

**SSR Belirteçleri Yardımıyla Doğu Ladini (*Picea orientalis*
(L.) Link.) Gen Kaynaklarının Genetik Yapılarının
Belirlenmesi ve Sürdürülebilir Gen Koruma Programlarının
Geliştirilmesi**

Proje No: 107O684

Yrd. Doç. Dr. Fatih TEMEL
Doç.Dr. Zafer ÖLMEZ
Dr. Gaye EREN KANDEMİR

NİSAN 2012
ARTVİN

ÖNSÖZ

Doğu Ladini (*Picea orientalis*) dünya üzerindeki tüm yayılışını Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi ile Gürcistan'ın Karadeniz'e bakan yamaçlarıyla sınırlıdır. Ülkemiz ormancılığının asli doğal orman ağacı türlerinden olan *P. orientalis*'in içinde bulunduğu ekosistemler, özellikle son yıllarda, canlı ve cansız pek çok etmenin tehdidi altındadır. Bu tehditler karşısında *P. orientalis*'in varlığını devam ettirebilmesi, tüm canlı türlerinde olduğu gibi, büyük ölçüde içinde barındırdığı genetik çeşitliliğe bağlıdır. Genetik çeşitlilik aynı zamanda herhangi bir ıslah çalışması yapılabilmesi için temel koşuldur. Bu çalışmada *P. orientalis*'in tüm yayılış alanından doğal popülasyonlar örneklenerek türün genetik çeşitliliği ortaya konulmaya çalışılmış, mevcut tohum üretim sahalarının toplam genetik çeşitliliğin ne kadarını temsil ettiği belirlenerek uygun gen koruma stratejisi bakımından önerilerde bulunulmuştur.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde başlıca dört kuruluş çok önemli katkılar sağlamıştır. Artvin Çoruh Üniversitesi, Orman Fakültesi yürütücü kuruluştur. AÇÜ Strateji Geliştirme Daire Başkanlığı çalışanları çalışmanın idari aşamalarını titizlikle takip ederek işlemlerin sorunsuz yürümesini sağlamışlardır. TÜBİTAK'ın maddi desteği olmasaydı böyle bir çalışma söz konusu olamazdı. TOVAG çalışanları proje sürecinde karşılaştığımız sorunlara içtenlikle ve ivedilikle çözümler ürettir. Projenin arazi çalışmaları sırasında Artvin, Trabzon ve Giresun Orman Bölge Müdürlükleri yetkililerinin ve çalışanlarının yakın ilgi ve desteklerini gördük. Çalışmanın laboratuvar aşamaları Ortadoğu Teknik Üniversitesi Biyolojik Bilimler Bölümü Bitki Genetiği Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Laboratuvar olanağını bize sunan ve çalışmanın her aşamasında fikirlerine başvurduğumuz sayın Prof. Dr. Zeki Kaya'ya ve analizleri yürüten lisansüstü öğrencileri Aslı Özdelek ve Ali Murat Gülsoy'a teşekkür ederiz.

Çalışma sonuçlarının ülke ormancılığına ve bilimsel birikime katkıda bulunması dileriz...

Nisan 2012, Artvin

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TABLO LİSTESİ.....	4
ŞEKİL LİSTESİ.....	5
ÖZET.....	6
ABSTRACT.....	6
GİRİŞ.....	6
MATERYAL ve YÖNTEM.....	9
SONUÇAR ve TARTIŞMA.....	16
REFERANSLAR.....	21

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Proje kapsamında örneklenen <i>Picea orientalis</i> populasyonlarına ilişkin bilgiler.....	10
Tablo 2. DNA çıkarımı için kullanılan değiştirilmiş CTAB yöntemi.....	11
Tablo 3. <i>Picea</i> türlerinde daha önceki çalışmalarda kullanılmış ve bu çalışmada kullanılmaya aday SSR belirteçleri.....	12
Tablo 4. Çalışmada kullanılan SSR belirteçleri.....	13
Tablo 5. PCR için belirlenen en uygun malzeme miktarları ve PCR koşulları.....	15
Tablo 6. Populasyonlara ilişkin ortalama allel sayısı (A), polimorfik lokus oranı (P), etken allel sayısı (N_e) ve gözlenen ve beklenen heterozigotluk (H_o ve H_e) değerleri.....	18
Tablo 7. Her belirteç için gruplara (DK, TM ve GKO (Tablo 1)) göre gözlenen allel sayısı (A), etken allel sayısı (N_e), gözlenen ve beklenen heterozigotluk (H_o ve H_e) ile F_{st} değerleri.....	19

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 1.** Petri kaplarında nemlendirilmiş filtre kağıdı üzerinde çimlendirilen *Picea orientalis* tohumları ve topraklı kaplarda büyütülen fidecikler.....10
- Şekil 2.** Tohum Meşcereleri ve Gen Koruma Ormanlarının örneklenmesi ve toplanan ibrelerin kilitli plastik torbalarda laboratuarda işlem görene dek saklanması.....11
- Şekil 3.** İncelenen populasyonların genetik mesafelerini gösteren dendrogram (DK: doğal koru, TM: tohum meşceresi, GLO: gen koruma ormanı). Populasyonlar hakkında bilgi için tablo 1'e bakınız.....20

ÖZET

Bu çalışmada Türkiye'deki *Picea orientalis* doğal populasyonlarının genetik yapılarının belirlenmesi ve tohum meşcerelerindeki genetik çeşitliliğin genel genetik çeşitliliği ne kadar yansıttığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla toplam 29 (17 doğal koru, 10 tohum meşceresi ve 2 gen koruma ormanı) doğal populasyon örneklenmiştir. Örneklerden elde edilen DNA 15 adet SSR belirteci ile taranmıştır. Tüm populasyonlar için ortalama allel sayısı 14.47, etken allel sayısı 5.60, gözlenen heterozigotluk 0.53 ve beklenen heterozigotluk 0.70 olarak bulunmuştur. İncelenen populasyonlardaki genetik çeşitliliğin diğer ladin türleri ile karşılaştırıldığında orta düzeyde olduğu ve tohum üretimi amacıyla kullanılan populasyonların genel genetik çeşitliliği büyük oranda yansıttığı gözlenmiştir. Tohum meşcerelerinden elde edilecek tohumlarla gerçekleştirilecek yapay gençleştirme çalışmalarının türün genetik çeşitliliğini azaltıcı etkisi olacağı beklenmemekle beraber bu konu araştırılmaya muhtaçtır.

Anahtar Kelimeler

Doğu Ladini, *Picea orientalis*, SSR, genetik çeşitlilik

ABSTRACT

This study was conducted to determine genetic structure of natural *Picea orientalis* populations and how well do the seed stands represent this genetic diversity in Turkey. A total of 29 natural populations (17 wild stands, 10 seed stands and 2 gene conservation stands) were sampled. DNAs were extracted from the samples and screened with 15 SSR markers. For all populations mean number of alleles was 14.47, effective number of alleles was 5.60, observed and expected heterozygosities were 0.53 and 0.70, respectively. Compared with other spruce species, a moderate genetic diversity was observed in examined *P. orientalis* populations. Overall genetic diversity is well represented in seed stands, indicating minimum genetic diversity loss by artificial regeneration. This, however, needs to be investigated further.

Keywords:

Oriental spruce, *Picea orientalis*, SST, genetic diversity

GİRİŞ

Picea orientalis yerel bir yayılışa sahip olup, doğal olarak sadece ülkemizde ve Gürcistan'da bulunmaktadır. Ülkemizdeki yayılışı Ordu'dan başlayarak doğuya doğru tüm Doğu Karadeniz Bölgesi boyunca devam eder. Genellikle 1000 m ve üzerindeki alanlarda bulunmasına rağmen yer yer Karadeniz sahiline kadar iner. Ülkemizdeki saf ya da diğer orman ağacı türleri (*Fagus orientalis*, *Abies nordmanniana* ve *Pinus sylvestris*) ile karışık olarak toplam 450 000 ha kadar *P. orientalis* ormanı bulunmaktadır (Yüksel 1998).

Yıllardır aşırı faydalanma nedeniyle zarar gören ladin ormanları, son yıllarda da gittikçe artan kabuk böceklerinin (*Dendroctonus micans*, *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus*) saldırılarına maruz kalmıştır. Ülkemizin de taraf olduğu Bern Sözleşmesi'ne göre Tehlike Altındaki habitatlar arasında yer alan *P. orientalis* ormanlarındaki sosyal baskı ve böcek tahribatı her geçen gün şiddetlenerek artmaktadır. Dolayısıyla *P. orientalis*'in genetik yapısının ortaya konulması ve bu ormanların varlığının ve türün genetik çeşitliliğinin korunması için gen koruma programlarının hazırlanarak zaman geçirilmeden uygulamaya konulması önem arz etmektedir.

Genetik çeşitlilik, canlı türlerinin ve orman ağacı populasyonlarının uyum yetenekleri, devamlılıkları ve evrimleşebilmeleri için temel teşkil eder (Müller-Starck ve ark. 1992). Genelde, genetik çeşitliliğin düşük olduğu türlerin çevresel değişikliklere ve hastalıklara karşı

daha hassas oldukları düşünülmektedir (Oleksyn ve ark. 1994). Genetik çeşitliliği ortaya koyabilmek için çeşitli yöntemler mevcuttur. Morfolojik karakterler (Langner, 1953), izoenzimler (Bartels, 1971; Morgante ve Vendramin, 1991; Krutovskii ve Bergmann, 1995; Müller-Starck, 1995; Geburek 1999) ya da rastgele çoğaltılmış polimorfik DNA (RAPD) (Collignon ve Favre, 2000) populasyonların genetik yapılarını ve gen dağılımını belirlemede kullanılmıştır. Son zamanlarda hücre çekirdeği sıra-işareti bölgeleri (sequence-tagged sites ya da STS; Scotti ve ark., 2000), Kloroplast DNA (cpDNA) mikrosatellitleri (Vendramin ve ark., 2000) ya da mitokondri DNA (mtDNA) mikrosatellitleri de (Gugerli ve ark., 2001, Sperisen ve ark., 2001) kullanılmaktadır. Eldeki tüm belirteçler içerisinde hücre çekirdeği basit sıra tekrarları (nuclear simple sequence repeats (SSR) ya da mikrosatellitler) populasyon çalışmalarında ve genetik çeşitlilik belirleme çalışmalarında geniş çaplı kullanılmakta olan belirteç sınıfıdır (Tautz and Schlötterer, 1994; Fossati ve ark., 2003).

P. orientalis genetiği üzerinde yapılan çalışmalar morfolojik ve izoenzimler düzeyindedir. Ülkemizde *P. orientalis*'de köken çalışmalarına Belgrad Ormanında (İstanbul) 1959 yılında tesis edilen bir deneme ile başlanmıştır. Türün Türkiye'deki yayılışından toplam 20 kökenden yetişen bireyler 26 yaşında gelişme ve çeşitli morfolojik özellikler ve 31 yaşında sadece gelişme bakımından iki kere ölçülmüşlerdir. Araştırma sonuçlarına göre kökenlerin büyüme eğilimlerinin 26 ve 31 yaşlar arasında önemli farklılıklar göstermedikleri, Karanlıkmeşe (Artvin), İkizdere (Rize) ve Bicik (Giresun) kökenlerinin her iki ölçümde de en iyi gelişmeyi gösterdikleri, ve en iyi gelişim gösteren kökenlerin morfolojik özellikleri bakımından da arzu edilir nitelikler gösterdikleri tespit edilmiştir (Ürgenç ve ark. 1990).

Diğer çalışmalarda, toplam 17 kökenden elde edilen tohumlardan üretilen fidanların fidanlıkta ve daha sonra bölgenin çeşitli yerlerinde kurulan deneme sahalarında incelenmesi sonucunda köken rakımı ile ağaç boyu arasında aksi bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Atasoy 1996; Eyüboğlu ve ark. 1998). Ancak köken rakımının 15 yaşındaki ağaçların yaşama yüzdeleri üzerinde bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Bu nedenle tohum transferi için kurallar henüz tespit edilememiş (Yahyaoğlu ve Atasoy 1983), tohum ihtiyacının mümkün olduğu kadar yerel kaynaklardan sağlanması salık verilmiştir (Eyüboğlu ve ark. 1998).

Atila (Artvin), Meryemana (Trabzon) ve Örümcek (Torul, Gümüşhane) kökenlerinden üç yükseklik basamağından (1250, 1450 ve 1650 m) elde edilen *P. orientalis* tohumlarının ve bunlardan üretilen fidiciklerin morfolojik karakterleri üzerinde yapılan bir çalışmada; Gezer (1976) tohum boyu, embriyo boyu, tohum 1000 dane ağırlığı, fidicik ağırlığı, kotiledon sayısı ve boyu, kökçük boyu, hipokotil boyu ve epikotil boyu gibi özellikleri incelemiş, bu özelliklerin çoğunun hem kaynaklar arasında hem de kaynaklar içinde yükselti arasında önemli farklılıklar gösterdiğini bildirmiştir.

Turna (1996) *P. orientalis* populasyonlarının genetik yapısını belirlemek amacıyla iki enzim sistemi (LAP ve GOT) kullanarak gerçekleştirdiği izoenzim çalışmasında *P. orientalis* populasyonlarının genetik bakımdan beklenenden daha zengin bir varyasyona sahip olduğunu bulmuştur.

Diğer Ladin türlerinde moleküler genetik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Maghuly ve ark. (2006) hücre çekirdeği, mitokondri ve kloroplast DNA'ları kullanarak müdahale görmüş *P. abies* populasyonlarının genetik çeşitliliğini incelemişler ve populasyon içi genetik çeşitliliğin populasyonlar arası genetik çeşitlilikten daha fazla olduğunu, ve genetik çeşitliliğin yüksek kesimlerden gelen populasyonlarda daha fazla olduğunu bulmuşlardır.

Yazdani ve ark. (2003) çok sayıda basit sıra tekrarlarını (SSR), yedi *P. abies* ailesinde denemişler ve bunların yarısına yakınının dominant olduklarını bulmuşlardır. Polimorfik kodominant SSR belirteçlerinin populasyon çalışmalarında, tohum sertifikasyonu, kontrollü çaprazlamanın kalite kontrolünde, polen kirliliğini belirlemede, babalık testlerinde ve QTL haritalarının oluşturulmasında kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Mikrosatellit belirteçleri Wang ve ark. (2005) tarafından *P. asperata*'nın genetik çeşitliliğini belirlemede kullanılmıştır. A'Hara ve Cottrell (2004), *P. glauca*'da EST (expressed sequence tag) belirteçleri kullanarak *P. sitchensis* için mikrosatellit belirteçleri geliştirmiştir. Rajora ve ark. (2000) *P. glauca* için mikrosatellit belirteçleri geliştirmişler ve bu belirteçlerin diğer ladin türleri için de genetik, biyoteknoloji, ıslah, ağaç forensiği, genom haritalama, koruma, restorasyon ve sürdürülebilir

ormancılık faaliyetleri için de kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Yine *P. galuca* için geliştirilen 15 mikrosatellite belirteçinin en az bir tanesinin başka altı ladin türünde de (*P. mariana*, *P. engelmannii*, *P. rubens*, *P. abies*, *P. pungens*, *P. sitchensis*) çalıştığı belirlenmiştir (Hodgett ve ark., 2001).

P. orientalis ülkemiz ormancılığının asli türlerinden olduğundan ülkemiz, özellikle de Doğu Karadeniz Bölgemizin, ekonomisi açısından önemli bir türdür. Ülkemizdeki *P. orientalis* ormanlarında 2006 yılında 175,892 m³'ü endüstriyel ve 86,479 m³'ü yakacak odun olmak üzere toplam 262,371 m³ odun üretimi gerçekleştirilmiştir (www.ogm.gov.tr). Bu miktar aynı yıl içerisinde ülkemizde gerçekleştirilen toplam odun üretiminin (16,302,284 m³) yaklaşık sadece %2'lik bir kısmına karşılık gelmesine rağmen Doğu Karadeniz Bölgesine üretilen odun miktarının büyük bir kısmını oluşturmaktadır ve bu nedenle yöre halkının ekonomisi için önemlidir.

P. orientalis'in ekolojik önemi ekonomik öneminden belki de daha baskındır. Türün ekolojik öneminin nedenlerden birincisi ülkemiz Doğu Karadeniz Bölgesi ile Gürcistan'ın Karadeniz sahillerini içeren yerel bir yayılışa sahip olmasıdır. *P. orientalis* varlığının ülkemizde tehlikeye düşmesi, türün varlığının tehlikeye düşmesi ile eş anlamlıdır.

P. orientalis'in ekolojik açıdan önemli olmasının ikinci nedeni türün Doğu Karadeniz Bölgemizdeki dağ ekosistemlerinin önemli bir bileşeni olmasıdır. Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan milli park ve tabiatı koruma alanlarının vazgeçilmez bir ögesi olan *P. orientalis*'in bu alanlar için önemi Hatila Vadisi Milli Parkı'nda (Artvin) çok çarpıcı bir şekilde sergilenmektedir. Bu milli parkta son yıllarda meydana gelen *Ips typhographus* kabuk böceği salgınlığının neden olduğu toplu kurumalar ve kuruyan ağaçların alandan çıkarılması milli parkın görünümünü olumsuz yönde etkilemiştir. Bu toplu ölümlerin parktaki diğer bitki ve hayvan türleri üzerindeki etkilerinin neler olacağı ise henüz bilinmemektedir. Endemik bitki türleri bakımından son derece zengin olan yöre ekosistemlerinden *P. orientalis* gibi önemli bir bileşenin zarar görmesi diğer türlerin varlığını da olumsuz yönde etkilemesi beklenmelidir.

Ülkemizdeki *P. orientalis* ormanları, özellikle son yıllarda, artan bir böcek ve insan tahribatı ile karşı karşıyadır. Artan nüfus ve iklim değişikliği (özellikle küresel ısınma) ile *P. orientalis* ormanları üzerindeki baskının giderek artacağı ortadadır. Türün varlığının devamı için korunması zorunludur. Koruma planlaması yapılırken genetik çeşitliliğin korunması önemlidir çünkü genetik çeşitlilik gelecekte karşılaşılabilecek çevre koşullarına uyum sağlanabilmesinin şartıdır.

Genetik çeşitliliğin korunabilmesi için öncelikle varlığının ve yapılanmasının şeklinin ortaya konulması gerekir. *P. orientalis* içerdiği genetik çeşitliliğin ortaya konulması bakımından cins içindeki Avrupalı ve Amerikalı akrabalarına göre şanssızdır. Türe ait çeşitliliği ortaya koyan çalışmalar az sayıdaki morfolojik ya da izoenzim çalışmaları olup moleküler düzeyde türün genetiğini ortaya koymuş bir çalışma bulunmamaktadır.

Gençleştirme yönteminin tesis edilen meşcerenin genetik çeşitliliğini etkilediği bilinmektedir (Adams ve ark. 1998). Yapay gençleştirme ve ağaçlandırma çalışmaları için gereken tohumlar ağırlıklı olarak tohum meşcerelerinden elde edilmektedir. *P. orientalis*'in yayılış gösterdiği alanlarda 12 adet tohum meşceresi belirlenmiştir. Bu şekilde gençleştirilen ya da ağaçlandırılan sahalardaki genetik çeşitlilik, kullanılan tohumların elde edildikleri popülasyonların genetik çeşitlilikleri ile sınırlı olacaktır. Tohum üretim popülasyonlarındaki genetik çeşitlilik eğer türde bulunan genetik çeşitliliği yansıtmıyorsa, uzun dönemde doğal popülasyonlardaki genetik çeşitliliğin sonsuza dek kaybolması tehlikesi söz konusu olabilir. Bu bakımdan tohum üretim popülasyonlarının türdeki genel genetik çeşitliliği ne derece yansıttığının bilinmesi ilerideki ormancılık etkinliklerinin yönlendirilmesi bakımından önemlidir.

Picea türleri pek çok Avrupa ve Amerika ülkesi ormancılığı için önemli olup, bu türlerin genetiği yoğun bir biçimde çalışılmıştır. *P. orientalis*'de bu tür çalışmalarının bulunmayışı türün cins içindeki diğer akrabaları ile karşılaştırılmasını engellemektedir.

Bu çalışmanın amaçları 1) *Picea orientalis* popülasyonlarının genetik yapısının SSR belirteçleri kullanılarak belirlenmesi, 2) Elde edilen veriler ışığında, böcek ve insan tahribatı sonucu tehdit altında bulunan, *P. orientalis* ormanlarımız için sürdürülebilir gen koruma programının oluşturulması, 3) *P. orientalis* ağaçlandırma çalışmaları için tohum üretiminde

kullanılan kaynakların (tohum meşcereleri) doğal meşcereler ile genetik çeşitlilik bakımından karşılaştırılması, ve 4) Elde edilecek verilerin dünyanın farklı bölgelerinde yayılış gösteren diğer *Picea* türleri ile karşılaştırılmasıdır. Bu amaçlara ulaşmak için Türkiye ve Gürcistan'dan toplam 29 *P. orientalis* popülasyonu örneklenmiş ve örneklenen bireyler 15 SSR belirteci ile taranmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bitki Materyali

Çalışmada, daha önce TÜBİTAK tarafından desteklenmiş bulunan 103O092 numaralı ve 'Doğu Ladini'nin (*Picea orientalis* L. Link.) Türkiye'deki genekolojisi' başlıklı proje kapsamında örneklenen 15 doğal *P. orientalis* popülasyonu ile bu proje kapsamında örneklenen 15 popülasyon değerlendirilmiştir (Tablo 1).

103O092 numaralı proje kapsamında belirlenen doğal *P. orientalis* popülasyonlarından 2005 yılı Ekim ayında kozalak toplanmış ve bu kozalaklardan çıkarılan tohumlar 4 °C'de kilitli plastik torbalarda saklanmıştır. Her popülasyondan 10'ar anaç rastgele belirlenmiş ve her anaçtan altı adet tohum çimlendirme odasında çimlendirilerek elde edilen fideler DNA çıkarımında kullanılmıştır. Çimlendirme işlemi nemlendirilmiş filtre kağıdı içeren Petri kaplarında gerçekleştirilmiş, çimlenen tohumlar topraklı kaplara aktararak fideler yeterli büyüklüğe ulaşana dek büyütülmüşlerdir (Şekil 1).

Bu proje kapsamında *P. orientalis* tohum meşcereleri (10 adet) ve gen koruma ormanları (iki adet) ile Gürcistan'dan iki adet doğal meşcere Eylül 2010'da örneklenmiştir (Tablo 1). Her popülasyondan 10'ar ağaç rastgele seçilerek 2010 yılına ait ibreler silika jel içeren kilitli plastik torbalara konularak laboratuara getirilmiş ve DNA çıkarımına dek 4 °C'de saklanmıştır (Şekil 2).

Laboratuvar Yöntemleri

DNA çıkarımı

Eldeki örneklerden DNA çıkarımında CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) yöntemi (Doyle ve Doyle, 1990) *P. orientalis* için değiştirilerek kullanılmıştır (Tablo 2).

SSR belirteçleri

Daha önce *P. orientalis*'de SSR belirteçleri kullanılarak yapılmış bir çalışma bulunmadığından çalışmada kullanılacak SSR belirteçleri diğer *Picea* türlerinde bu belirteçler kullanılarak yapılan çalışmalardan seçilmiştir. Toplam 33 adet SSR belirteci belirlenmiş olup bunların dökümü tablo 3'te verilmiştir.

Bu belirteçler rastgele seçilen *Picea orientalis* bireylerden elde edilen DNA ile PCR (polimerize chain reaction-polimerize zincir tepkimesi) tabi tutulduğunda hedef DNA parçasında çoğaltma gözlenen 15 tanesi çalışma amaçlarına ulaşmak için kullanılmıştır (Tablo 4).

Daha sonraki adımda ise PCR için her belirteç grubu için en uygun malzeme miktarları ve PCR koşulları belirlenmiştir (Tablo 5).

Dizi analizi

Elde edilen PCR ürünlerinin DNA dizi analizleri Sacem Hayat Teknolojileri (Ankara) tarafından Beckman Coulter CEQ 8000 marka DNA dizi analizcisi ile gerçekleştirilmiştir (Beckman Coulter, Inc., California, ABD).

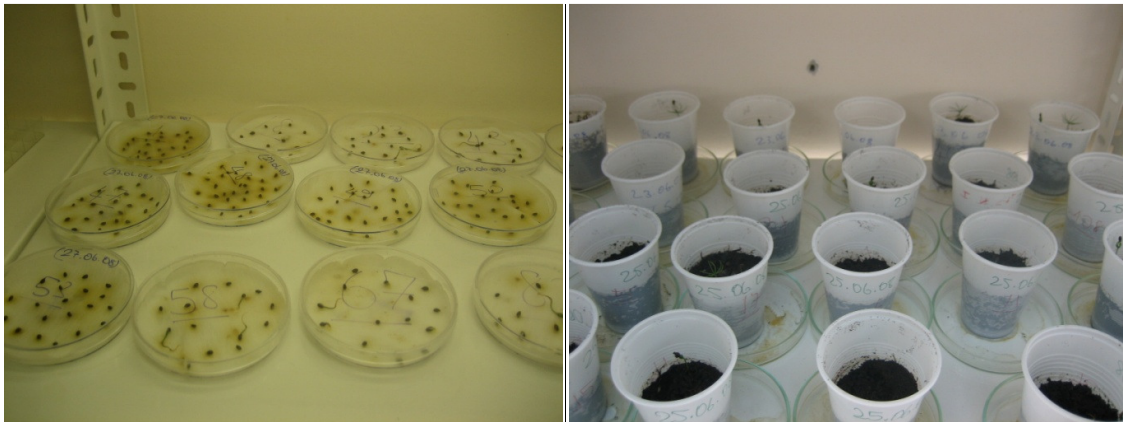
Veri analizi

Elde edilen veriler POPGENE (versiyon 1.32) paket programı (Yeh ve Boyle, 1997) ile kodominant belirteçlere göre analiz edilmiştir. Her popülasyon için ortalama allel sayısı (A), polimorfik lokus oranı (P), etken allel sayısı (N_e) ve gözlenen ve beklenen heterozigotluk (H_o ve H_e) değerleri hesaplanmıştır. Popülasyonlar arası genetik mesafeler de aynı program kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 1. Proje kapsamında örneklenen *Picea orientalis* populasyonlarına ilişkin bilgiler.¹

Pop. No.	Ülke ²	Durumu ³	Bölge Md.-İşletme Müdürlüğü-İşletme Şefliği	Birey Sayısı	Enlem (K)	Boylam (D)	Rakım (m)
103O092 numaralı proje kapsamında örneklenen populasyonlar (tohumdan yetiştirilen fidecikler)							
1	TR	DK	Giresun-Ordu-Çambaşı	10	40° 41'	37° 57'	1400
2	TR	DK	Giresun-Ordu-Gölköy	10	40° 39'	37° 42'	1600
3	TR	DK	Giresun-Tirebolu-Akıl Baba	10	40° 41'	38° 52'	1350
4	TR	DK	Trabzon-Maçka-Hamsiköy	10	40° 41'	39° 27'	1510
5	TR	DK	Trabzon-Torul-Örümcek	10	40° 39'	39° 00'	1830
6	TR	DK	Trabzon-Pazar-Çamlıhemşin	9	40° 57'	41° 04'	1050
7	TR	DK	Artvin-Artvin-Hatila	10	41° 07'	41° 37'	1330
8	TR	DK	Artvin-Artvin-Saçinka	10	41° 09'	41° 47'	1150
9	TR	DK	Artvin-Borçka-Balcı	9	41° 21'	41° 47'	770
10	TR	DK	Artvin-Yusufeli-Yusufeli	10	40° 57'	41° 24'	1740
11	TR	DK	Artvin-Ardanuç-Ardanuç	10	41° 04'	42° 06'	1710
12	TR	DK	Artvin-Şavşat-Şavşat	10	41° 14'	42° 22'	1280
13	TR	DK	Artvin-Şavşat-Meydancık	10	41° 26'	42° 12'	1370
14	TR	DK	Artvin-Şavşat-Veliköy	10	41° 18'	42° 29'	1650
15	TR	DK	Erzurum-Ardahan-Posof	8	41° 29'	42° 43'	1380
107O684 numaralı proje kapsamında örneklenen populasyonlar (ibre örnekleme)							
16	TR	TM	Artvin-Yusufeli-Öğdem	10	40° 59'	41° 40'	1540
17	TR	TM	Artvin-Artvin-Taşlıca	10	41° 07'	41° 36'	1830
18	TR	TM	Artvin-Borçka-Göktaş	10	41° 16'	41° 32'	1090
19	TR	TM	Trabzon-Sürmene-Çaykara	10	40° 34'	40° 24'	1800
20	TR	TM	Trabzon-Maçka-Maçka	10	40° 48'	39° 38'	1030
21	TR	TM	Trabzon-Torul-Günyüzü	10	40° 40'	38° 57'	1680
22	TR	TM	Trabzon-Trabzon-Vakfıkebir	10	40° 55'	39° 23'	1800
23	TR	TM	Giresun-Dereli-Kümbet	10	40° 34'	38° 25'	1700
24	TR	TM	Giresun-Dereli-İkisu	10	40° 35'	38° 24'	1670
25	TR	TM	Giresun-Giresun-Bicik	10	40° 42'	38° 11'	1400
26	TR	GKO	Trabzon-Torul-Örümcek	10	40° 39'	39° 01'	1520
27	TR	GKO	Trabzon-Trabzon-Tonya	10	40° 44'	39° 12'	1730
28	GEO	DK	Khulo	10	41° 39'	42° 28'	1560
29	GEO	DK	Borjomi	10	41° 50'	43° 23'	910

¹ 1-15 numaralı populasyonlar 103O092 numaralı proje kapsamında, 16-29 numaralı projeler bu proje kapsamında örneklenmiştir. ² TR = Türkiye, GEO = Gürcistan, ³ DK = Doğal Koru, TM = Tohum Meşçeresi, GKO = Gen Koruma Ormanı.



Şekil 1. Petri kaplarında nemlendirilmiş filtre kağıdı üzerinde çimlendirilen *Picea orientalis* tohumları ve topraklı kaplarda büyütülen fidecikler.



Şekil 2. Tohum Meşcereleri ve Gen Koruma Ormanlarının örneklenmesi ve toplanan ibrelerin kilitli plastik torbalarda laboratuarda işlem görene dek saklanması.

Tablo 2. DNA çıkarımı için kullanılan, *Picea orientalis* için değiştirilmiş CTAB yöntemi.

Adım	İşlem
1	İbreler sıvı azot yardımı ile havanda ezilir.
2	Ezilen örnek 900 µl CTAB eklenerek havanda iyice ezilir.
3	1.5mL ependorflara alınan CTAB'lı örnek üzerine 150µl BME eklenir ve iyice titreşime tabi tutulur.
4	65°C su banyosunda, 1 saat bekletilir.
5	Su banyosundan alınan örnekler 14000rpm'de, 10 dakika santrifüjlenir.
6	Sonra üst faz yeni ependorflara alınır.
7	500 µl Kloroform: Oktanol eklenir. Yavaşça karıştırılır.
8	Daha sonra 14000rpm'de, 15 dakika santrifüjlenir.
9	Üst faz yeni ependorflara alınır.
10	500µl soğuk isopropanol eklenir.
11	- 80°C'de, en az 1 saat beklenir.
12	Daha sonra 14000 rpm, 10 dakika santrifüjlenir.
13	Üst faz dökülür. Pellet 500µl, % 70 EtOH'le iki kere yıkanır.
14	Tüpler kurutulur.
15	Pellet 30µl steril su ile çözülür.

Tablo 3. *Picea* türlerinde daha önceki çalışmalarda kullanılmış ve bu çalışmada kullanılmaya aday SSR belirteçleri.

Belirteç adı	Kaynak	Tür	Alel sayısı	Yaklaşık büyüklüğü (baz çifti)
SS 09	A'Hara ve Cottrell (2004)	<i>P. sitchensis</i>	17	176-220
SS 12	A'Hara ve Cottrell (2004)	<i>P. sitchensis</i>	19	200-250
SS 13	A'Hara ve Cottrell (2004)	<i>P. sitchensis</i>	7	250-260
SS 15	A'Hara ve Cottrell (2004)	<i>P. sitchensis</i>	13	202-224
SS 16	A'Hara ve Cottrell (2004)	<i>P. sitchensis</i>	9	306-322
SS 17	A'Hara ve Cottrell (2004)	<i>P. sitchensis</i>	18	170-244
pgGB5	Besnard ve ark. (2003)	<i>Picea</i> sp.	10	88-106
paGB3	Besnard ve ark. (2003)	<i>Picea</i> sp.	9	117-153
paGB8	Besnard ve ark. (2003)	<i>Picea</i> sp.	43	254-350
pgGB7	Besnard ve ark. (2003)	<i>Picea</i> sp.	8	149-172
SpAGC1	Pfeiffer ve ark. (1997)	<i>P. abies</i>	19	124-204
SpAGC2	Pfeiffer ve ark. (1997)	<i>P. abies</i>	23	79-117
SpAGG3	Pfeiffer ve ark. (1997)	<i>P. abies</i>	21	110-148
SpAC1F7	Pfeiffer ve ark. (1997)	<i>P. abies</i>	10	100-118
SpAGD1	Pfeiffer ve ark. (1997)	<i>P. abies</i>	39	124-204
SpAC1H8	Pfeiffer ve ark. (1997)	<i>P. abies</i>	41	100-168
UAPgCT3	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	11	238-304
UAPgGT8	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	8	204-230
UAPgCA24	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	11	201-285
UAPsTG25	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	32	94-100
UAPgTG64	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	11	104-134
UAPgTG87	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	18	110-200
UAPgCT144	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	10	134-180
UAPgCA91	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	8	118-158
UAPgAG105	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	7	167-175
UAPgAG150 A	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	8	150-164
UAPgCT189 A	Hodgetts ve ark. (2001)	<i>P. glauca</i>	14	138-208
EATC1E03	Meloni ve ark. (2007)	<i>P. abies</i>	12	124-181
EAC1F04	Meloni ve ark. (2007)	<i>P. abies</i>	45	178-340
EATC3G04	Meloni ve ark. (2007)	<i>P. abies</i>	11	120-150
EATC1B02	Meloni ve ark. (2007)	<i>P. abies</i>	8	200-225
EATC2B02	Meloni ve ark. (2007)	<i>P. abies</i>	8	191-221

Tablo 4. Çalışmada kullanılan SSR belirteçleri.

No	Belirteç	Allel Sayısı	Yaklaşık Büyüklüğü (baz çifti)	(Tekrar Motifi) _{Tekrar Sayısı}	Primer Dizilim (5'-3')	Birleşme sıcaklığı (°C)
1	SS12 ⁻	19	200-250	(T) ₁₄ ATTTGCG(TGGCG) ₄	F: AGGGTTTTCCCAGTCACGACGTTCTTGATTTTTGGCGATCGTT R: ACGTGTGAACCGGAGGAGAT	52-55
2	SS13 ⁻	7	250-260	(TA) ₇	F: AGGGTTTTCCCAGTCACGACGTTACTCATAGCGTCACGGGAAC R: TGAATCTCCACCTCCTCTGG	52-55
3	SS15 ⁻	13	202-224	(GA) ₉ A(AG) ₈	F: AGGGTTTTCCCAGTCACGACGTTGGAATAAAATGGCAGGTGGA R: GCCTGCAGTAGTTGGCAGA	55-57
4	SS16 ⁻	9	306-322	(TA) ₈ T(TA) ₅	F: AGGGTTTTCCCAGTCACGACGTTGCAGCACTGGCAACATTCTA R: ACGGAGACAAATCGCTTGTT	52-55
5	SS17 ⁻	18	170-244	(AT) ₁₁	F: AGGGTTTTCCCAGTCACGACGTTCCGCTTTCACGGGTTTAATA R: GAGGTGGGAGGGTTTTTCTC	52-55
6	PaGB3 ⁺	9	117-153	(AT) ₁₁	F: AGTGATTAAACTCCTGACCAC R: CACTGAATACACCCATTATCC	55
7	PaGB5 ⁺	10	88-106	(AT) ₉	F: CCATTGCGGAGAACCCAGAG R: CGCAGAACAATGAATCTCCAC	45
8	UAPgCT3 ⁺	11	238-304	(CT) ₁₅	F: TTGAAAAAGAGGTTAGGAAGGGA R: TTCTTAAAGAAGCAGGGCATTG	60
9	UAPgCA24 ⁺	11	201-285	(AC) ₂₃	F: ATGCTCTTCTTAACCACTG R: GACAATTCCTACCTCCACAC	55
10	UAPgAG105 ⁺	7	167-175	(AG) ₁₁	F: CAACTACCTTGAGCCAATCA R: GTCCGGCATTATTGATCATT	56

Tablo 4 (Devam)

No	Belirteç	Allel Sayısı	Yaklaşık Büyüklüğü (baz çifti)	Tekrar Motifi	Primer Dizilim (5'-3')	Birleşme sıcaklığı (°C)
11	UAPgA150A [‡]	8	150-164	(AG) ₁₉	F: ACCAATGCTTTTACCAAACG R: TTGATTGCAAGTGATGGTTG	54
12	UAPgCT144 [‡]	10	134-180	(CT) ₁₈	F: CACTCGATCACTTTCTCATC R: CAAGATAGTAATGGTGAGGC	58
13	UAPgTG87 [‡]	18	110-200	(TG) ₃₀	F: GCACCAATAATCAAATCATGCC R: TTTGGAACACTACACATCAACC	60
14	SpAGG3 [™]	21	110-148	(GA) ₂₄	F: CTCCAACATTCCCATGTAGC R: AGCATGTTGTCCCATATAGACC	57
15	SpAGC1 [™]	19	124-204	(TC) ₅ TT(TC) ₁₀	F: TTCACCTTAGCCGAGAACC R: CACTGGAGATCTTCGTTCTGA	57

[‡] A'Hara ve Cottrell (2004), [†] Besnard ve ark. (2003), [‡] Hodgetts ve ark. (2001), [™] Pfeiffer ve ark. (1997)

Tablo 5. PCR için belirlenen en uygun malzeme miktarları ve PCR koşulları.**a) SS primerleri**

Malzemeler			
Steril H ₂ O			11.8µL
10X(Genemark)			3µL
MgCl ₂ (25mM) (Genemark)			2.4µL
dNTP (10 mM) (Genemark)			1µL
Primers (forward and reverse) (10µM)			2+2µL
Taq DNA polimeraz (Genemark)			0.3µL
DNA			1.5µL
Toplam			25µL
PCR Koşulları			
Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı	Tanım
95 °C	5 dakika	1	İlk sarmal bozulumu
94 °C	30 saniye	10	1. Sarmal bozulum
55 °C	30 saniye		1. Birleşme
72 °C	30 saniye		1. Uzama
94 °C	30 saniye	28	2. Sarmal bozulum
52 °C	90 saniye		2. Birleşme
72 °C	30 saniye		2. Uzama
72 °C	6 dakika	1	Son Uzama

b) PaGB primerleri

Malzemeler			
Steril H ₂ O			12.7µL
10X(Genemark)			3.5µL
MgCl ₂ (25mM) (Genemark)			3µL
dNTP (10 mM) (Genemark)			1µL
Primers (forward and reverse) (10µM)			1.5+1.5µL
Taq DNA polimeraz (Genemark)			0.3µL
DNA			1.5µL
Toplam			25µL
PCR Koşulları			
Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı	Tanım
95°C	5 dakika	1	İlk sarmal bozulumu
94 °C	1 dakika	36	Sarmal bozulum
55°C	1 dakika		Birleşme
72°C	1 dakika		Uzama
72°C	6 dakika	1	Son Uzama

c) UAPg primerleri

Malzemeler			
Steril H ₂ O		12.2µL	
10X(Genemark)		3.6µL	
MgCl ₂ (25mM) (Genemark)		2.4µL	
dNTP (10 mM) (Genemark)		1µL	
Primers (forward and reverse) (10µM)		2+2µL	
Taq DNA polimeraz (Genemark)		0.3µL	
DNA		1.5µL	
Toplam		25µL	
PCR Koşulları			
Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı	Tanım
94°C	5 dakika	1	İlk sarmal bozulumu
94 °C	30 saniye		Sarmal bozulum
57°C	30 saniye	25	Birleşme
72°C	30 saniye		Uzama
72°C	8 dakika	1	Son Uzama

d) SpAGG3 ve SpAGC1 primerleri:

Malzemeler			
Steril H ₂ O		10.7µL	
10X(Genemark)		4 µL	
MgCl ₂ (25mM) (Genemark)		2.5µL	
dNTP (10 mM) (Genemark)		1µL	
Primers (forward and reverse) (10µM)		2.5+2.5µL	
Taq DNA polimeraz (Genemark)		0.3µL	
DNA		1.5µL	
Toplam		25µL	
PCR Koşulları			
Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı	Tanım
95°C	10 dakika	1	İlk sarmal bozulumu
94 °C	1 dakika		Sarmal bozulum
55°C	1 dakika	28	Birleşme
72°C	45 dakika		Uzama
72°C	10dakika	1	Son Uzama

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

İncelenen populasyonlara ilişkin ortalama allel sayısı (A), polimorfik lokus oranı (P), etken allel sayısı (N_e) ve gözlenen ve beklenen heterozigotluk (H_o ve H_e) değerleri tablo 6'da verilmiştir. Aynı değerler her belirteç için tablo 7'de verilmiştir.

İncelenen tüm populasyonlarda ortalama allel ve etken sayısı sırasıyla 14.47 ve 5.60 olarak bulunmuştur. Ortalama allel sayısı ve etken allel sayısı *Picea orientalis*'in doğal koru ormanı populasyonlarında 11.27 ve 4.76, tohum meşcerelerinde 10.60 ve 4.37 ve gen koruma ormanlarında 5.53 ve 3.19 olarak bulunmuştur (Tablo 6 ve 7). Hem incelenen tüm populasyon tiplerinde (doğal koru, tohum meşceresi, gen koruma ormanı) hem de genelde beklenen heterozigotluk (0.70) gözlenen heterozigotluktan (0.53) daha yüksek bulunmuştur (Tablo 6 ve 7). Populasyonlar arası farklılaşma derecesi (F_{st}) 0.44 olarak bulunmuştur.

Bu veriler değerlendirildiğinde *P. orientalis* populasyonlarındaki genetik çeşitliliğin orta düzeyde olduğu söylenebilir. Rajora ve ark. (2005) *P. glauca*'nın Alberta, Kanada'daki 16 populasyonunda SSR belirteçleri ile yaptıkları bir çalışmada ortalama allel sayısını 16.38,

etken allel sayısını ise 9.79 olarak bulmuşlardır. Yine aynı çalışmada gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0.65 ve 0.85 olarak bulunmuştur. Diğer ladin türlerine göre çok kısıtlı bir yayılışa sahip bulunan *P. omorica*'da 13 popülasyonda yapılan bir çalışmada (Ballian ve ark., 2006) yüksek etken allel sayısına (20.42) karşın gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırasıyla 0.08 ve 0.09 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre tohum meşcereleri genel genetik çeşitliliği hemen hemen örneklenen doğal popülasyonlar kadar temsil etmektedir. Buradan, tohum meşcerelerinden elde edilen fidanlarla gerçekleştirilecek yapay gençleştirme çalışmalarının türün genetik çeşitliliği üzerinde olumsuz bir etkisinin olmayacağı beklenebilir. Ancak bu konu başka çalışmalarla desteklenmesi ve ortaya çıkarılması gereken bir konudur.

Genetik mesafe bakımından örneklenen doğal koru popülasyonların tohum meşcereleri ve gen koruma ormanlarına göre birbirlerinden daha uzak olduğu görülmektedir (Tablo 7). Bunun nedeni örneklenen doğal koru popülasyonların türün Türkiye'deki tüm yayılış alanını kapsamaması ve yayılış sınırlarındaki popülasyonları da içermesi olabilir. Tohum meşcereleri arasındaki gen akışının yüksek olması (düşük *Fst* değeri) bu popülasyonlarda genetik çeşitliliğin devamını sağlaması bakımından önemlidir.

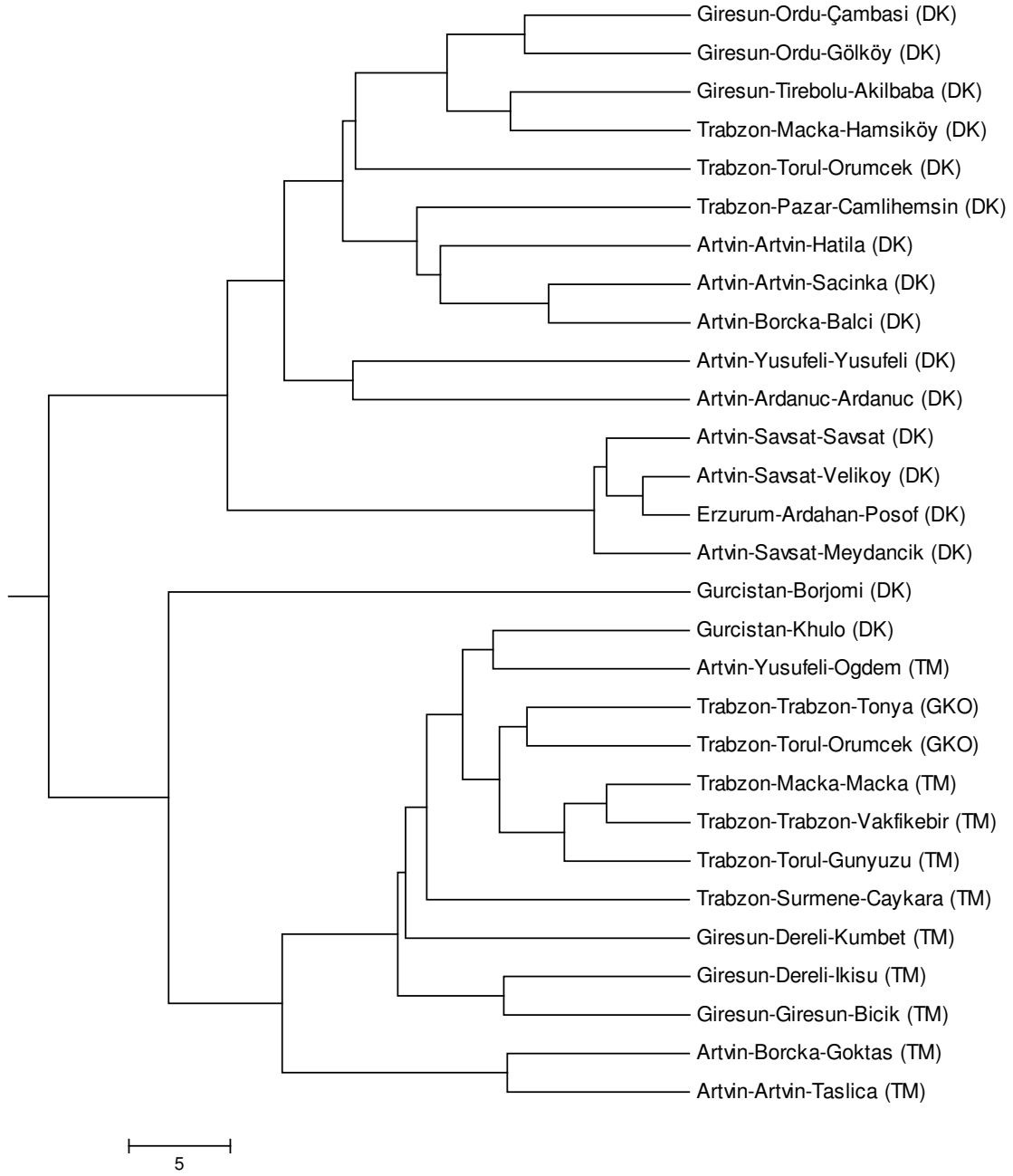
İncelenen popülasyonlar arasında azımsanmayacak derecede bir gen akışı olmasına karşın, popülasyonlar arasındaki genetik mesafeyi coğrafi yakınlık belirlemektedir (Şekil 3). Coğrafi olarak birbirine daha yakın olan popülasyonların genetik olarak birbirlerine daha benzer oldukları gözlenmiştir. Şekil 3'teki dendrogramda iki ana grup ortaya çıkmıştır. Bu grupların popülasyonların genetik yapılarına göre değil de örnekleme yöntemine göre ayrılmış olmaları ilginçtir. Üstteki daldaki popülasyonlar daha önceden bu popülasyonlardan tohum toplanarak örneklenmişti. Alttaki grup ise bu proje kapsamında ibre örnekleri alınarak değerlendirilmişti. Buradaki gruplamanın örnekleme yönteminden kaynaklandığı açık şekilde görülmektedir. Her iki ana grup içerisinde ise popülasyonlar coğrafi olarak yakınlıklarına göre gruplanmışlardır.

Tablo 6. Populasyonlara ilişkin ortalama allel sayısı (A), polimorfik lokus oranı (P), etken allel sayısı (N_e) ve gözlenen ve beklenen heterozigotluk (H_o ve H_e) değerleri.

Pop. No.	Bölge Md.-İşletme Müdürlüğü-İşletme Şefliği	A	N_e	P (%)	H_o	H_e
1	Giresun-Ordu-Çambaşı	3.83±1.99	3.05±1.63	66.7	0.46±0.35	0.57±0.29
2	Giresun-Ordu-Gölköy	3.92±2.27	2.44±1.15	60.0	0.31±0.29	0.49±0.32
3	Giresun-Tirebolu-Akıl Baba	4.55±2.42	2.73±1.21	60.0	0.38±0.34	0.55±0.30
4	Trabzon-Maçka-Hamsiköy	3.25±2.05	2.10±1.18	60.0	0.33±0.35	0.40±0.32
5	Trabzon-Torul-Örümcek	2.92±1.44	2.10±0.87	66.7	0.31±0.26	0.46±0.25
6	Trabzon-Pazar-Çamlıhemşin	4.09±2.12	2.77±1.43	66.7	0.39±0.36	0.55±0.29
7	Artvin-Artvin-Hatila	4.23±2.35	2.97±1.48	80.0	0.42±0.32	0.60±0.25
8	Artvin-Artvin-Saçınka	4.31±2.93	3.10±1.78	73.3	0.35±0.33	0.59±0.29
9	Artvin-Borçka-Balcı	4.23±2.98	3.05±2.02	66.7	0.44±0.35	0.53±0.34
10	Artvin-Yusufeli-Yusufeli	2.90±1.59	2.47±1.51	53.3	0.47±0.40	0.49±0.29
11	Artvin-Ardanuç-Ardanuç	3.64±1.91	2.44±1.00	66.7	0.45±0.29	0.53±0.26
12	Artvin-Şavşat-Şavşat	3.40±3.05	2.39±1.84	20.0	0.38±0.52	0.40±0.39
13	Artvin-Şavşat-Meydancık	3.40±2.88	2.20±1.56	20.0	0.24±0.39	0.38±0.38
14	Artvin-Şavşat-Veliköy	3.80±2.94	2.73±2.09	20.0	0.28±0.41	0.46±0.37
15	Erzurum-Ardahan-Posof	3.00±2.34	2.36±1.65	20.0	0.28±0.38	0.41±0.40
16	Gürcistan-Acara-Borjomi	4.33±2.61	2.97±1.59	86.7	0.53±0.33	0.59±0.27
17	Gürcistan-Acara-Khulo	4.20±2.60	3.00±1.70	86.7	0.53±0.33	0.57±0.28
	Ortalama (Gürcistan pop dahil)	11.27±6.90	4.76±2.43	93.3	0.47±0.30	0.69±0.27
	Ortalama (Sadece Türkiye populasyonları)	10.31±6.87	4.04±2.32	80	0.39±0.29	0.64±0.29
18	Artvin-Yusufeli-Öğdem	4.73±2.55	3.51±2.12	86.7	0.61±0.32	0.63±0.28
19	Artvin-Artvin-Taşlıca	2.91±2.43	2.51±1.63	60.0	0.76±0.40	0.58±0.35
20	Artvin-Borçka-Göktaş	3.58±2.57	2.92±1.90	86.7	0.63±0.38	0.59±0.32
21	Trabzon-Sürmene-Çaykara	4.53±2.50	3.26±1.58	86.7	0.55±0.34	0.62±0.28
22	Trabzon-Maçka-Maçka	4.13±2.00	2.91±1.31	86.7	0.55±0.30	0.59±0.27
23	Trabzon-Torul-Günyüzü	3.60±2.16	2.79±1.52	86.7	0.58±0.41	0.56±0.27
24	Trabzon-Trabzon-Vakfıkebir	4.40±2.50	3.16±1.59	86.7	0.57±0.30	0.60±0.29
25	Giresun-Dereli-Kümbet	3.80±2.43	2.96±1.82	86.7	0.55±0.35	0.55±0.29
26	Giresun-Dereli-İkisu	3.73±1.98	2.58±1.41	86.7	0.49±0.28	0.52±0.28
27	Giresun-Giresun-Bicik	3.13±1.46	2.48±1.04	86.7	0.51±0.31	0.54±0.25
28	Trabzon-Torul-Örümcek	3.93±1.79	2.83±1.11	86.7	0.60±0.29	0.60±0.26
29	Trabzon-Trabzon-Tonya	4.07±2.34	2.82±1.37	86.7	0.61±0.30	0.58±0.27
	Ortalama (Korunan Alanlar Genel)	11.07±6.36	4.26±2.35	86.7	0.57±0.28	0.65±0.28
	Ortalama (Tohum Meşcereleri)	10.60±6.41	4.37±2.68	86.7	0.57±0.29	0.65±0.29
	Ortalama (Gen Koruma Ormanları)	5.53±2.97	3.19±1.38	86.7	0.61±0.29	0.61±0.27
	Genel Ortalama (Gürcistan Hariç)	14.20±7.63	5.56±3.19	93.3	0.53±0.28	0.70±0.29
	Genel Ortalama (Gürcistan Dahil)	14.47±7.64	5.60±3.27	93.3	0.53±0.28	0.70±0.28

Tablo 7. Her belirteç için gruplara (DK, TM ve GKO (Tablo 1)) göre gözlenen allel sayısı (A), etken allel sayısı (N_e), gözlenen ve beklenen heterozigotluk (H_o ve H_e) ile F_{st} değerleri.

Belirteç	A				N_e				H_o				H_e				F_{st}			
	DK	TM	GKO	Genel	DK	TM	GKO	Genel	DK	TM	GKO	Genel	DK	TM	GKO	Genel	DK	TM	GKO	Genel
SS12	15	9	8	19	6.97	5.19	5.44	10.02	0.70	0.58	0.75	0.66	0.86	0.81	0.84	0.90	0.44	0.27	0.13	0.40
SS13	8	7	6	12	4.97	2.90	2.67	4.31	0.36	0.72	0.80	0.61	0.81	0.66	0.64	0.77	0.85	0.08	0.04	0.63
SS15	21	16	8	23	6.97	8.51	5.16	11.29	0.69	0.75	0.65	0.71	0.86	0.89	0.83	0.91	0.46	0.11	0.07	0.34
SS16	12	7	4	12	5.48	2.79	2.93	5.72	0.32	0.33	0.50	0.34	0.82	0.65	0.68	0.83	0.47	0.40	0.05	0.46
SS17	4	18	4	18	3.46	4.16	2.94	4.17	0.95	0.99	1.00	0.99	0.73	0.76	0.68	0.76	0.93	0.12	0.03	0.67
PaGB3	8	6	5	8	4.49	2.82	3.17	4.83	0.29	0.73	0.55	0.50	0.78	0.65	0.70	0.79	0.63	0.17	0.10	0.52
PaGB5	9	6	5	10	3.83	3.97	4.32	5.05	0.32	0.71	0.80	0.54	0.74	0.75	0.79	0.80	0.73	0.29	0.02	0.57
UAPgCT3	8	17	12	18	5.63	7.53	4.85	7.11	0.85	0.83	0.85	0.84	0.84	0.87	0.81	0.86	0.92	0.09	0.03	0.61
UAPgCA24	20	14	7	22	5.11	4.33	3.98	6.74	0.60	0.66	0.65	0.63	0.81	0.77	0.77	0.85	0.19	0.36	0.19	0.30
UAPgAG105	1	1	1	1	1.00	1.00	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
UAPgA150A	9	11	2	12	2.60	3.00	1.96	2.69	0.05	0.57	0.85	0.29	0.62	0.67	0.50	0.63	0.26	0.39	0.00	0.30
UAPgCT144	7	7	5	8	2.54	2.02	2.94	2.38	0.42	0.39	0.50	0.41	0.61	0.51	0.68	0.58	0.49	0.08	0.09	0.38
UAPgTG87	22	22	8	27	9.88	10.04	3.48	10.96	0.80	0.84	0.65	0.80	0.90	0.91	0.73	0.91	0.37	0.18	0.04	0.30
SpAGG3	21	17	7	23	7.26	6.22	2.06	6.59	0.67	0.42	0.55	0.58	0.86	0.84	0.53	0.85	0.13	0.37	0.01	0.23
SpAGC1	4	1	1	4	1.18	1.00	1.00	1.10	0.03	0.00	0.00	0.02	0.15	0.00	0.00	0.09	0.74	0.00	0.00	0.75
Ortalama	11.27	10.60	5.53	14.47	4.76	4.37	3.19	5.60	0.47	0.57	0.61	0.53	0.69	0.65	0.61	0.70	0.53	0.23	0.07	0.44



Şekil 3. İncelenen populasyonların genetik mesafelerini gösteren dendrogram (DK: doğal koru, TM: tohum meşceresi, GLO: gen koruma ormanı). Populasyonlar hakkında bilgi için tablo 1'e bakınız.

Bu çalışmada *Picea orientalis*'in genetik çeşitliliğinin diğer ladin türleri ile kıyaslandığında orta düzeyde bir genetik çeşitliliğe sahip olduğu, tohum üretimi amacıyla ayrılmış tohum meşcerelerinin genel genetik çeşitliliği büyük oranda yansıttığı gözlenmiştir. Yapay gençleştirme çalışmalarında tohum meşcerelerinden elde edilen tohumların kullanılması türün genetik çeşitliliğinde önemli bir azalmaya neden olması beklenmemelidir ancak bu konu ayrıca incelenmesi gereken bir araştırma konusudur.

Tohum meşcereleri ve gen koruma ormanları dışında *Picea orientalis*'in mevcut korunan alanlardaki (milli parklar, tabiat parkları, tabiat koruma alanları) varlığı ile birlikte genetik çeşitliliğinin korunması bakımından iyi durumda olduğu söylenebilir. Ancak, Türkiye'deki *Picea orientalis* populasyonları üzerinde her geçen gün artan insan kaynaklı baskılar (yollar, enerji yatırımları, yaylacılık, şehirleşme vb.) ve iklim değişikliğine bağlı tehditler türün habitatının parçalanmasına/daralmasına ve dolayısıyla varlığının tehlikeye girmesine neden olmaktadır. Bu nedenle korunan alanlardaki genetik çeşitlilik genel çeşitliliği büyük oranda yansıtmamasına karşın türün habitatının korunması da bu genetik kaynakların korunması bakımından önemlidir.

REFERANSLAR

- ADAMS, W.T., Zuo, J. Shimizu, J.Y., Tappeiner, J.C., Impact of alternative regeneration methods on genetic diversity in Coastal Douglas-Fir, *Forest Science*, 44:390-396 (1998)
- A'HARA, S.W., Cottrell, J.E., A set of microsatellite markers for use in Sitka spruce (*Picea sitchensis*) developed from *Picea glauca* ESTs, *Molecular Ecology Notes*, 4: 659–663 (2004)
- ATASOY, H., Ladin'de (*Picea orientalis* Link. Carr.) tohum ve fidan karakterleri bakımından populasyonlar arası ve içi genetik çeşitlilik. Ormacılık Araştırma Enstitüsü Yay., Teknik Bülten No: 261. 86 s (1996)
- BALLIAN, D., Longauer, R., Mikic, T., Paule, L., Kajba, D., Gömöry, D., Genetic structure of a rare European conifer, Serbian spruce (*Picea omorika* (Panc.) Purk.), *Pl. Syst. Evol.* 260: 53–63 (2006)
- BARTELS, H., Genetic control of multiple estrases from needles and macrogametophytes of *Picea abies*. *Planta* 99:238-289 (1971)
- BESNARD, G., Achere, V., Rampant, P.F., Favre, J.M., Jeandroz, S., A set of cross-species amplifying microsatellite markers developed from DNA sequence databanks in *Picea* (Pinaceae), *Molecular Ecology Notes* 3:380–383 (2003)
- COLLIGNON, A.M., Favre, J.M. 2000: Contribution to the postglacial history at the western margin of *Picea abies*' natural area using RAPD markers. *Ann. Bot.* 85:713–722 (2000)
- DOYLE, J.J., Doyle, J.L., A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue, *Focus*, 12,13-15 (1990).
- EYÜBOĞLU, A. K., Atasoy, H., Küçük, M., Doğu Karadeniz Bölgesinde doğu ladini (*Picea orientalis* (L.) Link) orijin denemesi. Doğu Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü. Yay. No: 8, 30 s. (1998)
- FOSSATI, T., Grassi, F., Sala, F., Castiglione, S. 2003: Molecular analysis of natural populations of *Populus nigra* L. intermingled with cultivated hybrids. *Mol. Ecol.* 12, 2033–2043 (2003)
- GEBUREK, T., Genetic variation of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) populations in Austria. III. Macrospatial allozyme pattern of high elevation populations. *For. Genet.* 6:201–211 (1999)
- GUGERLI, F., Sperisen, C., Buřhler, U., Magni, F., Geburek, T., Jeandroz, S., Senn, J., Haplotype variation in a mitochondrial tandem repeat of Norway spruce (*Picea abies*)

populations suggests a serious founder effect during postglacial re-colonization of the western Alps. *Mol. Ecol.* 10, 1255–1263 (2001)

HODGETTS, R.B., Aleksuk, M.A., Brown, A., Clarke, C., Macdonald, E., Nadeem, S., Khasa, D., Development of microsatellite markers for white spruce (*Picea glauca*) and related species, *Theor Appl Genet*, 102:1252–1258, (2001)

KRUTOVSKII, K. V., Bergmann, F., Introgressive hybridization and phylogenetic relationships between Norway, *Picea abies* (L.) Krast., and Siberian, *P. obovata* Ledeb., spruce species studied by isoenzyme loci. *Heredity* 74:464–480 (1995)

MAGHULY, F., Pinsker, W., Praznik, W., Fluch, S. 2006: Genetic diversity in managed subpopulations of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.]. *Forest Ecology and Management* 222:266-271 (2006)

MELONI, M. Perini, D., Binelli, G., The distribution of genetic variation in Norway spruce (*Picea abies* Karst.) populations in the western Alps, *Journal of Biogeography*, 34, 929–938 (2007)

MORGANTE, M., Venramin, G.G. Genetic variation in Italian populations of *Picea abies* (L.) Karst. and *Pinus leucodermis* Ant. In: Müller-Starck, G., Ziehe, M. (Eds.), *Genetic variation in European Populations of Forest Trees*. J. D. Sauerländer's Verlag, Frankfurt am Main, pp. 205-227 (1991)

MÜLLER-STARCK, G., Genetic variation in high-elevated populations of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) in Switzerland. *Silvae Genet.* 44: 356–362 (1995)

OLEKSYN, J., Prus-Glowacki, W., Giertych, M., Reich, P.B., Relation between genetic diversity and pollution impact in a 1912 experiment with East European *Pinus sylvestris* provenances. *Can. J. For. Res.* 24:2390-2394 (1994)

PFEIFFER, A., Olivieri, A.M., Morgante, M., Identification and characterization of microsatellites in Norway spruce (*Picea abies* K.), *Genome*, 40:411-419 (1997)

RAJORA, O.P., Mann, I.K., Shi, Y.Z., Genetic diversity and population structure of boreal white spruce (*Picea glauca*) in pristine conifer-dominated and mixedwood forest stands, *Can. J. Bot.*, 83:1096-1105 (2005)

SCOTTI, I., Vendramin, G.G., Matteotti, L.S., Scarponi, C., Sari-Gorla, M., Binelli, G., Postglacial recolonization routes for *Picea abies* K. in Italy as suggested by the analysis of sequence-characterized amplified region (SCAR) markers. *Mol. Ecol.* 9, 699–708 (2000)

SPERISEN, C., Büchler, U., Gugerli, F., Mátyás, G., Geburek, T., Vendramin, G.G. Tandem repeats in plant mitochondrial genomes: application to the analysis of population differentiation in the conifer Norway spruce. *Mol. Ecol.* 10, 257–263 (2001)

TAUTZ, D., Schlötterer, C., Simple sequences. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 4:832–837 (1994)

TURNA, İ., Doğu ladini (*Picea orientalis* (L.) Link) populasyonlarında genetik yapının izoenzim analizleri ile belirlenmesi. Doktora tezi. KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilimdalı, Trabzon. 112 s., (1996)

ÜRGENÇ, S., Boydak, M., Alptekin, Ü., Belgrad Ormanında kurulu doğu ladini (*Picea orientalis* L.) orijin denemesine ait sonuçlar. İ.Ü. Orm. Fak. Der. Seri A, 40(2): 54-69 (1990)

VENDRAMIN, G.G., Anzidei, M., Madaghiele, A., Sperisen, C., Bucci, G., Chloroplast microsatellite analysis reveals the presence of population subdivision in Norway spruce (*Picea abies* K.) Genome 43, 68–78 (2000)

WANG, Y., Luo, J., Xue, X., Korpelainen, H., Li, C., Diversity of microsatellite markers in the populations of *Picea asperata* originating from the mountains of China. Plant Science 168:707-714 (2005)

YAHYAOĞLU, Z., Atasoy, H., Ladin (*Picea orientalis* L. Link) de ıslah alışmaları. KTÜ Orman Fakóltesi Dergisi, 6(2):416-434 (1983)

YAZDANI, R., Scotti, I., Jansson, G., Plomion, C., Mathur, G., Inheritance and diversity of simple sequence repeat (SSR) microsatellite markers in different families of *Picea abies*. Hereditas 138: 219–227 (2003)

YEH, F.C., Boyle, T.J.B., Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits, Belgian Journal of Botany, 129:157 (1997).

YÜKSEL, B., Doğu ladini (*Picea orientalis* (L.) Link.) ormanlarında zarar yapan böcek türleri ile bunların yırtıcı ve parazitleri I. Doğu Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü, Teknik Bülten No:4. 143s. (1998)

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje No: 107O684
Proje Başlığı: SSR Belirteçleri Yardımıyla Doğu Ladini (<i>Picea orientalis</i> (L.) Link.) Gen Kaynaklarının Genetik Yapılarının Belirlenmesi ve Sürdürülebilir Gen Koruma Programlarının Geliştirilmesi
Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar: Proje Yürütücüsü: Yrd.Doç.Dr. Fatih TEMEL Araştırmacılar: Doç.Dr. Zafer ÖLMEZ, Dr. Gaye EREN KANDEMİR
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Artvin Çoruh Üniversitesi, Orman Fakültesi Adres: Seyitler Yerleşkesi, 08000 Artvin
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi:
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01-04-2008-01-04-2011
Öz (en çok 70 kelime) Toplam 29 doğal <i>Picea orientalis</i> popülasyonu (17 koru, 10 tohum meşceresi ve 2 gen koruma ormanı) 15 SSR belirteci ile taranmıştır. <i>P. orientalis</i> 'in diğer ladin türleri ile karşılaştırıldığında orta düzeyde bir genetik çeşitliliğe sahip olduğu ve tohum meşcerelerinin genel genetik çeşitliliği büyük oranda temsil ettikleri gözlenmiştir.
Anahtar Kelimeler: Doğu ladini, <i>Picea orientalis</i> , SSR, genetik çeşitlilik
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu mu? Evet ☐ Gerekli Değil ☒ Fikri Ürün Bildirim Formu'nun tesliminden sonra 3 ay içerisinde patent başvurusu yapılmalıdır.
Projeden Yapılan Yayınlar:
Ekte Bulunan "ARDEB Başarı Öyküsü Formu", "Kazanımlar" Bölümünde Belirtilen Kriterlere Göre Proje Çıktılarınızın Başarı Öyküsü Niteliği Taşıdığını Düşünüyorsanız "ARDEB Başarı Öyküsü Formu"nu doldurunuz.