

Orman Bakanlığı Yayın No: 082
DOA Yayın No: 9

ISSN: 1300-7912

BOLKAR DAĞLARI
DOĞAL KIZILÇAM (*Pinus brutia* Ten.)
POPULASYONLARININ İZOENZİM ÇEŞİTLİLİĞİ

ODC : 165.3

Isoenzyme Diversity In Turkish Red Pine (*Pinus brutia* Ten.)
Populations Sampled From The Bolkar Mountains

A. Gani GÜLBABA

Nurten ÖZKURT

TEKNİK BÜLTEN NO: 5

T.C.
ORMAN BAKANLIĐI
DOĞU AKDENİZ
ORMANCILIK ARAŞTIRMA ENSTİTÜŐÜ

EASTERN MEDITERRANEAN
FORESTRY RESEARCH INSTITUTE

TARSUS

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	I
ÖZ.....	II
ABSTRACT.....	II
1.GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	2
2.1. Bitkisel Materyal.....	2
2.2. Elektroforez İşlemi ve Jellerin Yorumlanması.....	3
2.3. Verilerin Değerlendirilmesi.....	6
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	8
3.1. İzoenzim Bant Yapıları ve Genetik Kontrolleri.....	8
3.2. Populasyonların Genetik Yapıları.....	13
3.3. Populasyonlar Arası Genetik Mesafeler.....	18
3.4. Gen Koruma ve Yönetim Alanlarının Belirlenmesi (GEKYA).....	20
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	20
ÖZET.....	22
SUMMARY.....	23
KAYNAKÇA.....	24

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
1. Örneklenen Kızılcım Populasyonlarına Ait Coğrafi Bilgiler ve Büyüklükleri.....	2
2. Çalışmada Kullanılan Jel ve Elektrot Tampon Çözeltileri ve Enzim Sistemleri.....	5
3. Heterozigot Bireylerin Endospermalarında Gözlenen Açılım ve Beklenen 1:1 Oranına Uygunluk Testi.....	9
4. Sekiz Kızılcım Populasyonunda 15 Polimorfik Lokustaki Allel Yoğunlukları ve Heterojenlik Değerleri.....	14
5. Kızılcım Populasyonlarının 15 Polimorfik Lokusta Wright'ın F- İstatistiği Değerleri.....	17
6. Kızılcımın Sekiz Doğal Populasyonlarına ait Polimorfik Lokus Oranı (P) ve Lokus Başına Düşen Ortalama Allel Sayıları (A), Etkili Allel Sayıları (A _e), Gözlenen (H _o) ve Beklenen (H _e) Heterozigotluk ve Fiksasyon İndeksleri (F _{is}).....	18
7. Nei (1978)'ye Göre Hesaplanan Kızılcım Populasyonları Arasındaki Genetik Mesafe Değerleri.....	19

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
1. Kızılcım Populasyonlarının Yerleri.....	3
2. Endosperm Bant yapıları ve Bunların Kızılcıma Ait 20 Lokus İçin Verilen Allel Numaraları.....	12
3. NEI (1978)'ye Göre Hesaplanan Genetik Mesafeye ait Dendrogram: Metot = UPGM.....	20

ÖNSÖZ

Küresel Çevre Fonu (Global Environmental Fund - GEF) adına hareket eden Dünya Bankasının maddi katkıları ile yurdumuzda yürütülmekte olan “Bitki Genetik Çeşitliliğinin Yerinde Korunması (TU-28632)” projesi kapsamında Bolkar dağları pilot uygulama alanı seçilmiştir. Bolkar dağlarında bulunan doğal kızılçamlar (*Pinus brutia* Ten.), yerinde korunması (*in situ*) amacıyla *hedef tür*’lerden biri olarak belirlenmiştir.

Bu türün genetik yapıları izoenzim analizleri yöntemiyle belirlenerek Gen Koruma ve Yönetim Alanları (GEKYA) tespitinde rehber olarak kullanılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan 312 bireye ait tohumları büyük bir emek sarfı ile toplayan **Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Enstitüsüne**, maddi ve manevi desteklerinden dolayı **T.C. Orman Bakanlığına** ve **Dünya Bankasına**, bütün olanaklarını bizlere sunan **Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsüne** ve **personeline** teşekkür ederiz.

Bu çalışmaların yapılabilmesi için gerekli olan teknik bilgiyi bizlere ilk öğreten ODTÜ Biyoloji Bölümü öğretim üyesi **Prof. Dr. Zeki KAYA**’ya ve izoenzim analiz yöntemleri konusunda uygulamalı ve teorik olarak eğitim alarak, bu konudaki bilgi ve becerimizi artıran Oregon State Üniversitesi öğretim üyesi **Prof. Dr. W. T. ADAMS**’a ve teknisyeni **A. H. DOERKSEN**’ e teşekkür ederiz.

1998- Tarsus

A. Gani GÜLBABA

Nurten ÖZKURT

ÖZ

“Bitki Genetik Çeşitliliğinin Yerinde Korunması Projesi” kapsamında kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) hedef türlerden biri olarak seçilmiştir. Bu çalışma ile bu hedef türün genetik yapısını izoenzim yöntemiyle ortaya çıkararak Gen Koruma ve Yönetim Alanları (GEKYA)’nın belirlenmesi için öneriler geliştirmek amaçlanmıştır.

Bolkar dağlarından belirlenen sekiz populusyona ait 312 bireyin endospermleri üzerinde yapılan izoenzim analizleri sonucuna göre; kızılçamların hayli yüksek oranda genetik çeşitliliğe sahip oldukları, genetik çeşitliliğin büyük oranda populusyon içerisinde olduğu (%97.6) tespit edilmiştir. Bolkar dağları kızılçamlarında ortalama beklenen heterozigotluk oranı $H_e = 0.216$, polimorfik lokus oranı $P = 61.9$ ve allel sayısı $A = 1.7$ olarak bulunmuştur.

Elde edilen bulguların değerlendirilmesi sonucu *Manastır*, *Bahçe* ve *Karakoyak* populusyonlarının GEKYA olarak ayrılması önerilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kızılçam, *Pinus brutia*, izoenzim, genetik çeşitlilik, Gen Koruma ve Yönetim Alanları (GEKYA), Yerinde Koruma, Türkiye

ABSTRACT

Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.) has been selected as one of target species within the framework of “*In Situ* Conservation of Plant Genetic Diversity In Turkey” project. The aim of the study was to reveal genetic structure of Turkish red pine populations from the Bolkar Mountains and to serve as an initial guide in designation of Gene Management Zones (GMZ’s)

Open – pollinated seeds (megagametophytes) collected from 312 parent trees from eight populations were assayed by starch gel electrophoresis. The results revealed that higher proportion of the genetic variation originated from the differences within populations (97.6%). Mean estimated expected heterozygosity (H_e) was 0.216. Mean percentage of polymorphic locus (P) and mean number of allele per locus (A) were estimated 61.9 and 1.7 respectively.

The overall results suggested that *Manastır*, *Bahçe* and *Karakoyak* populations should be designated as GMZ’s.

Key Words: Turkish red pine, *Pinus brutia*, Isoenzyme, Genetic diversity, Gene Management Zone (GMZ), *In Situ*, Turkey.

1. GİRİŞ

Doğu Akdeniz bölgesinde Orta Toroslar'da yer alan Bolkar dağları, kırık arazi yapısı, derin vadiler ihtiva etmesi ve yükseltinin çok kısa mesafelerde artması nedeniyle, özellikle bitki tür çeşitliliği açısından çok zengindir. 1500'den fazla farklı bitki türü ve bunların 300 tanesinin Bolkar dağlarında endemik olduğu tespit edilmiştir (GEMİCİ 1992).

Bolkar dağları ekolojik ve floristik yönden zengin olması nedeniyle Dünya Bankasınca desteklenen "Bitki Genetik Çeşitliliğinin Yerinde Korunması (TU-28632)" Projesi kapsamında pilot uygulama alanı olarak belirlenmiştir. Bu proje kapsamında kızılçam (*Pinus brutia* Ten.), gen kaynaklarının yerinde korunması amacıyla *Hedef Tür*'lerden biri olarak seçilmiştir. Çünkü kızılçam, doğal yayılış alanının dışında kurak mntıkların ağaçlandırılmalarında da önem kazanmakta olup (SCHILLER 1994), yurdumuzda yıllık olarak ortalama 42.000 ha alan yani, yıllık tüm ağaçlandırma alanlarının %37'sinde kullanılmaktadır (IŞIK ve KARA 1997; GÜNAY ve TACENUR 1993). Bu büyük ağaçlandırma programları ve ekonomik önemi nedeniyle gelecekteki seleksiyon, ıslah çalışmaları ve gen kaynaklarının korunmasını hak eden tek orman ağacı türümüz olduğu söylenebilir (IŞIK ve KARA 1997). Ayrıca yurdumuzun en hızlı gelişen doğal çam türü olması, çok kurak ve çok sıcak çevre şartlarına uyum sağlaması nedenleriyle de ağaçlandırmalar ve ıslah programları için çok önemli bir gen kaynağımızdır.

Yurdumuzda özellikle 1950 yılından sonra hızlanan tarımsal uygulamalar (aşırı otlatma, anız yakma, aşırı gübre ve kimyasal kullanımı vs.), endüstrileşme, şehirleşme, karayolu ve baraj inşaatları, doğadan bitki toplanması, ormancılık faaliyetleri, yangınlar ve turizm, orman ağacı popülasyonları ve biyolojik çeşitliliğin azalması ve doğal habitatlarının parçalanması üzerindeki baskıları hızlandırmıştır (KAYA ve ark. 1997). Bu nedenle önemli bir orman ağacı türümüz olan kızılçamın gen kaynaklarının daha fazla erozyona uğramadan yerinde korunması gerekmektedir.

Gen kaynaklarının yerinde korunmasının etkili yapılabilmesi için ilgili türlerin genetik (izoenzim) çeşitlilik yapılarının bilinmesi önemlidir (MILLAR ve MARSHALL 1991). İzoenzim tekniklerinin gelişmesi orman ağaçlarının genetik yapılarının ortaya çıkarılmasında önemli bir adım olmuştur (LUNDKVIST ve RUDIN 1977).

Bu çalışma ile Bolkar dağlarından örneklenen sekiz adet kızılçam popülasyonunun (aralarında serbestçe gen alışverişi olabilen bireyler topluluğu), izoenzim tekniklerini kullanarak genetik yapılarını ortaya koymak, popülasyonlara ait genetik parametreleri tahmin ederek popülasyonlar arası ve içi genetik çeşitliliğin boyutlarını tespit etmek ve nihayet bu sonuçları değerlendirerek bu popülasyonlar arasında belirlenecek Gen Koruma ve Yönetim Alanı (GEKYA)'nın tespitinde önerilerde bulunmak amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitkisel Materyal

Bolkar dağlarında belirlenen sekiz adet doğal kızılçam popülasyonundan 1996 yılı sonbaharında toplam 312 ana ağaçtan, serbest dölleniş tohumlar toplanmıştır (Tablo 1, Şekil 1). Her bir popülasyon içerisindeki tohum toplanan bireyler rastgele örnekleme yöntemi ile seçilmiş ve birbirlerinden en az 100 m uzaklıkta olmalarına dikkat edilmiştir. Bir popülasyon içerisinde örneklenen bireyler arasındaki yükselti farkının 300 m'den fazla olmamasına da dikkat edilmiştir.

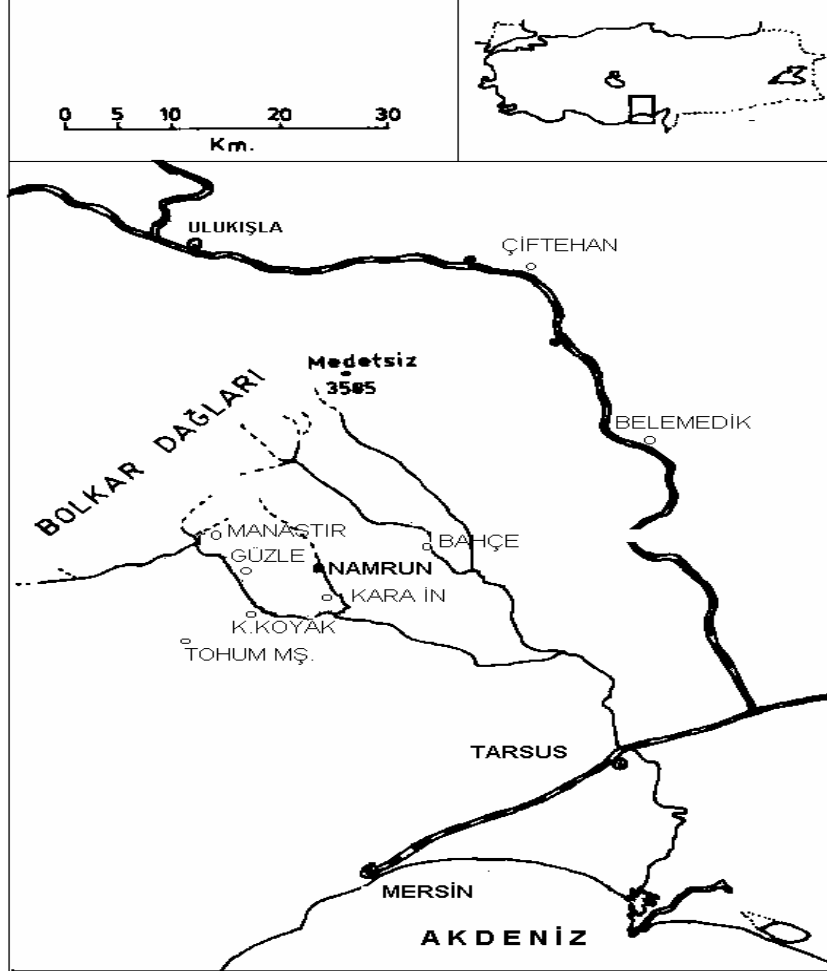
Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsünün (DOA) izoenzim laboratuvarında, 312 ailenin her birinden yedi adet tohumun endospermi izoenzim analizlerine (protein elektroforezi) tabi tutulmuştur. Tohumların çimlendirilmesi için tohumlar önce %2'lik H₂O₂ (Hidrojen peroksit) içerisinde 48 saat bekletildikten sonra petri kutuları içerisine konulan ıslak filtre kağıtları üzerine yerleştirilmişlerdir. Daha sonra bu kutular sıcaklığı 20 °C'ye ayarlı ve bir günde 12 saat aydınlatılan çimlendirme dolabına (Conviron marka çimlendirme dolabı) konulmuşlardır. Çimlendirme dolabında çimlenen ve kökçükleri 3–10 mm uzunluğa ulaşan tohumlar kökçüklerinin daha fazla uzamamaları için elektroforez işlemine (hazırlanan jellere elektrik akımı verilmesi işlemi) kadar buzdolabında (4°C) muhafaza edilmişlerdir.

Tablo 1. Örneklenen Kızılçam Popülasyonlarına Ait Coğrafik Bilgiler ve Büyüklükleri

Table 1. Locations and sizes of sampled Turkish red pine populations.

Popülasyon	Enlem(N)	Boylam(E)	Yük selti (m)	Alanı (ha)	Popülasyon büyüklüğü	Popülasyon büyüklüğü
Populations	Latitude	Longitude	Elev.	Area (ha)	Toplam ^a	Örnek Ağaç Sy. Sayısı Sample
<i>Karain</i>	37° 07' 31''	34° 39' 16''	890	213.5	39 094	45
<i>Bahçe</i>	37° 13' 41''	34° 37' 84''	870	240.0	58 029	30
<i>Güzle</i>	37° 08' 32''	34° 31' 88''	1270	84.5	32 724	45
<i>Karakoyak</i>	37° 06' 87''	34° 31' 36''	840	164.5	47 961	45
<i>Tohum</i>	37° 06' 45''	34° 32' 4''	1130	99.5	45 007	35
<i>Meş. (K.Koy</i>						
<i>Çiftehane/ Ulukışla</i>	37° 30' 46''	34° 48' 37''	1030	118.0	23 105	45
<i>Belemedik</i>	37° 20' 66''	34° 53' 52''	845	97.5	39 701	36
<i>Manastır</i>	37° 12' 35''	34° 28' 47''	1440	108.0	19 030	31

^a Popülasyonlardaki ağaç sayıları amenajman planlarından alınmıştır. ^a Approximate number of adult trees based on management plan.



Şekil 1. Kızılçam Populasyonlarının Yerleri
Figure 1. Locations of Turkish red pine populations sampled

2.2. Elektroforez İşlemi ve Jellerin Yorumlanması

Elektroforez işleminde (İzoenzim analizi) tohumların endospermleri kullanılmıştır. Çünkü ibrelilerin endospermleri haploid doku olup, 1N kromozom taşımaktadırlar. Yani, sadece alındığı ağacın genlerini taşımakta, babanın genlerini taşımamaktadır. Bu nedenle bunların analizi ile sadece tohumların alındığı ana ağacın gen yapılarını ortaya koymak mümkün olabilmektedir.

Doku özütleri (tissue extracts), çimlenen tohumların endospermleri (megagametofit) 2-3 damla 0.2 M fosfat tampon çözeltisi (pH 7.5) (CONKLE ve ark. 1982) içerisinde ezilerek hazırlanmıştır. Bu işlemler, enzim aktivitesini en iyi şekilde muhafaza edebilmek için buz üzerinde yapılmıştır (ADAMS ve ark. 1990).

Özütler, 3.5x1.5 mm boyutlarında kesilen filtre (Whatman chromatography no. 3 MM) kağıtlarına (fitil) emdirilmişler ve daha sonra bu fitiller, önceden hazırlanan %12'lik patates nişastası jeli üzerinde dikey olarak kesilen bölüme her ağaç için yedi adet olmak üzere toplam 35 adet yerleştirilmiştir. Ayrıca her jelin iki ucuna işaretleyici olarak kullanılmak üzere kırmızı gıda boyası emdirilmiş fitil de yerleştirilmiştir. Jel hazırlığı CONKLE ve ark. (1982)'nin tarif ettiği şekilde yapılmıştır.

Jeller, içten içe 21.5 cm uzunluğunda ve 12.5 cm genişliğinde pleksiglasdan yapılmış kalıpların içerisine dökülmüşlerdir. Bu kalıpların kalınlığı ise boyanacak jel sayısına göre, sistem B için 0.5 cm, diğer sistemler için 0.8 cm olarak alınmıştır. Hazırlanan jeller soğuduktan sonra üzerleri mutfak filimi ile kaplanarak bir gün oda sıcaklığında bekletilmiştir.

Üzerine doku özütleri ve gıda boyası emdirilmiş fitiller yerleştirilen jeller, daha sonra pleksiglasdan yapılmış ve içerisine CONKLE ve ark. (1982)'na göre hazırlanmış elektrot tampon çözeltisi konulan elektroforez aletinin üzerine yerleştirilmiştir. Jellerin yürütülmesi (doğru akım verilmesi) işlemi buzdolabı (4°C) içerisinde yapılmıştır. Doğru akım verilmeye başlandıktan 15 dakika sonra jel üzerindeki fitiller alınarak elektroforez işlemine, kırmızı gıda boyası sistem A ve B'de 6 cm, sistem C ve D'de 8 cm ilerleyinceye kadar devam edilmiştir. Jellere uygulanan elektrik akımının amperi (sistem A ve B için 70 mA, C ve D için 55 mA) sabit tutulmuş, voltaj serbest bırakılmıştır. Ancak, akım 320 volta ulaştığı andan itibaren voltaj sabit tutulmuş, amper serbest bırakılmıştır.

Elektroforez işleminden sonra jeller 4 veya 6 parçaya yatay olarak dilimlenmiştir. Daha sonra her jel dilimi sistemine ve enzimlerine göre hazırlanan boyaların bulunduğu kaplar içerisine konularak karanlık, sıcaklığı 37°C ayarlı iklimlendirme dolabı içerisinde enzim bantları belirginleşinceye kadar bekletilmişlerdir. Elektrot tampon çözeltiler ve boyalar CONKLE ve ark. (1982)'nin bildirdiği şekilde hazırlanmıştır. Toplam olarak 12 enzim sistemi analiz edilmiştir (Tablo 2).

İzoenzimlerin genetik kontrolü 312 ana ağaçtan alınan endospermlerde gözlemlenen bant şekillerinden çıkarılmıştır. Aynı izoenzim bantları için açılım (segregasyon) gösteren endosperm verileri harmanlanarak, "Ki Kare" analizi ile 1:1 Mendel açılım oranına uyup uymadığı test edilmiştir (ADAMS ve JOLY 1980). Bu işlemler örnek sayısının en az 28 olduğu durumlarda yapılmıştır (dört veya daha fazla ağaçtan veri olması halinde).

Tablo 2. Çalışmada Kullanılan Jel ve Elektrot Tampon Çözeltileri ve Enzim Sistemleri

Table 2. Gel and tray buffers and enzyme systems used in this study.

Jel / Elektrot Tampon Çözeltisi	Enzimler	Kısaltmalar	Enzim Kod No
Gel/Tray buffers	Enzyme	Abbr.	EC No.
TC ^a (SİSTEM A)			
Tris citrate (pH 6.2)/	Phosphoglucomutase	PGM	2.7.5. 1
Tris citrate (pH 6.2)	Alcohol dehydrogenase	ADH	1.1.1.1
	Menadione reductase	MNR	1.6.99.2
TC ^a (SİSTEM B)			
Tris-citrate (pH 8.8)/	Glutamate oxaloacetate	GOT	2.6.1.1
Sodium borate (pH 8.0)	transaminase		
	Catalase	CAT	1.11.1.6
MC8.3 ^a (SİSTEM C)			
Morpholine citrate	Superoxide dismutase	SOD	1.15.1.1
(pH 8.3)	6-Phosphogluconic	6PGD	1.1.1.44
	dehydrogenase		
	Phosphoglucose	PGİ	5.3.1. 9
	isomerase		
	Malate dehydrogenase	MDH	1.1.1.37
MC 6.1 ^a (SİSTEM D)			
Morpholine citrate	Isocitrate dehydrogenase	İDH	1.1.1.42
(pH 6.1)	Acotinase	ACO	4.2.1.3
	Acid phosphatase	ACP	3.1.3.2

^a Conkle ve ark. (1982).

Enzimler, enzimlerin kısaltmalarının büyük harflerle yazılması ile belirtilmiştir (Tablo 2). Bir enzimi kodlayan her bir lokus, enzimlerin kısaltmalarının (baş harfler büyük) italik harflerle yazılması ile belirtilmiştir. Bazı enzimlerde birden çok lokus görülmüştür. Bu durumlarda en hızlı ilerleyen lokus, enzim kısaltmasının önüne 1 rakamı konularak, diğerlerine de sıra ile 2, 3 vb. rakamlar verilerek, belirtilmiştir. Aynı yöntem her lokustaki alleller için de uygulanmıştır (Lokus, genlerin kromozomlar üzerinde bulunduğu yer. Allel, bir genin bir lokusta bulunabilen değişik formu).

Her bir ana ağacın genotipi her bir lokusta bulunan ve örneklenen yedi endospermdeki allellerden çıkarılmıştır. Yedi örnekten ana ağacın genotipinin çıkarılmasındaki hata ihtimali $(1/2)^6 = 0.02$ den daha azdır (MORRIS ve SPIETH 1978).

2.3. Verilerin Değerlendirilmesi

Populasyonlara ait parametrelerin hesaplanmasında aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

$$\text{Allel Yoğunluğu} = f(A_i) = \frac{(2N_{ii} + \sum_{j=1}^m N_{ij})}{2N} \quad (\text{NEI 1987})$$

Bu eşitlikte $f(A_i)$ = i allelinin yoğunluğunu, N = populasyondaki birey sayısını, N_{ii} ve N_{ij} = populasyondaki A_{ii} ve A_{ij} genotiplarının sayısını, m = allel sayısını temsil etmektedir.

$$\text{Ortalama Heterozigotluk} = \hat{h} = \frac{2n(1 - \sum x_i^2)}{2n - 1} \quad (\text{NEI 1987})$$

Bu formüldeki \hat{h} = populasyonların ortalama beklenen heterozigotluk oranı, n = örneklenen ve genotipi belirlenen birey sayısı, x_i = i lokusundaki ortalama allel yoğunluğudur.

$$\text{Ortalama Allel Sayısı} = n_a = A = \frac{\sum n_{ai}}{r} \quad (\text{NEI 1987})$$

Eşitlikteki $n_a = A$ = lokus başına düşen ortalama allel sayısını, n_{ai} = i. lokustaki allel sayısını, r = lokus sayısını göstermektedir.

$$\text{Etkili Allel Sayısı} = A_e = 1/\sum x_i^2 \quad (\text{KIMURA ve CROW 1978})$$

Eşitlikteki x_i = i lokusundaki ortalama allel yoğunluğudur.

$$\text{Polimorfik Lokus Oranı} = P = \frac{n_p}{r} \quad (\text{NEI 1987})$$

Formüldeki n_p = polimorfik lokus sayısı, r = lokus sayısıdır.

WRIGHT (1965)'in F-istatistiği kullanılarak kızılçam için üç türlü kendilenme (fiksasyon indeksi) tahmin edilmiştir. Bunlar sırası ile F_{is} , F_{it} , F_{st} değerleri olup, aşağıdaki formüllerle hesaplanmıştır.

$$F_{is} = \frac{H_S - H_I}{H_S} = 1 - \frac{H_I}{H_S}$$

$$F_{it} = \frac{H_T - H_I}{H_T} = 1 - \frac{H_I}{H_T}$$

$$F_{st} = \frac{H_T - H_S}{H_T} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$$

F_{is} eşitliğinde populasyon içi fiksasyon indeksi (F_{is}) tahmin edilmektedir. Yani, populasyon içerisindeki gerçek heterozigotluk düzeyinin Hardy-Weinberg prensibine göre olması gereken miktardan sapma olup olmadığını göstermektedir. Hardy-Weinberg prensibi: Kendi içinde döllenerek sonsuz büyüklükteki populasyonlarda, eşleşmenin rastgele olması, seleksiyon, mutasyon ve göç olmaması durumunda gen ve genotip frekansları kuşaklar boyunca sabit kalacaktır. Yani dengedeki populasyonlarda gen ve genotip frekansları p^2 (AA), $2pq$ (Aa) ve q^2 (aa) şeklinde olacaktır (KING ve STANSFIELD 1990).

F_{it} formülünde populasyonların tamamındaki toplam fiksasyon indeksi (F_{it}) tahmin edilmektedir. Yani, populasyonların tamamındaki toplam gerçek heterozigotluk düzeyinin Hardy-Weinberg prensibine göre olması gereken miktardan sapma olup olmadığını göstermektedir.

F_{st} eşitliğinde populasyonlar arasındaki allel yoğunluğu farklılığından dolayı meydana gelen fiksasyon indeksindeki azalma tahmin edilmektedir. Aynı zamanda populasyonlar arasındaki farklılığı da belirtmektedir.

Yukarıdaki eşitliklerde kullanılan H_I , H_T , H_S değerleri NEI (1987)'ye göre şu şekilde hesaplanmıştır.

$H_I = \sum H_{oj} / s$, burada $H_{oj} = j$ populasyonunda gözlenen heterozigotluk oranı, $s =$ populasyon sayısıdır.

$H_T = 1 - \sum x_{ia}^2$, burada $x_{ia}^2 =$ bütün populasyonlar göz önüne alındığında i . allelinin ortalama yoğunluğudur (frekans).

$H_S = \sum H_{ej} / s$, burada $H_{ej} = j$ populasyonunda beklenen heterozigotluk orandır.

Populasyonlar arasında bir kuşakta oluşan gen alışverişini gösteren

Gen Akımı = $Nm = 0.25(1-F_{st})/F_{st}$, (NEI 1987). eşitliği ile

hesaplanmıştır.

NEI (1978)'ye göre hesaplanan kızılçam populasyonları arasındaki genetik mesafe değerlerinin hesabında aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır.

$$\text{Genetik Mesafe} = D = - \ln I$$

Burada, I = genetik benzerliktir. Bunun hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$I = J_{xy} / (J_x J_y)^{1/2}$$

Buradaki $J_{xy} = \sum x_i y_i$, $J_x = \sum x_i^2 / r$, $J_y = \sum y_i^2 / r$, formülleri kullanılarak hesaplanmıştır. Formüllerdeki x_i ve $y_i = x$ ve y populasyonlarındaki i . allelinin frekansını, r ise lokus sayısını göstermektedir.

Yukarıdaki formüllerin hesaplanmalarında, Biosys-1 (SWOFFORD ve SLEANDER 1989) ve Popgene-1.21 (YEH ve ark. 1997) bilgisayar programları kullanılmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. İzoenzim Bant Yapıları ve Genetik Kontrolleri

Her birinin tek lokus tarafından kontrol edildiği kabul edilen yirmi zon, analiz edilen 12 enzim sisteminde düzenli olarak çözünmüşlerdir (Şekil 2). Analiz edilen 312 ana ağacın endospermlerinden gözlemlenen beş adet lokus tek alleli (monomorf), diğer 15 adet lokus ise 2 – 3 alleli ihtiva etmektedir (polimorf). İzoenzim bant yapıları (Şekil 2) ve bunların kalıtım delilleri (Tablo 3) her bir enzim için ayrı ayrı verilmiştir. Aksi belirtilmedikçe, her zondaki değişkenler beklenen 1:1 oranına göre açılım göstermektedir. Bu durum bu zonların tek lokus kontrolü altında olduğunu işaret etmektedir.

ACO: Bu enzim sisteminde tek bantlı iki alleli tek zon tespit edilmiştir (Şekil 2). Kızılçamda yapılan diğer çalışmalarda da *Aco* enzim sisteminde tek lokus, iki veya üç allel gözlenmiştir (KOROL ve ark. 1995; KARA 1996). Diğer çam türlerinde de aynı durum tespit edilmiştir (STRAUSS ve CONKLE 1986; DOĞAN ve ark. 1997; VELİOĞLU ve ark. 1998)

ACP: ACP enzim sisteminde iki zon aktivitesi ve birinci zonda (*Acp1*) çift bantlı tek allel (monomorfik), ikinci zonda (*Acp2*) ise tek bantlı üç allel gözlenmiştir (polimorfik) (Şekil 2). Kızılçamda yapılan diğer çalışmalarda da benzer durumlar tespit edilmiştir (KOROL ve ark. 1995; KARA 1996; DOĞAN 1997). Açılım verileri bu iki zonun da ayrı ayrı tek lokus kontrolü altında olduğunu göstermektedir (Tablo 3).

ADH: ADH için boyanan jellerde iki zon tespit edilmiştir. Fakat birinci zon (*Adh1*) sürekli olarak gözlenemediğinden değerlendirmeye alınmamıştır. *Adh2* zonunda ise tek bantlı iki allel belirlenmiştir (Şekil 2).

Kızılçamda yapılan diğer çalışmalarda da bu enzim sisteminde iki lokus belirlenmiş fakat hepsinde de *Adh1* lokusu açık boyanmıştır (KOROL ve ark. 1995; KARA 1996; DOĞAN 1997).

Tablo 3. Heterozigot Bireylerin Endospermelerinde Gözlenen Açılım ve Beklenen 1:1 Oranına Uygunluk Testi

Table 3. Observed allozyme segregation in megagametophytes of heterozygous parent trees and goodness-of-fit to the expected 1:1 ratio.

Lokuslar Loci	Allelik ^a Bileşimler Allelic ^a Combination		Gözlenme Sayısı Observed no.		Sapma Deviation	
	F	S	F	Toplam Total	$\chi^2(df=1)$	Olasılık Prob.
<i>Aco</i>	1	2	283	532	0.68	0.25 - 0.50
<i>Acp-2</i>	1	2	428	812	2.28	0.10 - 0.25
	1	3	43	84	0.12	>0.90
	2	3	95	182	0.27	0.50 - 0.75
<i>Adh - 2</i>	1	2	62	126	0.03	>0.90
<i>Cat</i>	1	2	18	42	0.60	0.25 - 0.50
<i>Got1</i>	1	2	484	987	0.33	0.50 - 0.75
<i>Mdh-1</i>	1	2	417	826	0.059	>0.90
<i>Mdh-2</i>	1	2	286	543	1.44	0.25 - 0.10
<i>Mnr-2</i>	1	2	26	70	4.13	0.05 - 0.025
	2	3	188	364	0.33	0.50 - 0.75
<i>Pgi-1</i>	1	2	32	63	0.000	>0.90
<i>Pgi-2</i>	1	2	11	28	0.89	0.25 - 0.50
	1	3	137	301	2.25	0.25 - 0.10
	2	3	78	175	1.85	0.25 - 0.10
<i>6Pgd-1</i>	1	2	269	572	1.90	0.25 - 0.10
<i>6Pgd-2</i>	1	2	386	735	1.76	0.25 - 0.10
<i>Sod-2</i>	1	2	28	49	0.74	0.25 - 0.50

^a Her bir allelik birleşme çiftinde hızlı (F) ve yavaş (S) ilerleyen allelleri kotlamaktadır.

^a Alleles coding faster (F) and slower (S) migrating allozyme bands of each allelic pair.

CAT: Bu enzim sistemi için boyanan jellerde kalın bantlı ve iki allelli tek zon gözlenmiştir (Şekil 2). Açılım verileri bu zonun tek lokus kontrolü altında olduğunu göstermektedir (Tablo 3). DOĞAN (1997) tarafından da kızılçamlarda bu enzim sisteminde tek lokus tespit edilmiştir. Diğer ibrelilerde de aynı durum tespit edilmiştir (HARY 1986; ADAMS ve ark. 1990; FADY ve CONKLE 1992; GÜLBABA ve ark. 1996).

GOT: GOT enzim sisteminde 3 zon tespit edilmiştir (Şekil 2). Bu üç zon da polimorfiktir. *Got1* ve *Got2* zonlarında tek bantlı iki allel, *Got3* zonunda üç bantlı iki allel belirlenmiştir (Şekil 2). *Got3* zonu her zaman koyu olarak boyanmış ve kısmen ters yönde hareket etmiştir. Aynı durum KARA (1996) ve DOĞAN (1997) tarafından da tespit edilmiştir. *Got2-2* ve *Got3-2* allellerinin yoğunlukları düşük bulunmuştur. Bu üç zon da diğer ibrelilerde olduğu gibi tek lokus kontrolü altındadır (NEALE ve ADAMS 1981; FADY ve CONKLE 1992; SUYAMA ve ark. 1992).

IDH: Bu enzimde tek ve monomorfik bir zon tespit edilmiştir (Şekil 2). Kızılçamda yapılan pek çok çalışmada da bu enzim sisteminde aynı durum tespit edilmiştir (KOROL ve ark. 1995; KARA 1996; PANETSOS ve ark. 1997). Fakat, DOĞAN (1997) değerlendiremeyen ikinci bir lokusun varlığından bahsetmekte ve değerlendirdiği lokusta da üç allel tespit etmiştir. PANETSOS ve ark. (1998) ise kızılçamda tek lokus, fakat sadece bir popülasyonda düşük yoğunlukta iki allel daha tespit etmiştir.

MDH: MDH enzim sistemi için boyanan jellerde üç zon aktivitesi tespit edilmesine rağmen en yavaş ilerleyen zon olan *Mdh3* her zaman boyanmamış ve bu nedenle değerlendirmeye alınmamıştır. Bu çalışmada kullanılan materyalde *Mdh2* zonunda çift bantlı iki allel gözlenirken *Mdh1* zonunda tek bantlı iki allel gözlenmiştir (Şekil 2). Kızılçamda yapılan diğer çalışmalarda genel olarak dört zon tespit edilmesi ile beraber iki zon değerlendirilebilmiştir (KOROL ve ark. 1995; KARA 1996; DOĞAN 1997; PANETSOS ve ark. 1998). Açılım verileri her iki zonun da tek lokus kontrolü altında olduğunu göstermektedir (Tablo 3).

MNR: Bu enzim sisteminde de ADH de olduğu gibi iki zon tespit edilmesine rağmen hızlı ilerleyen zon (*Mnr1*) çok açık boyanmış ve güvenli olarak allellerin tespiti mümkün olmadığından değerlendirilmemiştir. Yavaş ilerleyen zon (*Mnr2*) ise tek bantlı üç allele sahiptir (Şekil 2). KARA (1996) ve DOĞAN (1997) kızılçamda yaptıkları çalışmada, bu enzimde iki lokus fakat değişik sayıda allel tespit etmişlerdir. *Mnr2-2/ Mnr2-3* heterozigot bireylere ait açılım verileri tek lokus kontrolünü desteklemesine rağmen, *Mnr2-1/ Mnr2-2* heterozigot bireylerin endospermelerinde *Mnr2-1* allelinde küçük fakat önemli ($P < 0.05$) oranda noksanlık vardır (Tablo 3). Bunun nedeni, *Mnr2-1* alleli için tek yönlü seleksiyon etkisi veya allel bağılılığı (linkage) olabilir. Fakat, büyük bir olasılıkla çalışılan örnek sayısının azlığından dolayı oluşan örnekleme hatasının sonucudur.

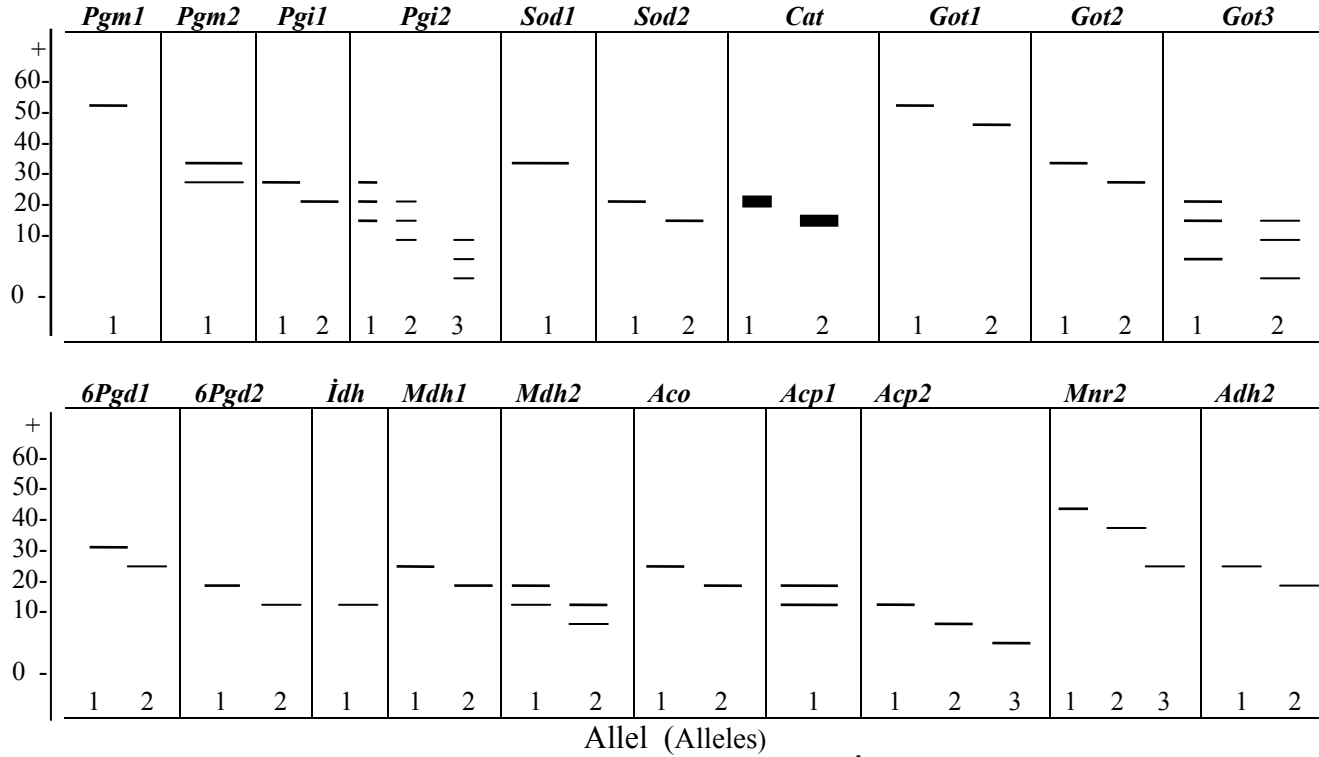
6PGD: 6PGD enzim sisteminde iki zon belirlenmiştir. *6pgd1* ve *6pgd2* lokuslarında tek bantlı iki allel tespit edilmiştir (Şekil 2). Heterozigot bireyler için yapılan açılım analizleri, her iki zonun ayrı ayrı tek lokus kontrolü altında olduğunu göstermektedir (Tablo 3). Kızılçamda yapılan diğer çalışmalarda da iki lokus, fakat farklı sayıda alleller tespit etmişlerdir (KOROL ve ark. 1995; DOĞAN 1997; PANETSOS ve ark. 1998). KARA (1996) ise bu enzim

sisteminde üç lokus tespit etmiş, fakat birinci lokusta genotipleri her zaman belirleyememiştir. Diğer pek çok ibreli türlerde de bu enzim sisteminde iki lokus tespit edilmiştir (KING ve DANCİK 1983; MILLAR 1985; ADAMS ve ark. 1990; SCALTSOYIANNES ve ark. 1994; GÜLBABA ve ark. 1996; VELİOĞLU ve ark. 1998).

PGİ: PGİ enzim sisteminde iki zon gözlenmiştir. Hızlı ilerleyen zonda tek bantlı iki allel, yavaş ilerleyen zonda ise üç bantlı üç allel tespit edilmiştir (Şekil 2). Bu iki zonun da ayrı ayrı tek lokus kontrolunda olduğu yapılan “ki kare” analizleri ile tespit edilmiştir (Tablo 3). DOĞAN (1997), KARA (1996) ve PANETSOS ve ark. (1998) da kızılçamda bu enzim sisteminde iki lokus, fakat farklı sayıda allel tespit etmişlerdir. Benzer durum diğer ibrelilerde de tespit edilmiştir (GÜLBABA ve ark. 1996; DOĞAN ve ark. 1997; VELİOĞLU ve ark. 1998).

PGM: PGM için boyanan jellerde iki zon tespit edilmiştir. Hızlı ilerleyen lokusta tek bantlı, tek allel tespit edilmiştir. İkinci lokusta ise çift bantlı tek allel gözlenmiştir (Şekil 2). Aynı durum KARA (1996) tarafından da kızılçamda tespit edilmiştir. Fakat DOĞAN (1997) kızılçamda iki lokus ve her iki lokusta da ikişer allel tespit etmiştir. Karaçamda ve diğer ibrelilerde de benzer durum tespit edilmiştir (ADAMS ve JOLY 1980; VELİOĞLU ve ark. 1998). Her iki zonun da tek lokus kontrolu altında olduğu kabul edilmiştir.

SOD: Bu enzim sisteminde de iki zon tespit edilmiştir (Şekil 2). Hızlı ilerleyen zon bütün populasyonlarda monomorfik, yavaş ilerleyen zon ise iki allele sahiptir. Aynı şekilde KARA (1996) da kızılçamlarda iki zon tespit etmiştir. Fakat her iki zonu da bütün populasyonlarda monomorfik olarak gözlemlemiştir. Benzer durum karaçamlarda da tespit edilmiştir (DOĞAN ve ark. 1997; VELİOĞLU ve ark. 1998).



Şekil 2. Endosperm Bant Yapıları ve Bunların Kızılcama Ait 20 Lokus İçin Verilen Allel Numaraları

(Dikey çizgi üzerindeki numaralar allellerin orijinden itibaren ilerlemelerini cm olarak göstermektedir.)

Figure 2. Megagametophyte banding patterns and their allelic designations for 20 allozyme loci of Turkish red Pine

(Numbers on vertical axis refer to migration distances (cm) from the origin).

3.2. Populasyonların Genetik Yapıları

Hiç bir populasyonda 32'den (*Karakoyak*) (*Ulukışla/Çiftehan* en az, 28 allel) fazla allel bulunmamasına rağmen, sekiz populusyona ait 15 polimorfik lokusta toplam 33 allel gözlenmiştir (Tablo 4). Yapılan analizlerde bir populusyonda tespit edilemeyen bir allelin, diğer populusyonlarda da düşük yoğunlukta ($p<0.05$) veya hiç bulunmadığı tespit edilmiştir (*Cat-1*, *Sod2-2*, *Got2-1*, *Got3-1*, *Mnr2-1*) (Tablo 4). Buradan hareketle, bu alleller üzerindeki seleksiyon baskısının bütün populusyonlarda aynı yönde etkili olduğu ileri sürülebilir. Bütün populusyonlarda tespit edilen, fakat bazı populusyonlarda düşük yoğunlukta bulunan bir allel, diğer populusyonlarda nispeten yüksek yoğunlukta bulunmaktadır (*Acp2-3*, *Adh2-1*, *Pgi2-1* *Mnr2-3*) (Tablo 4). Bu duruma farklı seleksiyon etkisi potansiyel bir neden olabilir (GÜLBABA ve ark. 1996). Sadece eski *Tohum Meşçeresi*'nde eşsiz allel (unique allele) tespit edilmiştir (*Got2-1*, Tablo 4).

Sekiz populusyon arasındaki genetik farklılığın fazla olmadığını delili ise, 15 polimorfik lokustan sadece dört tanesinin (*Sod2*, *Mdh2*, *Adh2*, *Pgi2*) allel yoğunlukları arasında önemli oranda ($p<0.05$) farklılık bulunmasıdır. Bu dört lokusun tamamında en baskın allellerin yoğunlukları 0.48 veya daha yukarıdır (Tablo.4).

Kızılçamda çalışılan 12 enzim sisteminde tespit edilen 20 lokusun beş adedi (*Acp1*, *Idh*, *Pgm1*, *Pgm2*, *Sod1*) bütün populusyonlarda monomorfik olarak bulunmuştur. Bunların içerisinde *Idh*, *Pgm1*, *Pgm2* ve *Sod1* diğer bazı çalışmalarda da monomorfik olarak bulunmuştur (KOROL ve ark. 1995; KARA 1996; PANETSOS ve ark. 1997). Bazı lokuslardaki alleller (*Cat-2*, *Sod2-1*, *Got2-2*, *Got3-2*) ise bazı populusyonlarda monomorfik olarak bulunmuştur (Tablo 4). Diğer lokusların tamamı bütün populusyonlarda polimorfik olarak bulunmuştur.

Bütün populusyonlarda F_{is} (Fiksasyon indeksi) değeri pozitif (heterozigot birey noksanlığı) ve yüksek bulunmuştur. F_{is} değeri *Cat*, *Mdh1*, *Got1*, *Got2*, *Got3* ve *Mnr2* lokuslarında negatif (Heterozigot fazlalığı), diğer lokuslarda ise pozitif bulunmuştur (Tablo 5). F_{is} en yüksek *Pgi1* lokusunda (0.774) tespit edilmiştir (Tablo 5). F_{is} değeri en düşük 0.159 ile *Manastır*'da, en yüksek ise 0.399 ile *Belemedik* populusyonunda bulunmuştur (Tablo 6). Bütün populusyonlar için ortalama F_{is} değeri ise 0.295 olarak hesaplanmıştır (Tablo 5, Tablo 6). Yani, bu populusyonlarda heterozigot bireylerin olması gereken miktardan %29.5 oranında noksanlık vardır. Kızılçamla yapılan diğer çalışmalarda KARA (1996) ortalama 0.167, DOĞAN (1997) 0.187 ve PANETSOS ve ark. (1998) 0.042 bulmuşlardır. Bu verilere göre Bolkar dağları kızılçamlarında bulunan F_{is} değeri hayli yüksektir.

Tablo 4. Sekiz Kızılcım Populasyonunda 15 Polimorfik Lokustaki Allel Yoğunlukları ve Heterojenlik Değerleri

Table 4. Allele frequencies and heterogeneity at 15 variable loci in eight populations of Turkish red pine

Lokus/ Allel Locus/ Allele		Populasyonlar ^a Populations ^a							Heterojenlik Değeri Heterogeneity			
		Karain	Bahçe	Güzle	K.koyak	Tohum Mş.	Ulukış.	Belem	Manastır	χ^2	df	Prob.
<i>Aco</i>	1	0.431	0.458	0.347	0.423	0.481	0.279	0.355	0.380	8.24	7	0.312
	2	0.569	0.542	0.653	0.577	0.519	0.721	0.645	0.620			
<i>Acp-2</i>	1	0.389	0.357	0.422	0.344	0.371	0.372	0.216	0.517	33.87	14	0.002
	2	0.567	0.482	0.544	0.633	0.557	0.500	0.649	0.383			
	3	0.044	0.161	0.033	0.022	0.071	0.128	0.135	0.100			
<i>Adh-2</i>	1	0.188	0.188	0.094	0.148	0.053	0.052	0.021	0.125	17.77	7	0.005
	2	0.812	0.812	0.906	0.852	0.947	0.948	0.979	0.875			
<i>Cat</i>	1	0.013	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000	0.000	0.020	7.29	7	0.399
	2	0.987	1.000	1.000	0.974	1.000	1.000	1.000	0.980			
<i>Got-1</i>	1	0.381	0.293	0.384	0.420	0.387	0.257	0.333	0.357	6.55	7	0.478
	2	0.619	0.707	0.616	0.580	0.613	0.743	0.667	0.643			
<i>Got-2</i>	1	0.000	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.028	0.000	10.66	7	0.154
	2	1.000	1.000	1.000	0.989	1.000	1.000	0.972	1.000			
<i>Got-3</i>	1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000	0.000	0.000	9.36	7	0.228
	2	1.000	1.000	1.000	1.000	0.981	1.000	1.000	1.000			
<i>Mdh-1</i>	1	0.307	0.224	0.322	0.256	0.171	0.256	0.216	0.300	9.26	7	0.234
	2	0.693	0.776	0.678	0.744	0.829	0.744	0.784	0.700			
<i>Mdh-2</i>	1	0.476	0.690	0.605	0.614	0.750	0.662	0.515	0.750	19.36	7	0.007
	2	0.524	0.310	0.395	0.386	0.250	0.338	0.485	0.250			

Tablo 4. Devam

Table 4. Continued

Lokus/ Allel Locus/ Allele		Populasyonlar Populations							Heterojenlik Değeri Heterogenety			
		Karain	Bahçe	Güzle	K.koyak	Tohum Mş.	Ulukış.	Belem	Manastır	χ^2	df	Prob.
<i>Mnr-2</i>	1	0.023	0.020	0.000	0.024	0.037	0.000	0.028	0.017	10.63	7	0.714
	2	0.942	0.860	0.915	0.878	0.926	0.920	0.875	0.897			
	3	0.035	0.120	0.085	0.098	0.037	0.080	0.097	0.086			
<i>Pgi-1</i>	1	0.911	0.767	0.825	0.895	0.773	0.920	0.917	0.875	11.08	7	0.135
	2	0.089	0.233	0.175	0.105	0.227	0.080	0.083	0.125			
<i>Pgi-2</i>	1	0.045	0.135	0.107	0.107	0.086	0.114	0.030	0.125	27.21	14	0.018
	2	0.227	0.250	0.214	0.310	0.214	0.182	0.167	0.063			
	3	0.727	0.615	0.679	0.583	0.700	0.705	0.803	0.813			
<i>öpg-1</i>	1	0.192	0.192	0.289	0.250	0.220	0.379	0.205	0.289	9.32	7	0.230
	2	0.808	0.808	0.711	0.750	0.780	0.621	0.795	0.711			
<i>öpg-2</i>	1	0.341	0.462	0.436	0.527	0.500	0.317	0.432	0.579	12.01	7	0.100
	2	0.659	0.538	0.564	0.473	0.500	0.683	0.568	0.421			
<i>Sod-2</i>	1	0.943	1.000	0.963	0.985	0.966	1.000	1.000	0.978	14.35	7	0.478
	2	0.057	0.000	0.037	0.015	0.034	0.000	0.000	0.022			

^a: Populasyon örnek büyüklükleri Tablo 1' de verilmiştir.

^a: Population sample sizes are given in Table 1.

Heterozigot eksikliği pek çok nedene bağlı olabilir. Örneğin allel yoğunluklarının populasyon içerisindeki mekansal heterojenliği (örneğin Wahlund etkisi), geçmiş kuşaklarda akrabalar arası eşleşmeler ve tesadüfi örnekleme hatası olabilir (SPIESS 1977).

15 polimorfik lokus için hesaplanan F_{st} – istatistiğine göre populasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin farklılığı ($F_{st} = 0.0238$) %2.4 olarak bulunmuştur (Tablo 5). Bu oran çamlar için verilen ortalama değerlerden daha düşüktür ($F_{st} = (G_{st}) = 0.065$, HAMRICK ve ark. 1992). Fakat, kızılçamda daha önce yapılan bazı çalışmalarla uyum içerisinde. Nitekim KARA ve ark. (1997) ortalama 0.053, populasyon grupları arasında ise 0.018 – 0.085 oranında bulmuştur. DOĞAN (1997) 0.028, aynı şekilde PANETSOS ve ark. (1998) 0.021 bulmuşlardır.

Buna göre, Bolkar dağlarında örneklenen kızılçamlarda genetik çeşitlilik yüksek oranda (%97.6) populasyon içi aileler arasında bulunmaktadır. Çalışılan populasyonlar arasında genetik farklılığın az olması doğaldır. Çünkü, bu populasyonlar bir birlerine mesafe olarak yakın ve devamlılık göstermektedirler. Bunun sonucu olarak da aralarında döl alışverişi yoğun şekilde olmakta ve bu da populasyonlar arasındaki farklılığı azaltmaktadır. Nitekim, hesaplanan *Gen Akımı* değeri de ($Nm = 10.27$) yüksek bulunmuştur (Tablo 5). Rüzgarla döllen, dış döllek bitkiler için ortalama $Nm = 4.75$ 'dir (HAMRICK 1989). Bizim bulduğumuz değer, ortalama değerden hayli üstündedir. Fakat yine HAMRICK (1989)'in bildirdiği değerler arasındadır. Örneğin; Nm değeri *Plox cuspidata* için 0.050, *Pinus ponderosa* için 37.8'dir.

Bolkar dağları doğal kızılçam populasyonları için hesaplanan genetik çeşitlilik parametrelerinden olan lokus başına düşen ortalama allel sayısı (A) 1.7, etkili allel sayısı ise (A_e) 1.4 bulunmuştur (Tablo 6). İbreliler için bu değerler sırasıyla 1.83 ve 1.2 olarak verilmiştir (HAMRICK ve ark. 1992). Kızılçamda yapılan çalışmalarda ise ortalama allel sayısı 2.26 ile 1.6 arasında bildirilmiştir (SCHILLER 1994; KARA ve ark. 1997; DOĞAN 1997; PANETSOS ve ark. 1998). Bu verilere göre Bolkar dağları kızılçamları daha önce bildirilenlerle uyum içerisinde.

Kızılçam populasyonları için hesaplanan diğer bir genetik çeşitlilik parametresi olan polimorfik lokus oranı (P) ortalama 61.9 (Tablo 6), polimorfik lokus sayısı ise 15 olarak tespit edilmiştir (Tablo 5). Polimorfik lokus oranını ibreliler için HAMRICK ve ark. (1992) 53.4 olarak bildirmişlerdir. Kızılçamda yapılan çalışmalarda ise bu oran KARA ve ark. (1997) 69.6, DOĞAN (1997) 86.5, PANETSOS ve ark. (1998) 57.1, SCHILLER (1994), CONKLE ve ark. (1988)'nin çalışmasından derlediği verilerde ise 43 olarak bildirilmiştir. Bu çalışma ile bulunan değer, sadece DOĞAN (1997) tarafından tespit edilen oranla büyük farklılık göstermektedir. Genel olarak ibreliler için verilen ve diğer kızılçamlarla yapılan çalışmalardaki ortalama değerlerin üstündedir.

Bu verilere dayanarak Bolkar dağları kızılçamlarının yeterli polimorfizme sahip olduğunu söylenebilir.

En önemli genetik çeşitlilik parametrelerinden olan beklenen heterozigotluk oranı (H_e) Bolkar dağları kızılçamları için ortalama 0.216, en yüksek *Bahçe* populasyonunda (0.233) ve en düşük *Belemedik* populasyonunda (0.197) bulunmuştur (Tablo 6). Bu oranlar, tüm ibreliler için ($H_e = 0.151$) ve sadece çamlar için ($H_e = 0.136$) bildirilen (HAMRICK ve ark. 1992) değerlerden daha yüksektir. Kızılçamda yapılan diğer çalışmalarda ise bu değeri KOROL ve ark. (1995) 0.310, KARA ve ark. (1997) 0.265, DOĞAN (1997) ise 0.285 olarak tespit etmişlerdir. Bu değerler, bizim bulduğumuz değerlerin üzerindedir. Fakat, PANETSOS ve ark. (1998) kızılçamda beklenen heterozigotluk oranını 0.193 ile 0.231 arasında olduğunu bildirildiği halde, CONKLE ve ark. (1988)'nin çalışmalarından SCHILLER (1994)'in adapte ettiği verilerde ise 0.118 olarak bildirmiştir. Bu rakamlara göre Bolkar dağlarından örneklenen kızılçamlar, beklenen heterozigotluk oranı yönünden daha önceki çalışmalara ait değerler arasında bulunmaktadır.

Tablo 5. Kızılçam Populasyonlarının 15 Polimorfik Lokusta Wright'ın F- İstatistiği Değerleri

Table 5. The estimate of Wright's F- statistics in 15 loci of the Turkish red pine populations.

Lokuslar Loci	Örnek Sayısı Sample Size	F_{is}	F_{it}	F_{st}	Gen Akımı Gene Flow Nm
<i>Aco</i>	500	0.4504	0.4597	0.0169	14.5321
<i>Acp1</i>	614	****	****	0.0000	****
<i>Acp2</i>	614	0.2274	0.2489	0.0279	8.7140
<i>Adh1</i>	388	0.4474	0.4721	0.0448	5.3345
<i>Cat</i>	528	-0.0217	-0.0074	0.0140	17.6292
<i>Got1</i>	576	-0.0042	0.0068	0.0110	22.5653
<i>Got2</i>	538	-0.0196	-0.0024	0.0169	14.5714
<i>Got3</i>	610	-0.0236	-0.0049	0.0182	13.4796
<i>Idh</i>	598	****	****	0.0000	****
<i>Mdh1</i>	620	-0.0970	-0.0802	0.0154	16.0214
<i>Mdh2</i>	576	0.6847	0.6958	0.0354	6.8123
<i>Mnr2</i>	574	-0.0618	-0.0520	0.0092	26.8320
<i>6pg1</i>	466	0.1901	0.2066	0.0203	12.0408
<i>6pg2</i>	476	0.3000	0.3176	0.0251	9.6975
<i>Pgi1</i>	332	0.7738	0.7813	0.0328	7.3833
<i>Pgi2</i>	580	0.4065	0.4232	0.0281	8.6350
<i>Pgm1</i>	490	****	****	0.0000	****
<i>Pgm2</i>	484	****	****	0.0000	****
<i>Sod1</i>	492	****	****	0.0000	****
<i>Sod2</i>	490	0.3852	0.4037	0.0300	8.0855
Ortalama (Mean)	527	0.2954	0.3113	0.0238	10.2656

Populasyonların izolasyon dereceleri, mevcut büyüklükleri ve denizden yükseklikleri ile beklenen heterozigotluk (H_e) arasında ilişki bulunamamıştır. Belki de bu ilişkinin bulunamaması nedeni, çalışılan populasyonların tamamının kızılçam için yüksek zon (840 - 1440 m) olmasından kaynaklanmaktadır. *Manastır* populasyonu muhtemelen kızılçamın yayılış alanı içerisindeki en yüksek populasyondur (populasyonun ortalama yükseltisi 1440 m, 1530 m'de ağaç örneklenmiştir).

Tablo 6. Kızılçamın ^a Sekiz Doğal Populasyonlarına Ait Polimorfik Lokus Oranı (P) ve Lokus Başına Düşen Ortalama Allel Sayıları (A), Etkili Allel Sayıları (A_e), Gözlenen (H_o) ve Beklenen (H_e) Heterozigotluk ve Fiksasyon İndeksleri (F_{is})

Table 6. Estimated percentage of polymorphic loci (P) and mean number of alleles per locus (A), mean number of effective alleles per locus, observed (H_o) and expected (H_e) heterozygosities, and fixation index (F_{is}) for eight natural populations of Turkish red pine ^a

Populas-yonlar Population	Or. Örn. Sayısı Mean sample size per locus ^b	A ^b	A_e	P	H_o ^b	H_e ^b	F_{is} ^c
<i>Karain</i>	40.1(1.0)	1.8(.2)	1.4(.4)	65	0.147(.038)	0.219(.048)	0.300
<i>Bahçe</i>	25.8(.9)	1.7(.2)	1.4(.5)	55	0.161(.044)	0.233(.052)	0.282
<i>Guzle</i>	39.1(1.5)	1.7(.1)	1.4(.4)	60	0.164(.043)	0.225(.050)	0.314
<i>K. koyak</i>	38.3(1.5)	1.9(.2)	1.4(.4)	70	0.156(.038)	0.228(.050)	0.249
<i>Tohum</i>	28.8(1.2)	1.8(.2)	1.4(.4)	65	0.147(.039)	0.212(.048)	0.276
<i>Ulukısla</i>	36.5(1.4)	1.6(.2)	1.3(.4)	55	0.149(.040)	0.201(.049)	0.216
<i>Belemedik</i>	30.1(1.2)	1.8(.2)	1.3(.4)	60	0.104(.028)	0.197(.047)	0.399
<i>Manastır</i>	24.8(1.1)	1.8(.2)	1.4(.4)	65	0.164(.039)	0.216(.048)	0.159
Ortalama Mean	32.9	1.7	1.4	61.9	0.149	0.216	0.295

^a 20 lokus temel alındı (Based on 20 allozyme loci). ^b Standart hatalar parantez içinde (Standard errors in parentheses). ^c Ağırlıksız ortalama poli. Lok. Üzerine (Unweighted mean over polymorphic loci).

3.3. Populasyonlar Arası Genetik Mesafe

NEI (1978)'ye göre yapılan hesaplamalarda populasyon çiftleri arasındaki *genetik mesafe* ortalama 0.005 olup, 0.001 ile 0.010 arasında değişmektedir (Tablo 7). Oysa KARA (1996) Antalya yöresi kızılçamlarında yaptığı çalışmada populasyonlar arasındaki mesafeyi 0.005 - 0.045 olarak bulmuştur. DOĞAN (1997) Kazdağları kızılçamlarında bu mesafeyi 0.001– 0.036, PANETSOS ve ark. (1998) ise Ege adaları kızılçamlarında

0.000 – 0.016 olarak, bildirmişlerdir. Bolkar dağları karaçamlarında ise genetik mesafe 0.007 – 0.032 (VELİOĞLU ve ark. 1998), yine aynı yöreye ait Toros Gökarnı'nda 0.000 – 0.004 olarak bildirilmiştir (ÖZER 1998). Bu büyüklüklere göre Bolkar dağlarından örneklenen kızılçam populasyonları arasındaki genetik mesafenin fazla olmadığını söyleyebiliriz. Bu durumun populasyonların devamlılık göstermesinden, aralarındaki coğrafik mesafenin fazla olmamasından (Şekil 1) ve dolayısıyla gen akımının fazla olmasından (Tablo 5) ileri geldiği söylenebilir. En büyük genetik farklılık *Manastır* ile *Belemedik* ve *Karain*, *Ulukışla/Çiftehan* ile *Karakoyak* populasyonları arasında olup, büyüklüğü 0.010 dur (Tablo 7).

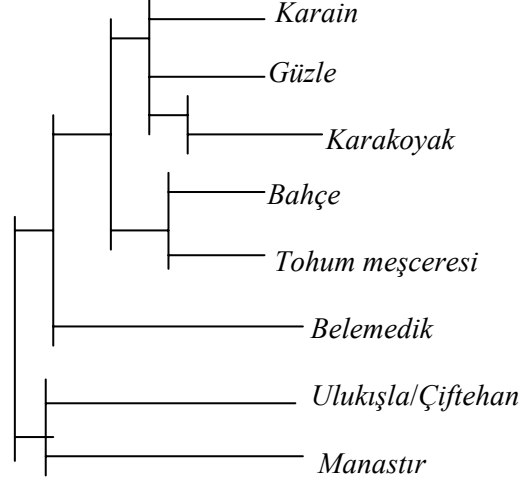
Tablo 7. Nei (1978)'ye Göre Hesaplanan Kızılçam Populasyonları Arasındaki Genetik Mesafe Değerleri

Table 7. Nei's (1978) unbiased genetic distances between Turkish red pine populations.

Populasyonlar Populations	1	2	3	4	5	6	7	8
1 <i>Karain</i>	—							
2 <i>Bahçe</i>	0.005	—						
3 <i>Güzle</i>	0.002	0.003	—					
4 <i>Karakoyak</i>	0.003	0.003	0.001	—				
5 <i>Tohum</i>	0.007	0.001	0.003	0.002	—			
6 <i>Ulukışla</i>	0.009	0.008	0.005	0.010	0.008	—		
7 <i>Belemedik</i>	0.004	0.006	0.004	0.005	0.006	0.005	—	
8 <i>Manastır</i>	0.010	0.004	0.004	0.007	0.004	0.006	0.010	—

Populasyonlar arasındaki genetik çeşitliliğin az oluşu, genetik mesafenin fazla olmaması ile de desteklenmektedir.

Genetik mesafeyi grafik olarak göstermek için yapılan dendrogramda sekiz kızılçam populasyonu kökten önce iki gruba ayrılmıştır (Şekil 3). Birinci grubu *Ulukışla/Çiftehan* ve *Manastır* populasyonları oluşturmuştur. Diğer grubu ise kalan altı populasyon meydana getirmiştir. Birinci grubu oluşturan populasyonların ortak özelliği; diğer populasyonlara göre ekstrem şartları taşımalarıdır. *Ulukışla/Çiftehan* populasyonu İç Anadolu'ya en fazla giren, *Manastır* populasyonu ise denizden yüksekliği en fazla olan populasyondur. Diğer altı populasyon içerisinde önce *Belemedik* populasyonu ayrılmıştır. Daha sonra beş populasyon da kendi arasında ikiye ayrılmıştır. Bunların gruplanması ise *Karain*, *Güzle*, *Karakoyak* ve *Bahçe*, *Tohum meşceresi* şeklinde olmuştur (Şekil 3).



Şekil 3. NEI (1978)'ye Göre Hesaplanan Genetik Mesafeye Ait Dendrogram: Metot = UPGM

Figure 3. Dendrogram based Nei's (1978) genetic distance: Method =UPGMA

3.4. Gen Koruma ve Yönetim Alanlarının (GEKYA) Belirlenmesi

Genetik çeşitlilik çalışmaları korumaya alınacak populasyonların seçiminde yol göstericidir (LEDIG 1998). Zira, GEKYA'ların belirlenmesinde ideal olarak, mümkün olduğu kadar yüksek gen çeşitliliğini yakalayabilmek için seçilecek populasyonların kendi içerisinde yüksek oranda genetik çeşitliliğe sahip fakat, aynı zamanda diğer populasyonların her birinden genetik olarak farklılaşmış olmaları arzu edilir (GÜLBABA ve ark. 1996).

Yukarıdaki özelliklere uygun populasyonları belirleyebilmek için yapılan bu çalışma ile Bolkarlardan örneklenen sekiz kızılçam populasyonuna ait genetik çeşitlilik parametreleri elde edilmiştir. Bu parametreler GEKYA için seçimi önerilecek populasyonların belirlenmesinde "Sonuç ve Öneriler" bölümünde rehber olarak kullanılmıştır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bolkar dağları kızılçam populasyonları için hesaplanan genetik çeşitlilik seviyesi yeterlidir. Populasyonların ortalama değerleri olan lokustaki allel sayısı (A), etkili allel sayısı (A_e), polimorfik lokus oranları (P) ve beklenen heterozigotluk oranları (H_e), tüm ibreliler ve çam türleri için bildirilen ortalama değerlerden daha yüksektir.

Bu nedenle kızılçamların bünyesinde çok miktarda genetik çeşitliliğe sahip olduğu görülmektedir. Bu türün genetik ıslahı ve ağaçlandırmalarda kullanılarak yayılışının artırılması yangın ve zararlılar tarafından yok edilme riskini de azaltacaktır.

Bolkar dağlarındaki kızılçam popülasyonlarından en az üç popülasyonun Gen Koruma ve Yönetim Alanı (GEKYA) olarak seçilmesi güvenlik açısından yerinde olacaktır. Genetik mesafeye göre yapılan gruplandırmada genetik olarak diğer popülasyonlardan ayrı bir grup oluşturan ve diğer popülasyonlardan genetik olarak en fazla mesafeye sahip *Ulukışla/Çiftahan* ve *Manastır* popülasyonlarından birisinin, birinci GEKYA olarak seçilmesi uygun olacaktır. Bu iki popülasyon arasından *Manastır*'in yüksek H_e (0.216) değerine ve bütün popülasyonlar arasında en düşük F_{is} (0.159) değerine, ayrıca yüksek polimorfik lokus oranına ve örneklenen popülasyonlar içerisinde en yüksek yükseltiyeye sahip olması nedenleriyle birinci GEKYA olarak bu popülasyonun seçilmesi daha uygun olacaktır.

Tohum meşceresi eşsiz allele (unique allele) (*Got 2-1*) sahip tek popülasyon olmasına rağmen koruma ve yönetimde problem çıkması muhtemel olduğundan GEKYA olarak ayrılması düşünülmemelidir. Dendrograma göre aynı grupta yer alan *Bahçe*'nin alan ve ağaç sayısı yönünden en büyük ve merkezi popülasyon, en yüksek H_e (0.233) değerine sahip olması ve nispeten düşük F_{is} (0.218) değerine sahip olması nedenleriyle ikinci GEKYA'nın bu popülasyon içerisinde seçilmesi daha uygun olacaktır.

Üçüncü GEKYA'nın seçileceği popülasyonun diğer popülasyonlardan genetik olarak farklı olması nedeniyle, *Belemedik* popülasyonu içerisinde seçilmesi düşünülebilir. Fakat bu genetik farklılığın genetik yönden diğerlerine göre genetik çeşitlilik düzeyinin düşük olmasından ileri geldiği ($H_e=0.197$) görülmektedir. Ayrıca bu popülasyonunun en yüksek F_{is} (0.399) değerine sahip olması nedeniyle üçüncü GEKYA'nın bu popülasyondan seçilmesi genetik yönden fazla kazanç sağlamayacaktır. Üçüncü GEKYA'nın genetik olarak ayrı bir grup oluşturan *Karain*, *Güzle* ve *Karakoyak* popülasyonlarından birisinin seçilmesi daha uygun olacaktır. Bu popülasyonlar arasında ise en büyük popülasyon büyüklüğüne, yüksek H_e (0.228) değerine, en düşük F_{is} (0.249) değerine ve örneklenen bütün popülasyonlar arasında en yüksek lokus başına düşen allel sayısına ($A=1.9$), en yüksek polimorfik lokus oranına ($P=70$) sahip olması ve en önemlisi tespit edilen polimorfik lokuslardaki 33 allelden 32 sini bünyesinde barındırması nedeniyle üçüncü GEKYA olarak *Karakoyak* popülasyonunun seçilmesi yerinde olacaktır.

GEKYA'ların tam yerini belirlerken meşcerenin sağlığı, koruma ve yönetim kolaylığı ve diğer bitki ve hayvan kompozisyonlarının durumu da göz önüne alınmalıdır.

ÖZET

Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) ortalama yıllık 42 000 ha ile yurdumuzda ağaçlandırmalara en fazla konu olan doğal türlerimizden bir tanesidir. “Bitki Genetik Çeşitliliğinin Yerinde Korunması Projesi” kapsamında hedef türlerden biri olarak seçilmiştir. Bolkar dağlarında, sekiz populusyona ait 312 bireyden toplanan serbest döllenmiş tohumların endospermeleri, bu türün genetik yapılarını jel elektroforezinde ortaya koymak, populusyonlar arası ve içi genetik çeşitliliğin boyutlarını belirlemek ve bu sonuçları değerlendirerek Gen Koruma ve Yönetim Alanlarının (GEKYA) tespitinde önerilerde bulunmak amacıyla, analiz edilmiştir.

12 enzim sisteminde 20 lokus belirlenmiştir. 20 lokustan 15 adedi polimorfiktir. Populusyonlar sadece dört lokustaki allel yoğunlukları ile birbirlerinden önemli derecede ($p<0.05$) farklılaşmaktadırlar. Populusyonlara ait beklenen heterozigotluk oranları (H_e) 0.201 (*Ulukışla/Çiftahan*) ile 0.233 (*Bahçe*) arasında değişmektedir. Fiksasyon indeksleri (F_{is}) ise 0.159 ile 0.399 arasındadır. Bu populusyonlarda ortalama polimorfik lokus oranı (P) 61.9, ortalama lokus başına düşen allel sayısı (A) 1.7 bulunmuştur. Bütün populusyonlar için tahmin edilen genetik çeşitlilik parametreleri (Örneğin $H_e = 0.216$) genel olarak ibrelili türler (örneğin $H_e=0.151$) ve sadece çamlar ($H_e=0.136$) için bildirilen değerlerden daha yüksektir. Ortalama F_{st} değeri 0.024 bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre Bolkar dağları kızılçamları hayli yüksek oranda genetik çeşitliliğe sahip oldukları, genetik çeşitliliğin büyük oranda populusyon içerisinde olduğu (%97.6) tespit edilmiştir. Bu durumu Nei (1978)'e göre hesaplanan populusyonlar arasındaki genetik mesafenin az olması da desteklemektedir. Genetik mesafe ortalama 0.005 olup, 0.001 ile 0.010 arasında değişmektedir.

GEKYA'ların emniyet amacıyla en az üç populusyonda seçilmesi önerilmiştir. Bu GEKYA'larda mümkün olduğu kadar çok genetik çeşitliliği yakalayabilmek için, seçilen populusyonlar yüksek oranda genetik varyasyona sahip olmalı ve aynı zamanda genetik olarak birbirlerinden farklılaşmalıdırlar. Bütün sonuçların değerlendirilmesi ile *Manastır*, *Bahçe* ve *Karakoyak* populusyonlarının GEKYA olarak belirlenmesi önerilmiştir.

SUMMARY

Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.), one of the natural pine species to Turkey, is accepted as the most used plantation tree and has been planted around 42 000 ha annually in Turkey. It has been selected as one of the target species within the framework of “*In Situ* Conservation of Plant Genetic Diversity In Turkey” project. Open pollinated seeds (megagametophytes) collected from 312 parent trees from eight populations were assayed by starch gel electrophoresis to describe its population structure, to reveal within and between population variations, and to make recommendations on designations of Gene Management Zones (GMZ's).

Twenty loci coding allozymes in 12 enzyme systems are described. Fifteen of 20 loci are polymorphic. The populations only differ significantly ($p < 0.005$) in allele frequencies at four loci. Expected heterozygosity levels (H_e) in populations varied from 0.201 in *Ulukisla/Çiftehan* to 0.233 in *Bahçe* and fixation index (F_{is}) ranged from 0.159 to 0.399. Mean percentage of polymorphic locus (P) and mean number of alleles per locus (A) were estimated 61.9 and 1.7 respectively. Mean estimates of genetic diversity parameters over all populations (e.g., $H_e = 0.216$) are higher than the averages reported for conifers in general ($H_e = 0.151$) and only for pines ($H_e = 0.136$). Mean F_{st} was found 0.024. The results revealed that Turkish red pine sampled from The Bolkar Mountains possesses considerable genetic diversity and higher proportion of genetic diversity (97.6%) originated from the differences within populations. The relatively low variation among populations also confirmed by the low level of Nei's genetic distance. Mean genetic distance coefficient was 0.005. And, ranged from 0.001 to 0.010 among the possible population pairs.

It is recommended, for security purposes, that in situ reserves (GMZ) be located in at least three populations. To capture as much genetic diversity as possible in these GMZ's, the selected populations should have high levels of genetic variation, but also be genetically differentiated from each other. The overall results suggested that *Manastir*, *Bahçe* and *Karakoyak* populations should be designated as GMZ's.

KAYNAKÇA

- 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 Genet.* 39, s. 153-167.
- ADAMS, W. T., AND JOLY, R. J., 1980:** Genetics of allozyme variants in loblolly pine., *J. Hered.* 71: s. 33-40.
- CONKLE, M. T., SCHILLER, G., and GRUNVALD, C., 1988:** Electrophoretic Analysis of Diversity and Phylogeny of *Pinus brutia* and Closely Related Taxa. *Systematic Botany*, 13: 411-424 p.
- CONKLE, M. T., HODGSKISS, P. D., NUNNALLY, L. B., and HUNTER, S. C., 1982:** Starch gel electrophoresis of conifer seeds: a laboratory manual. U.S. For. Serv. Gen. Tech. Rep. PSW - 64, Pac. Southwest For. Range Exp. Stn., Berkeley, CA:
- DOĞAN, B., 1997:** Kazdağı Yöresi Doğal Kızılcım (*Pinus brutia* TEN.) Populasyonlarında İzoenzim Çeşitliliği. *Teknik Bülten No. 10*, Ege Ormancılık Araştırma Enstitüsü yayını, İzmir, s. 43.
- DOĞAN, B., ÖZER, A. S., GÜLBABA, A. G., VELİOĞLU, E., DOERKSEN, A. H., ADAMS, W. T., 1997:** Kazdağları'ndan Örneklenen Karaçam (*Pinus nigra* Arnold) Populasyonlarında Kalıtım ve Allellerin Bağlılığı. *Ege Ormancılık Araştırma Enstitüsü Araştırma Dergisi* 1997/1, izmir s. 40-58
- FADY, B. and CONKLE, M. T., 1992:** Segregation and linkage of allozymes in seed tissues of the Greek fir *Abies borisii regis* Matt. *Silvae Genet.* 41: 273-277 p.
- GEMİCİ, Y., 1992:** Bolkar Dağlarının (Orta Toroslar) Flora ve Vejetasyonu. E. Ü. Araştırma Fonu Projesi No. 1988/011. İzmir (basılmamış).
- GÜLBABA, A. G., VELİOĞLU, E., ÖZER, A. S., DOĞAN, B., DOERKSEN, A. H., ADAMS, W. T., 1996:** Kazdağı Gökmanı (*Abies equitrojani* Aschers. Et sint) Populasyonlarının Genetik Yapıları ve Gen Kaynaklarının Yerinde Korunması. *Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü DOA Dergisi*, No 2. Tarsus, s.23-48.
- GÜNAY, T. ve TACENUR, İ. A., 1993:** Türkiye'de Mevcut Kızılcım (*Pinus brutia* TEN) Fidanlarının Genel Özellikleri ve Üretilen Fidanların Fizyomorfolojik Kaliteleri. *Uluslararası Kızılcım Sempozyum Bildiriler Kitabı*, Marmaris.
- HAMRICK, J. L., 1989:** Isozymes and The Analysis of Genetic Structure in Plant Populations., in *Isozymes in Plant Biology* (Ed. Douglas E. Soltis and Pamela S. Soltis), *Advances in Plant Sciences Series Vol. 4*, Dioscorides Press, Portland Oregon, 87-105 p.

- HAMRICK, J. L., GODT, M. J. W. and SHERMAN-BROYLES, S. L., 1992:** Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* 6: 95-124.
- HARRY, D. E., 1986:** Inheritance and linkage of isozyme variants in incense-cedar. *J. Hered.* 77: 261-266.
- İŞİK, F., 1998:** Differentiation of *Pinus brutia* Populations Revealed by Principal Component Analysis. In The Proceedings of International Symposium on In situ Conservation of Plant Genetic Diversity (ed. N.Zencirci, Z.Kaya, Y.Anikster, and W.T. Adams) Published By: Central Research Institute for Field Crops- Ankara/Turkey, 257-264 p.
- İŞİK, K. ve KARA, N., 1997:** Altitudinal Variation in *Pinus brutia* TEN. and its Implication in Genetic Conservation and Seed Transfers in Southern Turkey. *Silvae Genetica* 46, 113-120 p.
- KARA, N., 1996:** Kızılçamın (*Pinus brutia* TEN) Doğal Populasyonlarında İzoenzim Çeşitliliğinin Araştırılması. Yük. Lisans Tezi, Akdeniz Ü. Fen Bilimleri Ens. Antalya s.77.
- KARA, N., KOROL, L., İŞİK, K., SCHILLER, G., 1997:** Genetic Diversity in *Pinus brutia* TEN. : Altitudinal Variation. *Silvae Genetica* 46, 2-3, 155-161
- KAYA, Z., KÜN, E., GÜNER, A., 1997:** National Plan For In-Situ Conservation of Plant Genetic Diversity in Turkey. Milli Eğitim Basımevi, İstanbul. .
- KIMURA, M. and CROW, J. M., 1978:** Effect of overall phenotypic selection on genetic change at individual loci. *Proc. Natnl. Acad. sci.*, Washington. 75, p.6168-6171.
- KING, J. N. and DANCİK, B. P., 1983:** Inheritance and linkage of isozymes in white spruce (*Picea glauca*). *Can. J. Genet. Cytol.* 25: 430 – 435 p.
- KING, R. C., and STANSFIELD, W. D., 1990:** A Dictionary of Genetics. Forth Edition, Oxford University Press, Oxford. 193 p.
- KOROL, L., MADMONY, A., RIOV, Y., SCHILLER, G., 1995:** *Pinus halepensis* x *Pinus brutia* subsp. *brutia* Hybrids? Identification using Morphological and Biochemical Traits. *Silvae Genetica* 44, 186-190 p.
- 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 (ed. N.Zencirci, Z.Kaya, Y.Anikster, and W.T. Adams) Published By: Central Research Institute for Field Crops- Ankara/Turkey, 231-247 p
- LUNDKVIST, K. and RUDIN, D., 1977:** Genetic variation in eleven populations of *Picea abies* as determined by isozyme analysis. *Hereditas* 85: 67-74 p.
- MILLAR, C. I., 1985:** Inheritance of allozyme variants in Bishop pine (*Pinus muricata* D. Don). *Biochem. Genet.* 23: 933-946 p.

- MILLAR, C. I. and MARSHALL, K. A., 1991:** Allozyme variation of Port-Orford-cedar (*Chamaecyparis lawsoniana*): implications for genetic conservation. *Forest Sci.* 37, 1060-1075 p.
- MORRIS, R. W. and SPIETH, P. T., 1978:** Sampling strategies for using female gametophytes to estimate heterozygosity in conifers. *Theor. Appl. Genet.* 51, 217-222 p.
- NEALE, D. B. and ADAMS, W. T., 1981:** Inheritance of isozyme variants in seed tissues of balsam fir (*Abies balsam*). *Can. J. Bot.* 59: 1285-1291 p.
- NEI, M., 1978:** Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals. *Genetics* 89, 583-590 p.
- NEI, M., 1987:** *Molecular Evolutionary Genetics.* Columbia Uni. Press., Newyork.
- Rothe, G.M., 1990: *Forest Genetic Resources. Informations No. 18,* Food and Agriculture Organisation of the United Nations. 1-15 p
- ÖZER, A. S., 1998:** Bolkar Dağlarında Örneklenen Toros Göknarında (*Abies cilicica* Carr.) İzoenzim Çeşitliliği. İç Anadolu Ormancılık Araştırma Enstitüsü Sonuç Raporu, Ankara. (Yayınlanacak)
- PANETSOS, K. P., SCALTSOYIANNES, A., ARAVANOPOULOS, F. A., DOUNAVI, K., DEMETRAKOPOULOS, A., 1997:** Identification of *Pinus brutia* TEN., *P. halepensis* MILL. and Their Putative Hybrids. *Silvae Genetica* 46, 253-257 p.
- PANETSOS, K. P., ARAVANOPOULOS, F. A. and SCALTSOYIANNES, A., 1998:** Genetic Variation of *Pinus brutia* From Islands of Northeastern Aegean Sea. *Silvae Genetica* 47, 115-1120 p.
- SCHILLER, G., 1994:** Diversity Among *P. brutia subsp. brutia* And Related Taxa- A Review. İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi Seri. A, Cilt. 44, Sayı. 1, s. 133-134, İstanbul.
- SCALTSOYIANNES, A., ROHR, R., PANETSOS, K. P., TSAKTSIRA, M., 1994:** Allozyme Frequency Distribution in Five European Populations of Black Pine (*Pinus nigra* Arnold.). I) Estimation of Genetic Variation Within and Among Populations. II) Contribution of Isozyme Analysis to the Taxonomic Status of the Species. *Silvae Genetica* 43, 20-30 p.
- 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 Knobbone Pine. *Theor. Appl. Genet.* 72: 483-493 p.
- SUYAMA, Y., TSUMARA, Y. and OHBA, K., 1992:** Inheritance of isozyme variants and allozyme diversity of *Abies mariesii* in three isolated natural forests. *J. Jap. For. Soc.* 7: 65 – 73 p.
- SWOFFORD, D. L. and SLEANDER, R. B., 1989:** BIOSYS-1: a Computer Program For The Analysis of Allelic Variation in Population Genetics and Biochemical Systematics. *Illionis Natural History Survey.* s.53

VELİOĞLU, E., TOLUN, A. A., ÇENGEL, B., KAYA, Z., 1998: Bolkar Dağları Yöresindeki Doğal Karaçam (*Pinus nigra* subsp.*pallasiana*) Populasyonlarının İzoenzim Çeşitliliği. Orman Ağaçları ve Tohumları Islah Araştırma Enstitüsü, Yıllık Sonuç Raporu (Yayınlanacak). Ankara, s. 40

WRIGHT, S., 1965: The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. *Evolution* 19, p. 395-420

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 – Canada.