya'da ise kuru fakat Akdeniz ikliminin etkisi altında olan bir iklim hüküm sürmektedir (Kantarcı, 1976).

Kuzey Trakya Orman Mıntıkası içinde değerlendirilen Trakya'daki karaçam meşcereleri, üç parça halinde bulunmaktadır. Kasatura Körfezi çevresindeki karaçam meşcereleri saf ve gevşek kapalı bir yapıda olup (Mattfeld, 1971), kristalen şist, kuvarsit ve Ca_2CO_3'sız pliosen tortullar üzerindedir (Kantarcı, 1976). Rakımı ortalama 100-200 metre olan bu alanda hüküm süren deniz iklimi etkisinin, karaçamın burada tutunabilmesine yardımcı olduğu belirtilmektedir (Mattfeld, 1971; Kantarcı, 1976).

Türkiye'deki ibreli türler arasında en yaygın ikinci tür olan karaçamın Trakya'da bulunan meşcereleri *Güneybatı Euxine Bölgesi Karaçam Ormanları* olarak adlandırılmaktadır (Anonim 2000). Kasatura populasyonu Kayacık vd. (1981) tarafından ekolojik tip, Alptekin (1986)

tarafından topoğrafik bir izolasyon ile tecrit edilmiş doğal yayılış alanlarından uzak ve kopuk bir karakterde, Mayer ve Aksoy (1998) tarafından ise, kalıntı ormanı olarak nitelendirilmiştir. Zira bahsedilen ormanların Tersiyer sonlarından kalma, yani yaklaşık olarak 12 milyon yıllık oldukları saptanmıştır (Şanlı, 1982). Tersiyer ve öncesi dönemlerde bu bölgede bulunan meşcerelerin yaklaşık % 70'inin çam ormanları ile kaplı olduğu bildirilmektedir (Aytuğ ve Şanlı, 1974; Kayacık vd. 1981). Trakya'da kızılçam ve karaçamın yayıldıkları yerlerdeki yetişme muhiti özellikleri ile bunlara eşlik eden diğer bitkiler göz önüne alındığında, bu türlerin eski devirlerde daha geniş alanlara yayıldıkları yargısını desteklemektedir (Kantarcı, 1976; Anonim, 2000).

Bu nitelikleri de dikkate alınarak Kasatura Körfezi'ndeki karaçam meşceresi Milli Parklar ve Yaban Hayatı Koruma Genel Müdürlüğü tarafından nadir bir orman ekosistemi olarak değerlendirilip, "Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanı" olarak ilan edilmiştir (Anonim, 1988). Yedi bölmede toplam 329 hektar olarak ayrılan koruma alanı sadece orman ekosistemi olarak değil, yaban hayatı ve olağanüstü kumul sistemine sahip olmasıyla da önemli bir alandır (Byfield ve Hetvig, 1994; Anonim, 2000).

Gen kaynaklarının sürdürülebilir ormancılık çalışmalarında etkin bir şekilde korunması ve işletilmesi için, doğal meşcerelerdeki genetik çeşitliliğin yapılanmasının ve boyutunun iyi bilinmesi gerekmektedir (Kaya, 1990; Millar ve Marshall, 1991). Bir çok farklı ve karmaşık faktörlerin ve bunların etkileşimlerinin sonucu olarak ortaya çıkan genetik varyasyon hakkında bilgi sahibi olmadan, biyolojik bir kaynaktan optimum bir şekilde ve devamlılık prensipleri içinde yararlanabilmek olanaksızdır (Cossalter, 1989).

Genetik çeşitlilik çalışmaları başta morfolojik karakterlerle başlamış olup, bugün moleküler düzeyde yürütülmektedir. Genler veya ürünleri hakkında bilgi edinmek için değişik moleküler belirteçler kullanılmaktadır. Bunlar arasında Random Amplified Polymorphic DNA-Rasgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) yöntemi, PCR-Polimeraz Zincir Reaksiyonuna dayalı yöntemlerden biri olup, genetik varyasyonun tespitinde kullanılmaktadır (Russel vd. 1993, Keil ve Grifin 1994, Rosetto vd. 1995). Diğer tekniklere oranla daha kolay, hızlı ve ucuz olmasına rağmen, PCR koşullarının optimizasyonu oldukça zor ve zaman alıcıdır. Dominant bir belirteç olmasının dezavantajları, ibreli türlerde tohum megagametofit dokusu çalışılarak aşılmakta ve böylece populasyon genetiği çalışmalarında kullanılabilmektedir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Populasyonların Tanıtımı ve Örneklenmesi

Vize Orman İşletme Müdürlüğü, Midye Orman İşletme Şefliğinde bulunan Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanı'ndan 39, Burhandağ, Baliköy ve Daren karaçam tohum meşcerelerinden ise 25' er ağaçtan kozalak toplanmıştır. Kozalak toplanan populasyonlara ait bilgiler Çizelge-1' de dir. Açık tozlaşma ürünü tohum elde etmek için; kozalak toplanan ağaçlar arasında en az 100 m mesafe olmasına, ağaçlar arasında 300 m'den fazla yükselti farkı olmamasına dikkat edilmiştir. Ağaçların 1/3'lük tepe bölümünden toplanan kozalaklar, her ağaç için ayrı bir torbaya konulmuştur. Daha sonra kozalaklar fırınlanarak, aile bazında tohumlar elde edilmiştir.

Çizelge 1. Çalışılan Populasyonların Tanıtımı

Populasyonlar Populations	**Ulusal Kayıt No** No	**Alanı (ha)** Area	**Rakım** Altitude	**Enlem** Latitude	**Boylam** Longitude
Vize-Midye (Kasatura)	-	329.0	100	41 34 50	28 09 00
M.K.P.-Burhandağ	83	119.5	1000	39 54 10	28 43 00
Tavşanlı-Baliköy	93	124.0	1500	39 25 00	29 07 45
Mengen-Daren	78	164.0	935	40 57 20	32 17 00

DNA İzolasyonu: DNA izolasyonu için her ağacın sekiz tohumunun megagametofit (endosperm) dokuları kullanılmıştır. Sonuç olarak toplam 912 örnekle çalışılmıştır (114 aile x 8 örnek). Bu işlemde Dellaporta vd. (1983) ve Kreike (1990)'nin kullandığı metodların kombinasyonu kullanılmıştır. İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyonları Cesarone vd. (1979)'nın florometrik tahlil yöntemiyle belirlenmiştir. Megagametofit başına düşen DNA miktarları 500 ng ile 5000 ng arasında değişmiştir. PCR uygulamaları için DNA örnekleri 3 ng/μl'ye seyreltilmiştir. Seyreltilmiş DNA örnekleri çalışma boyunca +4 ^{o}C'de saklanmıştır.

RAPD Primerleri: RAPD primerleri rasgele belirlenen 10 bazlı oligonukleotit primer zincirleri olup, bilgileri British Colombia Üniversitesinden (BC, Kanada) alınmıştır. Primerler G+C içeriği % 60-70 olacak şekilde ve sonları birbirini tamamlamayacak şekilde sentezletilmiştir. Daha önce karaçam için denenmiş ve kullanılmış olan primerler (Kaya ve Neale, 1993; Velioğlu vd. 2003a) içinden en yüksek sayıda polimorfik lokus verenler seçilmiş ve yedi RAPD primeriyle çalışılmıştır. Reaksiyon şartları için, Velioğlu vd. (2003a) tarafından belirlenen PCR koşulları ve döngüleri kullanılmıştır.

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

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

Her bir ana ağacın genotipi her bir lokusta bulunan ve örneklenen sekiz endospermdeki bantlardan çıkarılmıştır. Bir örnekte haploid RAPD bantının gözlenmesi durumunda 1 rakamı ve gözlenmemesi durumunda 0 rakamı kullanılmıştır. Haploid megagametofit örneklerinden elde edilen genotipler 114 ağacın her biri için ve her bir lokus için diploid genotipe çevrilmiştir. Ana ağacın genotipini belirlemek için her bir lokus için bir bantın sekiz örneğin hepsinde gözlenmesi durumunda baskın homozigot (AA), en az bir örnekte o bantın olmaması durumunda heterozigot (AB) ve bu bantın sekiz örneğin hiçbirinde olmaması durumunda çekinik homozigot (BB) değerlendirmesi yapılmıştır.

Veri Analizi: Etkili (Ae) ve gözlenen (A) allel sayısı, Shannon Sabiti, beklenen (He) ve gözlenen (Ho) heterozigotluk ve polimorfik lokus (P) oranları POPGENE-Microsoft Windows-based Freeware for Population Genetics Analysis, Version 1.31 (Yeh vd. 1997) programına göre hesaplanmıştır. F-İstatistiği'nin tahmininde ise GENETIX 4.0 programı (Belkhir vd. 1996-2001) kullanılmıştır. Populasyonların genetik farklılaşmasını grafik olarak görebilmek için UPGMA (Unweighted pair group method) kullanılarak dendogram çizilmiştir (Sneath ve Sokal, 1973).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Populasyonların Genetik Yapısı:
Çalışılan yedi primerde 74 polimorfik RAPD bandı gözlenmiştir. Her populasyondaki polimorfik bant sayısı farklılıklar göstermiştir. Primer başına gözlenen polimorfik bant sayısı 7 (UBC-162) ile 14 (UBC-154) arasında değişmiş ve ortalama olarak 10.5 olarak bulunmuştur. Karaçam tohum meşcerelerinde yapılan çalışmada ortalama lokus sayısı 9.8 olarak bulunmuştur (Velioğlu vd. 2003a).

Genetik Çeşitlilik: Populasyonların genetik çeşitliliğini belirlemede gözlenen kriterler Çizelge 2'de gösterilmiştir.

Polimorfik Lokus Oranı: Yapılan polimorfik lokus hesaplamaları 0.99 kriterinde olmak üzere Kasatura ve Burhandağ populasyonlarında 71'er lokus görülmüş, polimorfik lokus oranı % 95.9 olarak bulunmuştur (Çizelge 2). Baliköy populasyonunda 68 lokus ile % 91.9, Daren populasyonunda ise 66 lokus ile % 89.2 oranında polimorfik lokus hesaplanmıştır. Elde edilen veriler, karaçamdaki yüksek genetik çeşitliliğin bir kanıtıdır. Karaçam tohum meşcerelerinde yapılan çalışmada polimorfik lokus oranı ortalama olarak % 94 bulunmuştur (Velioğlu vd. 2003a).

Allel Sayısı: Gözlenen allel sayısının 1.96 ile 1.89 arasında, etkili allel sayısının (Ae) ise 1.66 ile 1.60 arasında değiştiği görülmektedir (Çizelge 2). Karaçam populasyonlarında yapılan RAPD çalışmasında bu değerler ortalama olarak, sırasıyla 1.95 ve 1.72 bulunmuştur (Velioğlu vd. 2003a). *Picea glauca* da yapılan bir çalışmada A ve Ae değerleri 1.8-1.6 olarak bulunmuştur

(Rajora, 1999). Etkili allel sayısı gözlenen değerlerden düşük bulunmuştur. Bunun nedeni, gözlenen allel sayısı sadece bütün alleller eşit frekansta olduğu zaman etkili allel sayısına eşit olmaktadır (Kimura ve Crow 1978).

Shannon Sabiti: Shannon Sabiti 0,50 ile Kasatura ve Baliköy'de en düşük, 0.56 ile Burhandağ'da en yüksek bulunmuştur (Çizelge 2). Karaçam tohum meşcerelerinde yapılan çalışmada Shannon Sabiti ortalama olarak 0.56 bulunmuştur (Velioğlu vd. 2003a).

Çizelge 2. Çalışılan Populasyonlara Ait Ortalama Allel Sayısı (A), Ortalama Etkili Allel Sayısı (Ae), Shannon Sabiti (I), Polimorfik Lokus Oranı (P), Gözlenen Heterozigotluk (Ho), Beklenen Heterozigotluk ve Standart Hataları

Populasyonlar	***P (%)**	***A***	**Ae**	I	**Ho**	**He**
Kasatura	95.9	1.96±0.02	1.60±0.03	0,50±0,02	0.40±0.02	0.35±0.02
Burhandağ	95.9	1.96±0.02	1.66±0.03	0.56±0.02	0.46±0.02	0.38±0.01
Baliköy	91.9	1.92±0.02	1.60±0.04	0.50±0.02	0.41±0.03	0.35±0.02
Daren	89.2	1.89±0.03	1.65±0.03	0.53±0.02	0.38±0.03	0.37±0.02

*: 0.99 kriterinde

Heterozigotluk: Genetik çeşitliliğin belirlenmesinde ortalama allel sayısı ve Hardy-Weinberg şartlarında tahmin edilen heterozigotluk düzeyi, polimorfizm oranından daha iyi bir parametredir (Nevo, 1978; Giannini vd. 1991). Gözlenen heterozigotluk (Ho) 0.46 ile en yüksek Burhandağ populasyonunda, en düşük ise 0.38 ile Daren populasyonunda görülmüştür (Çizelge 3). Beklenen heterozigotluk (He), 0.38 olarak Burhandağ populasyonunda en yüksek, Kasatura ve Baliköy populasyonlarında 0.35 olarak en düşük değerde olduğu görülmüştür. Bu değerler, karaçamda yüksek genetik çeşitlilik bulunduğunu bir kez daha göstermektedir. Karaçam populasyonlarında yapılan bir çalışmada Ho ve He değerleri ortalama olarak 0.49 ve 0.40 olarak bulunmuştur (Velioğlu vd. 2003a).

F-İstatistiği (Populasyonlar Arası ve İçi Farklılıklar):Wright'ın F-istatistiğine bakılarak, genetik çeşitliliğin populasyonlar arasındaki dağılımı ve Hardy-Weinberg dengesinden sapma olup olmadığı belirlenmiştir (Wright, 1951). Hesaplanan F_{IS} (-0.16) ve F_{IT} (-0.03) değerleri ($P<0.001$) düzeyinde negatif bulunmuştur (Çizelge 3). F_{IT} değerinin -0.03 olması çalışılan populasyonlarda heterozigotluğun beklenenden yaklaşık % 3 fazla olduğuna işarettir. Bu değerler daha önce karaçamda yapılan çalışma ile uyumludur (Velioğlu vd. 2003a). Bütün değerlerin istatiksel olarak anlamlı bulunması, Hardy-Weinberg dengesinden sapmalar olduğunu göstermektedir. F_{IS} ve F_{IT} değerlerinin negatif olması birbirine benzemeyen genotipler arasındaki eşleşmenin tercih edilmesi (negative assortative mating) ve heterozigotların yararına bir seçilim sonucu olabilir (El-Kassaby vd. 1987; Fady ve Conkle 1993).

Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın göstergesi olan F_{ST} değeri 0.11 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3). Bu değer populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın % 11, populasyon içi farklılaşmanınsa % 89 olduğunu göstermektedir. Karaçamda ve diğer ibrelilerde yapılan çalışmalarda populasyon içi genetik farklılaşmanın daha yüksek olduğu bulunmuştur (Kara vd. 1997; Gülbaba ve Özkurt, 1998; Panetsos vd. 1998; Velioğlu vd. 2003a; Velioğlu vd. 2003b; Kandemir vd. 2004).

Çizelge 3. F-İstatistiği Sonuçları (*(***P<0.001)*)

Örnek sayısı Sample size	**F_{IS}**	**F_{IT}**	**F_{ST}**	**Nm**
226	-0.16***	-0.03***	0.11***	2.0

F_{IS} : Populasyon içi fiksasyon indeksi (Fixation index within subpopulations)
F_{IT} : Tüm populasyonlar için fiksasyon indeksi (Total fixation index)
F_{ST} : Populasyonlar arası genetik çeşitlilik (Genetic differentiation)
Nm: Gen akışı katsayısı (Gene flow)

Orman ağaçlarında tohum ve polenlerin büyük bir kısmı yaklaşık 100 m'lik bir alana taşınmakta, böylece her populasyon birçok alt populasyonlardan oluşmaktadır. Her alt populasyon ise

bulunduğu mikro-habitatın özel çevre koşullarına özgü farklı seçilim basıncı ve farklı gen akışı etkisi altında, oradaki yerel çevre farklılıklarına uyum yapmış farklı bireylerden oluşmaktadır. Bu nedenle, orman ağacı türlerinde populasyon içi genetik çeşitlilik yüksek olur (Işık, 1983). Bu yüzden çok kısa mesafelerde bile farklı ırklar ve alt ırklar oluşabilir. Bundan dolayı karaçam gibi uzun ömürlü, rüzgarla döllenen ve geniş alanlarda yayılış gösteren orman ağaçlarında veya bitki türlerinde populasyonların populasyon içi genetik çeşitliliği belirgin olarak yüksek çıkar (Ledig ve Conkle, 1983; Moran ve Hopper, 1987; Giannini vd. 1991). Populasyon içi genetik çeşitliliğin fazla olması, aynı zamanda genetik çeşitliliğin de yüksek olduğunu göstermektedir. Bu durumda ağaç ıslahı çalışmaları için karaçamın uygun bir tür olduğunu söyleyebiliriz.

Populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliği etkileyen faktörlerden birisi de gen akışıdır. F_{ST} değerine dayanarak hesaplanan gen akışı olan *Nm* değeri, 2.0 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3). Populasyonlar arasındaki coğrafik mesafe arttıkça populasyonlar arasında gen alışverişi azalmakta, bu da populasyonlar arasındaki farklılaşmayı artırmaktadır. Nitekim düşük *Nm* değeriyle, yüksek F_{ST} değeri birbiriyle uyum göstermektedir. Velioğlu vd. (2003) tarafından yapılan RAPD çalışmasında *Nm* değeri 3.9 bulunmuştur. Kritik *Nm* değeri 0.5 olup, bu değerin üzerindeki değerler gen akışının genetik kaymayı önleyecek miktarda olduğunu göstermektedir (Wright, 1969).

F_{IS}, F_{IT} ve F_{ST} değerleri bütün primerlerde (bütün lokuslarda) farklıdır (Çizelge 4). Bu durum her populasyondaki lokusların çevresel faktörlerdeki değişimlerden bağımsız olarak etkilendiğini göstermektedir. Lokus başına düşen F_{ST} değerinin büyüklüğü o lokusun populasyonlar arasındaki farklılığa yaptığı etkiyi göstermektedir. Çizelge 4 incelendiğinde, populasyonlar arasındaki farklılaşmaya en büyük etkiyi UBC-190 (0.170) ve UBC-162 (0.160) nolu primerlerdeki lokusların yaptığı görülmektedir.

Çizelge 4. Primerlere Göre F-istatistiği Sonuçları

Primer	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
UBC-121	-0.010	0.021	0.011
UBC-129	-0.048	-0.044	0.030
UBC-131	-0.011	0.040	0.101
UBC-144	-0.180	-0.040	0.120
UBC-154	-0.090	0.030	0.100
UBC-162	-0.120	0.140	0.160
UBC-190	-0.090	0.160	0.170

Populasyonlar Arası Genetik Mesafe: Nei (1978)'ye göre yapılan hesaplamalarda populasyon çiftleri arasındaki genetik mesafe ortalama 0.090 olup, 0.047 ile 0.131 arasında değişmektedir (Çizelge 5). Birbirine en yakın populasyonlar olarak 3. ıslah zonunda bulunan Burhandağ ve Baliköy tohum meşcereleri çıkmıştır. Diğer populasyonlardan kopuk durumda olan Kasatura populasyonu diğer üç populasyondan da farklı çıkmıştır. Kayacık vd. (1981), Kasatura populasyonundaki polen boyut ve şekillerinin Anadolu'daki karaçam populasyonunkinden belirgin olarak farklı olduğu bulmuşlar ve bu farklılığın nedenini, Kasatura populasyonunun primitif kalmasına bağlamışlardır.

Çizelge 5. Nei (1978)'ye Göre Hesaplanan Populasyonlar Arasındaki Genetik Mesafe Değerleri

Populasyonlar	Kasatura	Burhandağ	Baliköy	Daren
Kasatura	-			
Burhandağ	0.131	-		
Baliköy	0.112	0.047	-	
Daren	0.093	0.100	0.064	-

Populasyonlar arasındaki genetik ilişkileri görebilmek amacıyla UPGMA kullanılarak, genetik farklılaşma görsel olarak gösterilmiştir (Şekil 1). Genetik mesafeyi grafik olarak göstermek için yapılan dendrogramda, dört karaçam populasyonu kökten iki gruba ayrılmıştır. Birinci grupta, Kasatura populasyonu tek başına yer almıştır. Diğer grubu ise, yayılış olarak Anadolu'da yer alan ve nispeten kesiksiz durumda bulunan üç tohum meşceresi oluşturmuştur. Daha sonra bu üç Anadolu populasyonu da kendi içinde iki gruba ayrılmıştır. İlk grubu aynı ıslah zonunun farklı alt zonlarında bulunan Burhandağ (3.2) ve Baliköy (3.3) populasyonları, diğer grubu ise farklı ıslah zonunda bulunan Daren (4.2) populasyonu oluşturmuştur.

```
  0.01
----------
  +-------------------------------------------------Kasatura
  !
--3                      +--------------------Burhandağ
  !          +---------------1
  +-------------2            +--------------------Baliköy
             !
             +-----------------------------------Daren
```

Şekil 1. Populasyonların NEI (1978)'nin Genetik Mesafe Değerlerine Göre Oluşturulan Dendrogramı (Metod: UPGMA).

Türkiye son buzul döneminde tamamen buzullarla kaplanmadığından (Erinç, 1978), pek çok tür için bir çeşit buzul sığınağı olmuştur (Brice, 1978). Erken Holosende ibreli ormanlar genişlemiş ve zamanlada parçalı hale gelmelerine rağmen, günümüzde genetik çeşitliliği azalmamış populasyonlar bulunmaktadır (Ledig, 1998). Ormanların parçalanarak kesintili hale gelmesi nedeniyle, populasyon içerisindeki genetik çeşitliliğin artması ve populasyonlar arasında farklılaşma (differantation) olması beklenir (Ledig, 1998). Kasatura'da bulunan karaçam populasyonundaki yüksek genetik çeşitliliği ve diğer üç tohum meşceresinden olan farklılığını bu duruma bağlayabiliriz (Alptekin, 1986).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Kasatura populasyonu diğer populasyonlardan farklı çıkmıştır. Karaçamda tesbit edilen 15 coğrafik varyasyon arasında Trakyada ayrı bir coğrafik varyasyon olarak ayrılmıştır (Alptekin, 1986). Kayacık vd. (1981)'nin polen çalışmasıda bu farklılığı desteklemektedir. Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanındaki karaçam populasyonunun, Anadolu'da bulunan karaçam populasyonları kadar genetik çeşitlilik taşıdığı görülmüştür. Orman ağaçlarında görülen yüksek genetik çeşitlilik, populasyonların yaşamlarını sürdürmeleri ve gelecekteki çevresel değişimlere uyum sağlayabilmeleri için gereklidir. Bu nedenle, diğer karaçam populasyonlarından hem genetik hem de coğrafik olarak farklı bir konumda bulunan Kasatura populasyonunun Tabiatı Koruma alanı içine alınması isabetli olmuştur ve bu populasyonun genetik erozyona uğratılmadan yerinde korunması mutlaka sürdürülmelidir. Ayrıca Trakya'daki karaçam populasyonlarından (Çatalca, Korudağ, Demirköy ve Kasatura) alınan örneklerden oluşan bir klon parkı veya tohum bahçesi kurulması, *ex-situ* koruma işlevini yerine getirecektir. Populasyonların genetik yapılarıyla ilgili bilgiler gen kaynaklarının koruma stratejilerinin formüle edilmesinde temel bilgi olarak kullanılmalıdır (Millar ve Marshall, 1991; Millar ve Westfall, 1992).

Elde edilen bilgiler bize karaçamın yüksek bir genetik çeşitliliğe sahip olduğu ve ağaç ıslahı için uygun bir tür olduğu sonucunu vermektedir.

Her populasyonun kendine özgü gen kombinasyonu ve uyum değeri vardır. Milyonlarca yıldır süregelen evrimin ürünü olarak Kasatura Körfezi'n deki doğal karaçam meşcereleri, bu bölgeye uyum sağlamış populasyonlardır. Bu nedenle Kasatura Körfezi Tabiatı Koruma Alanı'n daki karaçam populasyonu tohum kaynağı olarak kullanılabilir (Zobel ve Talbert, 1984).

KAYNAKLAR

Alptekin, C. Ü. 1986. Anadolu Karaçamı (*Pinus nigra* ssp. *pallasiana* Lamb). İ. Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Cilt:36: 132- 154.

Anonim. 1988. Ormancılık Ana Planı 1990-2009. Orman Genel Müdürlüğü, APK Dairesi Başkanlığı, Yayın No: 3, Ankara.

Anonim. 2000. Türkiyenin Tabiatı Koruma Alanları. Kırsal Çevre ve Ormancılık Sorunları Araştırma Derneği. Dönmez Ofset. 166 pp. Ankara.

Aytuğ, B., Şanlı, İ. 1974. İstanbul Boğazı Yöresinin Tersiyer Sonu Ormanları, İ. Ü.Orman Fakültesi Dergisi. A. XXIV sayı 2,74-78.

Belkhır, K., Borsa, P., Chikhi, L., Goudet, J., Bonhomme, F. 1996-2001. GENETIX 4.0 Windows™ Software for Population Genetics. Laboratoire Genome, Populations, Interactions, University of Montpellier, France. http://www.univ-montp2.fr/~genetix/ genetix.htm.

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.

Byfield, A. J., Hetvig, F. 1994. Türkiyenin Kuzey Kumullarının Korunmasına Yönelik Rapor. Ek-3 (13), sayfa 9-10.

Cesarone, C., Bolognesi, C., Santi, L. 1979. Improved Microfluorometric DNA Determination in Biological Material Using 33258 Hoechst. Anal Biochem. 100: 188-197.

Cossalter, C. 1989. Genetic Conservation: A Cornerstone of Breeding Strategies: Breeding Tropical Trees. Population Structure and Gene Improvement Strategies in Clonal and Seedling Forestry. (Proc. IUFRO Conference Pattaya, Tailand, November 1988). Gibson, G.I., Griffin, A.R., Matheson, A.C. (Ed.). Oxford Forestry Institute, Oxford, U.K.28-38

Dellaporta, S. L., Wood, J., Hicks, J. B. 1983: A Plant DNA Minipreparation: Version II. Plant Mol. Biol Rep. 1:19-21.

El-Kassaby, Y. A., Meagher, M. D., Parkinson, J., Portlock, F. T. 1987. Allozyme Inheritance, Heterozygosity and Outcrossing Rate Among *Pinus monticola* near Ladysmith British Columbia. Heredity, 58: 173-181.

Erinç, S. 1978. Changes in the physical environment in Turkey since the end of the last glacial, p. 87-110. In W. C. Brice (ed.), The environmental history of the Near and Middle East since the last ice age. Academic Press, London.

Fady, B., Conkle, M. T. 1993. Allozyme Variation and Possible Phylogenic Implications in *Abies cephalonica* Loudon and Some Related Eastern Mediterranean Firs. Silvae Genetica, 42

Giannini, R., Morgante, M., Vendramin, G. G. 1991. Allozyme Variation in Italian Populations of *Picea abies* (L.) Karst. Silvae Genetica. 40: 160-166.

Gülbaba, A. G., Özkurt, N. 1998. Bolkar Dağları Doğal Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) Populasyonlarının İzoenzim Çeşitliliği. Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Teknik Bülten No: 5, Tarsus, 27s.

Irmak, A. 1975. Trakya Orman Yetiştirme Muhiti Bölgeleri ve Başlıca Özellikleri. İ. Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri A, Cilt 25, Sayı 1, 1-13.

Irmak, A., Kurter, A., Kantarcı, M. D. 1980. Trakya'nın Orman Yetiştirme Bölgelerinin Sınıflandırılması. İ. Ü. Orman Fakültesi, Yayın No: 276, 295s. İstanbul.

Işık, K. 1983. Bitki Gen Kaynaklarımız Niçin Korunmalı ve Planlanmalıdır? Tabiat ve İnsan. 17 (4): 9-15.

Kantarcı, M. D. 1976. Trakya Ormanlarının Bölgesel Orman Muhiti Yetiştirme Özelliklerine Göre Doğal Ağaç ve Çalı Türleri İle Sınıflandırılması. İ. Ü. Or. Fak. Dergisi. Seri A, Cilt 26, Sayı 2, 138-210

Kandemir, G. E., Kandemir, I., Kaya, Z. 2004. Genetic variation in Turkish Red Pine (*Pinus brutia* Ten.) Seed Stands as Determined by RAPD Markers. Silvae Genetica, 53 (4-5): 169-175.

Kara, N., Korol, L., Işık, K., Schiller, G. 1997. Genetic Diversity in *Pinus brutia* Ten. Altitudinal Variation. Silvae Genetica, 46 (2-3): 155-161.

Kaya, Z. 1990. Orman Gen Kaynaklarımız: Ulusal Mirasımız! Fidan Dergisi. OGM Meslek Memurları Derneği Yayın Organı. Sayı: 28, 2-6.

Kaya, Z., Neale, D. B. 1993. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Polymorphısms in P*inus nigra* subsp. *pallasiana* and *Pinus brutia.* Doğa- Tr J. of Agriculture and Forestry 17 pp. 295- 306.

Kayacık, H., Aytuğ, B., Şanlı, İ. 1981. Trakya'da Jeolojik Dönemlerin İzleri. İ. Ü. Or. Fak. Der. Seri A, Cilt 31, Sayı 1, 48-55.

Keil, M., Griffin, A. R. 1994. Use of Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers in the Discrimination and Verification of Genotypes in *Eucalyptus*. Theor. Appl. Genet. 89: 442-450.

Kimura, M., Crow, J. M. 1978. Effect of Overall Phenotypic Selection on Genetic Change at Individual Loci. Proc. Natl. Acad. Sci., 75: 6168-6171.

Kreike, J. 1990. Genetic Analysis of Forest Tree Populations: Isolation of DNA From Spruce and Fir Spices. Plant Molecular Biology, 14: 877-879.

Ledig, F. T. 1998**.** Genetic diversity in tree species: With special reference to conservation in Turkey and the eastern Mediterranean. In: The Proceedings of International Symposium on *In-situ* Conservation of Plant Genetic Diversity, edited by Zencirci, N., Kaya, Z., Anikster, Y., Adams, W. T. Central Research Institute for Field Crops, Turkey 231-247.

Ledig. F. T., Conkle, M. T. 1983. Gene Diversity andGenetic Structure in Endemic Torrey pine (*Pinus torreyana* Parry ex. Carr.) Evolution, 73: 79-85.

Mattfeld, J. 1971: Doğu Trakyanın Bitki Coğrafyası Bakımından Durumu. (Çev. M. Selik) İ. Ü. Or. Fak. Yayın No: 1544/159, 37s., İstanbul.

Mayer, H., Aksoy, H. 1998. Türkiye Ormanları (Çev. H. Aksoy, G. Özalp). Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Müdürlüğü, Yayın No: 1, 291s., Bolu.

Millar, C. I., Marshall, K. A. 1991. Allozyme Variation of Port-Orford-Cedar (*Chamaecyparis lawsoniana*): Implications for Genetic Conservation. Forest Sci. 37:1060-1075.

Millar, C. I., Westfall, R. D. 1992. Allozyme markers in forest genetic conservation New Forest 6: 347-371.

Moran, G. F., Hopper, S. D. 1987. Conservation of the Genetic Resources of Rare and Wide Spread Eucalyptus in Remnant Vegetation. *In* DA Saunders, G.W. Arnold, A.A. Burbidge, A.J.M. Hopkins, eds,

Nature Conservation: The Role of Remnants of Native Vegetation. Surrey Beatty and Sons, Sydney, pp 151-162

Nevo, E. 1978. Genetic Variation in Natural Populations: Patterns and Theory. Theor. Pop. Biol., 13: 129-177.

Nei, M. 1978. Estimation of Average Heterozygosity and Genetic distance FromaSmall Number of Individuals. Genetics. 89: 583-590.

Panetsos, P., Aravanopoulos, F. A., Scaltsoyıannes., A. 1998. Genetic Variation of *Pinus brutia* From Islands of The Northeastern Aegean Sea. Silvae Genetica. 47: 115-120.

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.

Rajora, O. P. 1999. Genetic Biodiversity Impacts of Silvicultureal Practices and Phenotypic Selection In White Spruce. Ther. Appl. Genet. 99: 954-961.

Russel, J. R., Hoseın, 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.

Sneath, P. M. A., Sokal, R. R. 1973. Numerical Taxonomy: The principles and pratice of numerical classification. W. H. Freeman and Company, San Francisco. 573 pp.

Şanlı, İ. 1982. Trakya'nın Tersiyer Florası Üzerinde Ksilolojik Araştırmalar. İ. Ü. Orman Fakültesi Dergisi, Seri:A, Cilt:32, Sayı:(1):84-138.

Velioğlu, E., Çengel, B., İçgen, Y., Kandemir, G., Alan, M., Kaya, Z. 2003a. Moleküler Belirteçler Yardımıyla Karaçam (*Pinus nigra* Arnold subspecies *pallasiana* (Lamb.) Holmboe.) Tohum Meşcerelerinde, Tohum Bahçelerinde ve Ağaçlandırmalarında Bulunan Genetik Çeşitliliğin Karşılaştırılması. OATIAM Teknik Bülten No:11. Ankara.

Velioğlu, E., İçgen, Y., Çengel, B., Öztürk, H., Kaya, Z. 2003b. Moleküler Belirteçler Yardımıyla Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) Tohum Meşcerelerinde, Tohum Bahçelerinde ve Ağaçlandırmalarında Bulunan Genetik Çeşitliliğin Karşılaştırılması. OATIAM Teknik Bülten No:10. Ankara.

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

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

Yaltırık, F., Eliçin, G. 1982. Trakya'nın Ağaçları ve Çalıları. İ. Ü. Orman Fakültesi Dergisi. Seri:A, Cilt:32, Sayı:2. 33-63.

Yeh, C. F., Yang, R., Boyle, T. 1997. POPGENE Version 1.31. Windows-based Software for Population Genetics Analysis.

Zobel, B., Talbert, S. 1984. Applied Forest Tree Improvement. North Carolina State University. Wiley and Sons. Inc. NY.