

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



TÜRKİYE'DEKİ *JUNIPERUS EXCELSA*'NIN (BOYLU ARDIÇ/BOZ ARDIÇ) TÜR İÇİ
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİ: BÖLGESEL, COĞRAFİK FARKLILIKLARIN BELİRLENMESİ VE
HABİTAT PARÇALANMASININ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Özay Hasan EVREN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



TÜRKİYE'DEKİ *JUNIPERUS EXCELSA*'NIN (BOYLU ARDIÇ/BOZ ARDIÇ) TÜR İÇİ
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİ: BÖLGESEL, COĞRAFİK FARKLILIKLARIN BELİRLENMESİ VE
HABİTAT PARÇALANMASININ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Özay Hasan EVREN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

ŞUBAT 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DEKİ *JUNIPERUS EXCELSA*'NIN (BOYLU ARDIÇ/BOZ ARDIÇ) TÜR İÇİ
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİ: BÖLGESEL, COĞRAFİK FARKLILIKLARIN BELİRLENMESİ VE
HABİTAT PARÇALANMASININ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Özay Hasan EVREN

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

(Bu tez
Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FDK-15-781 nolu proje ile desteklenmiştir.)

ŞUBAT 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TÜRKİYE'DEKİ *JUNIPERUS EXCELSA*'NIN (BOYLU ARDIÇ/BOZ ARDIÇ) TÜR İÇİ
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİ: BÖLGESEL, COĞRAFİK FARKLILIKLARIN BELİRLENMESİ VE
HABİTAT PARÇALANMASININ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Özay Hasan EVREN

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 08/02/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile kabul /
~~ret~~ edilmiştir.

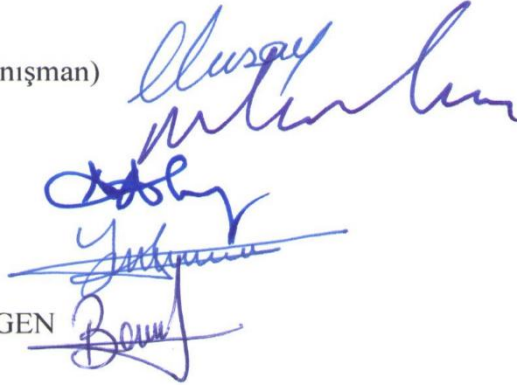
Prof. Dr. Nuray KAYA (Danışman)

Prof. Dr. Nedim MUTLU

Prof. Dr. Ahmet AKSOY

Doç. Dr. Yusuf KURT

Yrd. Doç. Dr. B. Banu BİLGEN



ÖZET

TÜRKİYE'DEKİ *JUNIPERUS EXCELSA*'NIN (BOYLU ARDIÇ/BOZ ARDIÇ) TÜR İÇİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİ: BÖLGESEL, COĞRAFİK FARKLILIKLARIN BELİRLENMESİ VE HABİTAT PARÇALANMASININ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Özay Hasan EVREN

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuray KAYA

Şubat 2018; 97 sayfa

Ardıç (*Juniperus L.*) popülasyonları Türkiye'deki toplam orman alanlarının %4.29'unu (1,113,085 hektar) kaplamaktadır. Ardıç ormanlarının %82'lik bir kısmını da *J. excelsa* M. Bieb. (Boylu ardıç/bozardıç) türü oluşturmaktadır. Dünya genelinde 75 civarında, Türkiye genelinde ise dokuz ardıç türü bulunmaktadır. *J. excelsa* türü Türkiye ve komşu ülkelerinde yayılış göstermektedir. Bu çalışmanın temel amacı, *J. excelsa*'nın Türkiye'deki yayılış alanlarından ve marjinal popülasyonlarından geniş bir örneklemin ele alınarak, popülasyonların genetik çeşitliliğinin belirlenmesi ve karşılaştırılmasıdır. Bu amaçla, dış gruplar (*J. polycarpos* K. Koch ve *J. foetidissima* Willd.) da dahil olmak üzere 21 popülasyondan 472 bitki örneği ile bu popülasyonlara ait toprak örnekleri çalışılmıştır. Toprak analizi sonuçlarına göre, popülasyonlardan örneklenen topraklarda genel olarak kireç ve kum oranlarının yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca, toprağın değişilebilir kation (Ca^{++} , Mg^{++} , K^+) miktarının fazla ve fosfor miktarı açısından da zengin olduğu bulunmuştur. Bakır ve çinko gibi ağır metal düzeylerinin ise düşük olduğu görülmüştür. Moleküler incelemelerde SSR ve ITAP belirteçlerinden yararlanılmıştır. Sekiz SSR lokusunun yedisi, 134 ITAP lokusundan da 132'si polimorfiktir. *J. excelsa* popülasyonları bazında ise ITAP belirteçlerinin polimorfizm yüzdesi 31.34 ile 55.97 arasında değişmektedir. SSR lokusları için beklenen ve gözlenen heterozigotluk ile Shannon Bilgi indeksi değerlerinin ortalamaları sırasıyla 0.539, 0.448 ve 1.34 olarak bulunmuştur. SSR lokusları için hesaplanan ortalama F_{is} , F_{st} ve N_m değerleri ise sırasıyla; 0.124, 0.043 ve 5.513'tür. ITAP lokusları için popülasyonların genetik çeşitlilik değerleri, SSR lokuslarındaki genetik çeşitliliğe göre daha düşük bulunmuştur. ITAP lokus verilerine göre G_{st} ve N_m değerleri sırasıyla 0.225 ve 1.728'dir. SSR lokusları için Nei'nin (1972)'nin genetik uzaklık değeri 0.023 (Eskişehir-Mihalıççık ve Denizli-Acıpayam) ile 0.292 (Mersin-Tarsus ve *J. polycarpos*) arasında değişmektedir. ITAP lokusları için ise Nei (1972)'nin genetik uzaklık değeri 0.010 (Antalya-Termessos ve Muğla-Seydikemer) ile 0.110 (Konya-Hadim ve Isparta-Senirkent) arasındadır. Yapılan AMOVA analizi sonuçları, genetik varyasyonun büyük yüzdesinin popülasyon içinden kaynaklandığını göstermektedir (SSR'lar için %97, ITAP'lar için %79). Her iki belirteç bakımından da yapılan Mantel-testi bulguları coğrafik uzaklığın genetik izolasyonla anlamlı bir istatistiksel ilişkisinin olmadığını göstermiştir. PCoA analizleri popülasyonlar arasında coğrafik olarak doğu ve batı ayrışmasının ipuçlarını göstermiştir. Dış gruplar, *J. excelsa* popülasyonlarından genetik uzaklık değerleri bakımından belirgin bir şekilde farklı bir yapı sergilemiştir. Ancak, *J. excelsa* popülasyonlarında ise özgün yapılar oluşturma eğiliminin az olduğu görülmüştür. Elde edilen bu bulgular, *J. excelsa* popülasyonlarının benzer şekilde analiz edildiği çalışmaların sonuçları ile örtüşmektedir.

Bu alışmada, *J. excelsa* popölasyonlarının genetik çeşitliliklerini korudukları ve aralarındaki genetik farklılaşmanın az olduğu görölmüştür. Bu nedenle, habitat parçalanması ile bağlantılı uyum gücü kaybına yönelik bir belirtiyeye rastlanmamıştır. Buradan da bu türün koruma stratejilerinin uygulanmasında zengin genetik kaynakların kullanılabilereği avantajlı bir konumun var olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Genetik eşitlilik, genetik farklılaşma, habitat parçalanması, ITAP, *J. excelsa*, SSR.

JÜRİ: Prof. Dr. Nuray KAYA

Prof. Dr. Nedim MUTLU

Prof. Dr. Ahmet AKSOY

Doç. Dr. Yusuf KURT

Yrd. Doç. Dr. Behiye Banu BİLGEN

ABSTRACT

INTRA-SPECIFIC GENETIC VARIATION OF *JUNIPERUS EXCELSA* IN TURKEY: EVALUATION OF REGIONAL AND GEOGRAPHIC DIFFERENCES AND EFFECT OF HABITAT FRAGMENTATION

Özay Hasan EVREN

Ph. D. Thesis in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Nuray KAYA

February 2018; 97 pages

Juniperus L. populations cover 4.29% (1,113,085 ha) of Turkey's forests area. There are about 75 juniper species around the World, nine of them are in Turkey. About 82% of the total juniper forests in Turkey consist of *J. excelsa* M. Bieb (Crimean/Greek juniper) species. It distributes mainly in Turkey and neighbor countries. The main aim of this study is to determine genetic variation of *J. excelsa* populations distributed main and marginal areas, and to compare for their genetic diversity. For this purposes, including the out-group (*J. polycarpus* K. Koch and *J. foetidissima* Willd.), 472 plant samples belonging to 21 populations and the soil specimens therein were collected and analyzed. According to the results of soil analysis; lime and sand proportions were high; exchangeable cations (Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, K⁺) and phosphorus were rich; and heavy metals levels like copper and zinc were low. SSR and ITAP markers were used for molecular analysis. Seven of eight SSR and 132 of 134 ITAP loci were polymorphic. At the population level for *J. excelsa*, the percentage of polymorphism for ITAP loci ranged from 31.34 to 55.97. For SSR loci, average expected/observed heterozygosity and Shannon information index values were calculated to be 0.539, 0.448 and 1.34, respectively. Also, Fis, Fst, Nm values were 0.124, 0.043 and 5.513, respectively. Genetic diversity values for ITAP loci were lower than that of SSR loci. For ITAP loci, Gst and Nm values were 0.225 and 1.728 respectively. Nei's Genetic distance values for SSR loci ranged between 0.023 (Eskişehir-Mihalıççık and Denizli-Acıpayam) and 0.292 (Mersin-Tarsus and *J. polycarpus*). Nei's Genetic distance values for ITAP loci also ranged between 0.010 (Antalya-Termessos and Muğla-Seydikemer) and 0.110 (Konya-Hadim and Isparta-Senirkent). The results of AMOVA indicated that most of the genetic variation was originated from intra-population level (97% for SSRs, 79 % for ITAPs). Furthermore, Mantel-test results for both of two markers type showed that there was no statistically significant correlation between geographical distance and genetic distance. PCoA analysis hinted the presence of geographical divergence of east and west populations. It was seen that out-group showed apparently different structure from *J. excelsa* populations, while *J. excelsa* populations had less tendency to establish specific structures. The results of this study coincide with conclusions of studies *J. excelsa* populations were analyzed in a similar manner. In this study, it was seen that *J. excelsa* populations were protected their genetic diversity, and genetic differentiation among them was low. Therefore, a sign about the loss of fitness related habitat fragmentation wasn't found. The conclusion was reached that the existence of an advantageous position in the implementation of the conservation strategies of this species.

KEYWORDS: Genetic differentiation, genetic diversity, habitat fragmentation, ITAP, *J. excelsa*, SSR.

COMMITTEE: Prof. Dr. Nuray KAYA

Prof. Dr. Nedim MUTLU

Prof. Dr. Ahmet AKSOY

Assoc. Prof. Dr. Yusuf KURT

Asst. Prof. Dr. Behiye Banu BİLGİN



ÖNSÖZ

Bu çalışmada Türkiye’de boylu/bozardıç adıyla bilinen *Juniperus excelsa* M. Bieb. türünün tür içi genetik çeşitliliğinin ortaya konulması hedeflenmiştir. Türkiye’de tarihten bugüne değin, ardıçlar da dahil olmak üzere, ormanlık alanlarda yoğun bir tahribat süregelmıştır. Bu şekilde orman bitkilerinin yaşam alanları (habitatlari) bütünlüğünü kaybederek parçalanmış ve daralmıştır. Türkiye’deki ardıç sahalarının baskın türü boylu ardıç olup, bu tür sözü edilen tahribattan en çok etkilenen türlerdendir.

Yaşam alanlarının tahrip olması bir türe ait olan popülasyonlar arasındaki gen akışının kesilmesi, soy içi üreme baskısı gibi nedenlerle türler, genetik çeşitliliklerini büyük ölçüde yitirebilir ve bu durum da onların değişken çevre koşullarına uyum sağlama gücünü olumsuz etkileyebilir. Bu şekilde popülasyonların varlığını sürdürme şansı tehlike altına girebilir. Bu nedenle, türlerin genetik çeşitliliklerinin araştırılması, popülasyon genetiği literatürünü zenginleştirmenin, bilimsel merakı gidermenin yanında popülasyonların uyum gücü hakkında fikir sahibi olunmasını ve genetik rezervlerin belirlenmesini sağlar. Böylece, türlerin korunmasına yönelik stratejilerin belirlenmesi ve geliştirilmesine kılavuzluk eder. Başta *J. excelsa* türü olmak üzere ardıç türlerinin Türkiye’de yayılış gösteren popülasyonlarının korunmasına yönelik stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlaması için gerekli olan moleküler çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

Juniperus excelsa popülasyonları başta olmak üzere Türkiye’de yayılış gösteren ardıç türlerinin moleküler belirteçlere dayalı olarak analiz edildiği çalışmalar sınırlı sayıdadır. Mevcut çalışmalar ise Türkiye’deki popülasyonların geneli için yeterince kapsayıcı değildir. Bu çalışmanın bir diğer amacı da bu boşluğu doldurmaktır. *J. excelsa* türü popülasyonlarının çok büyük bir yüzdesine Türkiye’nin ev sahipliği göz önüne alındığında bu çalışmanın önemi daha çok artmaktadır.

Bu çalışmanın yapılabilmesi için Türkiye’de çok sayıda popülasyondan örnekleme yapmak amacıyla arazi çalışmaları yapılmış ve arazilerdeki ağaçlardan yaprak örnekleri ile toprak örnekleri alınmıştır. Arazi çalışmaları sırasında, popülasyonların bulunduğu alanlara ulaşmak adına bölgedeki Türkiye Cumhuriyeti Orman ve Su İşleri Bakanlığı’na bağlı çeşitli Orman İşletme Müdürlükleri ve Şeflikleri’nden yardım alınmış ve arazi çalışmalarının tamamlanması bu kurumların araçları ile şoförlerinin hizmetimize tahsis edilmesi ile mümkün olmuştur. Bu yüzden, ağaç ve toprak örneklerinin toplanmasında bana yardımcı dokunmuş, adlarını burada sayamayacağım tüm Orman İşletme Müdürleri, şefleri ve arazi çalışmalarında bizzat bana eşlik eden Orman İşletme Müdürlüklerinde ve şefliklerde çalışan personellerin hepsine teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmanın bir doktora tezine dönüştürülmesi sürecinde; tez projesinin yazımı, deneysel aşamanın tamamlanması, deneysel aşamalardan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi ve tezin yazımı süreçlerinin bütününde bana yardımını esirgemeyen ve kılavuzluk eden danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nuray KAYA’ya teşekkür ederim. Tez İzleme Komitesi üyeleri olan Sayın Prof. Dr. Nedim MUTLU’ya, Sayın Prof. Dr. Ahmet AKSOY’a çalışmanın bütün aşamalarındaki katkılarından dolayı, Sayın Doç. Dr. Yusuf KURT’a tezimin değerlendirme aşamasındaki katkılarından dolayı şükranlarımı sunarım. Bunun yanında hem verilerimin değerlendirilmesi aşamasında “Structure” analizindeki

yardımlarından dolayı hem de tezimin değerlendirme aşamasındaki katkılarından dolayı Sayın Yrd. Doç. Dr. B. Banu BİLGEN'e de ayrıca teşekkür ederim.

Tüm bunlara ek olarak, doktora öğrenimimin ilk beş yılı süresi boyunca bana "2211-E Doğrudan Yurt İçi Doktora Burs Programı" kapsamında burs verdiği için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı'na (TÜBİTAK-BİDEB) ve doktora tez projemi mali olarak destekleyen (Proje No: FDK-15-871) Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Akd. Üni. B.A.P) teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. <i>Juniperus</i> L. Cinsi ve <i>Juniperus excelsa</i> Türü Hakkında Sistematik Bilgiler	4
1.2. <i>Juniperus</i> Türlerinin Ekolojik Özellikleri ile Ekonomik Önemleri.....	8
2. KAYNAK TARAMASI.....	11
2.1. Ardıç Türleri Üzerine Moleküler Yöntemlerle Yapılmış Biyocoğrafik, Filogenetik ve Popülasyon Genetiği Alanlarındaki Çalışmalar	11
2.2. SSR (Single Sequence Repeat, Basit Dizi Tekrarları) ve Ardıç Türlerinde Yapılmış SSR Belirteçlerine Dayalı Çalışmalar.....	13
2.3. ITAP (Intron Targeted Amplified Polymorphism, Intron Hedefli Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi) Belirteçleri	16
3. MATERYAL-METOT	18
3.1. Bitki Materyali.....	18
3.2. Popülasyonlara İlişkin Bilgiler ve Toprak Analizi	20
3.3. Popülasyonlardaki Ağaçlardan Yaprak Örneklerinin Toplanması ve Kurutulması.....	25
3.4. DNA İzolasyonu ve Kalite-Miktar Tayini	26
3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tabanlı İşlemler	29
3.5.1. nSSR lokuslarının analizleri.....	29

3.5.2. ITAP lokuslarının analizi	32
3.6. SSR ve ITAP Verilerinin İstatistiksel Açıdan Değerlendirilmesi	34
4. BULGULAR.....	37
4.1. Toprak Analizleri	37
4.2. SSR Analizleri	38
4.3. ITAP Analizleri	52
4.4. Moleküler Varyans Analizleri (AMOVA)	61
4.5. PCoA (Principal Coordinates Analyses) Analizleri	61
4.6. Mantel-Testi Analizleri.....	64
4.7. Popülasyonlarda Genetik Yapı (Structure) Analizleri.....	65
5. TARTIŞMA	68
5.1. Toprak Analizlerinin Değerlendirilmesi.....	68
5.2. Popülasyonların Genetik Çeşitlilikleri ve Genetik Farklılaşmaları.....	70
5.3. Türkiye'deki Ardıç Ormanlarının Korunma Stratejileri.....	80
6. SONUÇ	84
7. KAYNAKLAR	86
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora tezi olarak sunduğum “TÜRKİYE’DEKİ *JUNIPERUS EXCELSA*’NIN (BOYLU ARDIÇ/BOZ ARDIÇ) TÜR İÇİ GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİ: BÖLGESEL, COĞRAFİK FARKLILIKLARIN BELİRLENMESİ VE HABİTAT PARÇALANMASININ ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak bulunduğunu belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

05/01/2018

Özay Hasan Evren



SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

.	Ondalık ayırıcı (Örnek: 12.345)
%	Yüzde
°	Derece
'	Dakika (Konum birimi)
"	Saniye
°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
A	Adenin
C	Sitozin
Ca	Kalsiyum
CaCO ₃	Kalsiyum karbonat
Cu	Bakır
E	Doğu boylamı
Fe	Demir
G	Guanin
h	Nei (1973)' e göre genetik çeşitlilik indeksi
H _e	Beklenen heterozigotluk
H _o	Gözlenen heterozigotluk
I	Shannon bilgi indeksi
K	Potasyum
M	Molar
m	Metre
Mg	Magnezyum

MgCl ₂	Magnezyum Klorür
Mn	Manganez
N	Kuzey enlemi
n	Tekrar sayısı
NaCl	Sodyum klorür
P	Fosfor
<i>P</i>	Olasılık değeri
pH	Bir çözeltildeki asitlik değerinin ölçüsü
R ²	Mantel-Testi Analizi ile elde edilen, coğrafi uzaklıklar ile popülasyonlara arasındaki genetik izolasyon arasındaki korelasyon değeri.
T	Timin
U	Ünite (enzim birimi)
V	Volt

Kısaltmalar

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism (Çoğaltılmış Fragment Uzunluk Polimorfizmi)
AJE	Agaroz Jel Elektforezi
AMOVA	Analysis of Molecular Variance (Moleküler Varyans Analizi)
ATM	Ardıç Tohum Meşçeresi
bç	Baz çifti
Bkz	Bakınız
bp	Base pair (Baz çifti)
cpDNA	Kloroplast DNA'sı
ÇŞB	Çevre ve Şehircilik Bakanlığı
df	Degree of freedom (Serbestlik derecesi)
dH ₂ O	Distile su
dk	Dakika (Zaman birimi)

DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleik asit trifosfat
EC	Electrical Conductivity (Elektriksel İletkenlik)
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
FAM	Mavi renk oluşturan floresan boya molekülü
Fis	Soy içi üreme katsayısı
Fit	Fiksasyon indeksi
Fst	Popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın derecesini gösteren katsayı
GKO	Gen Koruma Ormanı
Gst	Genetik farklılaşma katsayısı
ha	Hektar (10 000 m ²)
Hs	Popülasyon-içi genetik çeşitlilik
Ht	Toplam genetik çeşitlilik
ISSR	Internal Simple Sequence Repeats (Basit Dizi Tekrarları Arası)
ITAP	Intron Targeted Amplified Polymorphism (Intron Hedefli Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi)
ITS	Internal Transcribed Spacer
<i>J.</i>	<i>Juniperus</i>
<i>Jf</i>	<i>Juniperus foetidissima</i>
<i>Jp</i>	<i>Juniperus polycarpos</i>
km	Kilometre
km ²	Kilometrekare
LIZ	Turuncu renk oluşturan floresan boya molekülü
MAGE	Metafor Agaroz Jel Elektroforezi
mg	Miligram (10 ⁻³ g)
ml	Mililitre (10 ⁻³ Litre)

mm	Milimetre
mM	Milimolar
MP	Milli Park
mS/cm	Elektriksek İletkenlik (EC) birimi (1 mS/cm=1000 µS/cm)
na	Toplam allel sayısı
ne	Etkili allel sayısı
NED	Sarı renk oluşturan floresan boya molekülü (Ancak, “GeneMapper Software Version 4.0” programında siyah renkte gösterilir.)
ng	Nanogram
nm	Nanometre (10 ⁻⁹ metre)
Nm	Gen akışı değeri
No	Numara
nrDNA	Ribozomal RNA’ları kodlayan genlerin bulunduğu DNA bölgeleri
nSSR	Nükleer Simple Sequence Repeat (Çekirdekteki Basit Dizi Tekrarları)
Nst	Gst gibi bir genetik farklılaşma katsayısı
OD	Optik Dansite (Belli dalga boylarındaki spektrofotometre okuması)
OGM	Orman Genel Müdürlüğü
Ort.	Aritmetik Ortalama
PAGE	Poliakrilamid Jel Elektroforezi
PCoA	Principal Coordinates Analysis (Temel Koordinatlar Analizi)
PET	Kırmızı renk oluşturan floresan boya molekülü
Pls	Polimorfik lokus sayısı
Ply	Polimorfik lokus yüzdesi
Pop.	Popülasyon
ppm	Parts per million (milyonda bir hacim, ağırlık vb.)
Primer F	Forward (ileri) primer

Primer R	Reverse (geri) primer
PVP	Polivinilpirolidon
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA (Rastgele oğaltılmış Polimorfik DNA)
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism (Kesilen Parça Uzunluk Polimorfizmi)
RNaz	RNA'ları (Ribonükleik asit) parçalayan enzim
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SH	Standart Hata
SNP	Single Nucleotid Polymorphism (Tek Nükleotit Polimorfizmi)
SSR	Simple Sequences Repeats (Basit Dizi Tekrarları)
SRAP	Sequence Related Amplified Polimorphism (Dizi İlişkili oğaltılmış DNA Polimorfizmi)
STR	Kısa bitişik tekrar (Short Tandem Repeat)
subsp.	Alttür
Taq Pol.	<i>Thermus aquaticus</i> adındaki bakteri türünden elde edilen yüksek sıcaklığa dayanıklı DNA Polimeraz
TBE	Tris-Borat-EDTA Tamponu
Tm	Primerlerin yapışma (erime) sıcaklığı
UPGMA	Unweighted pair group method using arithmetic averages (=aritmetik ortalamayı kullanan ağırlıksız çift grup metodu)
vb.	ve benzeri
vd.	ve diğerleri
VIC	Yeşil renk oluşturan floresan boya molekülü
VNTR	Variable number of tandem repeats (Minisatellit)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Juniperus</i> cinsi seksiyonlarının dünya üzerindeki yayılışı	6
Şekil 1.2. <i>J. excelsa</i> türünün yayılış alanları	7
Şekil 2.1. SSR analiziyle çoğaltılmak istenen bir CTT lokusunun üç farklı alleli (7-9'lu tekrar sayıları) ve komşu dizileri hedefleyen primer tasarımının şekilsel gösterimi.....	14
Şekil 2.2. Kodominant belirteçlerde heterozigotluğun ayırt edilebilmesi (solda) ve dominant belirteçlerde de ayırt edilememesi durumu (sağda)	15
Şekil 2.3. ITAP yönteminin çalışma prensibinin şematik gösterimi	17
Şekil 3.1. Çalışılan <i>J. excelsa</i> popülasyonlarının coğrafik konumları	19
Şekil 3.2. <i>J. excelsa</i> 'nın Antalya-Gündoğmuş popülasyonundan görünüş.....	24
Şekil 3.3. <i>J. excelsa</i> 'nın Antalya-Gündoğmuş popülasyonundan alınmış toprak örneği.....	25
Şekil 3.4. Nemi alınarak kilitli poşete yerleştirilmiş silika jel ile içerisinde örnek bulunan ağzı kapatılmış kese kağıdı (solda); örneğin suyunu çekmek suretiyle nemlenerek pembeleşmiş silika jel (sağda)	25
Şekil 3.5. Kurutma süreci tamamlanmış yaprak örneği.....	26
Şekil 3.6. Eskişehir-Seyitgazi popülasyonuna ait örneklerden birinin DNA miktar ve kalitesini belirlemek için Nanodrop 1000 ile yapılan ölçüm sonucu	28
Şekil 3.7. 10 ng/µl olacak şekilde sulandırılmış DNA örneklerinin bulunduğu 96 kuyucuklu plakalardan birinin üstten görünüşü	29
Şekil 4.1. Sekiz SSR lokusunda gözlenen özgül allel örüntüsü.....	39
Şekil 4.2. SSR verileri bakımından çalışılan popülasyonların Nei (1972)'ye göre genetik uzaklıklarını gösteren UPGMA ağacı	47
Şekil 4.3. ITAP jellerinden örnek resimler	52
Şekil 4.4. ITAP verileri bakımından çalışılan popülasyonların Nei (1972)'ye göre genetik uzaklıklarını gösteren UPGMA ağacı	56
Şekil 4.5. SSR'ların Pair-wise Fst değerleri kullanılarak yapılan PCoA sonucu	62
Şekil 4.6. SSR'ların Nei (1972)'ye göre hesaplanmış genetik uzaklık değerleri kullanılarak yapılan PCoA sonucu.....	62
Şekil 4.7. ITAP'ların Pair-wise Fst değerleri kullanılarak yapılan PCoA sonucu.....	63

Şekil 4.8. ITAP'ların Nei (1972)'ye göre hesaplanmış genetik uzaklık değerleri kullanılarak yapılan PCoA sonucu.....	63
Şekil 4.9. Uygun K değerinin belirlendiği K-Delta grafiği (üstte); K=7'ye göre SSR lokus verilerinin “Structure” analizi sonucu ortaya çıkan popülasyon yapı örüntüleri (altta).....	66
Şekil 4.10. Uygun K değerinin belirlendiği K-Delta grafiği (üstte); K=2'ye ITAP lokus verilerinin “Structure” analizi sonucu ortaya çıkan popülasyon yapı örüntüleri (altta).....	67



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye’de 1926-2015 yıllarını kapsayan orman istatistiği	1
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan <i>Juniperus</i> taksonlarına ait coğrafik bilgiler	18
Çizelge 3.2. Çalışılan popülasyonların arazi yapısı, eğim ve bakışı.....	20
Çizelge 3.3. Çalışılan popülasyonlar arasındaki kuş uçuşu (düz bir hat boyunca) uzaklıklar (km)	22
Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan nSSR primer çiftlerine ait bilgiler.....	30
Çizelge 3.5. SSR-PZR’leri için optimize edilmiş reaksiyon döngüsü	31
Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan ITAP primerlerine ait bilgiler	32
Çizelge 3.7. ITAP primerleri için optimize edilmiş reaksiyon karışımı	33
Çizelge 3.8. ITAP-PZR reaksiyon döngüsü	33
Çizelge 4.1. Çalışılan popülasyonlardan alınan toprak örneklerinin analiz sonuçları ..	37
Çizelge 4.2. Çalışılan SSR lokuslarının Hardy-Weinberg Denge analizi sonuçları	40
Çizelge 4.3. Çalışılan SSR lokuslarında gözlenen alleller, büyüklükleri ve tekrar motifleri.....	41
Çizelge 4.4. Çalışılan SSR lokuslarında gözlenen allellerin bulunma oranları	41
Çizelge 4.5. Çalışılan SSR lokuslarındaki gözlenen allel sayıları (na), etkili allel sayıları (ne) ve Shannon bilgi indeksi (I) değerleri.....	42
Çizelge 4.6. Çalışılan popülasyonların SSR lokusları bakımından genetik çeşitlilik parametreleri.....	43
Çizelge 4.7. Çalışılan SSR lokuslarında gözlenen ve beklenen homozigotluk ile heterozigotluk değerleri	46
Çizelge 4.8. Çalışılan SSR lokuslarının ayrı ayrı ve ortalama olarak F istatistiği ile gen akışı değerleri	46
Çizelge 4.9. SSR verilerinden Nei (1972)’ye göre hesaplanmış genetik uzaklıklar bakımından popülasyonların ikili karşılaştırılmaları	48
Çizelge 4.10. SSR lokus verilerinden hesaplanmış Pair-wise Fst değerleri bakımından popülasyonların ikili karşılaştırılmaları	50
Çizelge 4.11. Çalışılan her bir ITAP primer çifti ile elde edilen lokus sayıları.....	53

Çizelge 4.12. Çalışılan popülasyonların ITAP lokusları bakımından genetik çeşitlilik parametreleri.....	54
Çizelge 4.13. ITAP verilerinden, Nei (1972)'ye göre hesaplanmış genetik uzaklıklarına göre popülasyonların ikili karşılaştırılmaları	57
Çizelge 4.14. ITAP verilerden hesaplanmış Pair-wise F _{st} değerlerine göre popülasyonların ikili karşılaştırılmaları	59
Çizelge 4.15. SSR ve ITAP verilerine göre yapılan AMOVA sonuçları	61
Çizelge 4.16. PCoA Analiz türlerine göre ilk üç ekseninde açıklanan varyasyon yüzdeleri.....	64
Çizelge 4.17. <i>J. excelsa</i> popülasyonlarının Mantel-Testi sonuçları	65
Çizelge 5.1. <i>J. excelsa</i> popülasyonlarının farklı çalışmalardaki genetik çeşitlilik parametrelerinin karşılaştırılması.....	72
Çizelge 5.2. Farklı ardıç türlerindeki dominant belirteçlerin analizi ile hesaplanmış H _t , H _s ve G _{st} değerlerinin karşılaştırılması	75

1. GİRİŞ

Dünya gezegeni üzerindeki kara parçalarında yayılış gösteren çok hücreli canlı grupları ve bu grupları oluşturan türlerin tamamına yakını yaşamını sürdürmek için havadaki oksijen gazına gerek duyar. Bugünün bilgilerine göre deniz ve okyanus sularında, metabolizmaları sonucu havaya oksijen gazı salan mikroorganizmaların ortaya çıkması kabaca iki buçuk milyar yıl öncesine kadar geriye gitmektedir (Tomitani vd. 2006). Mikroorganizmaların ve daha sonraki dönemlerde ortaya çıkan kara bitkilerinin ürettikleri oksijen gazı sayesinde yaşamın karalar üzerinde yayılarak çeşitlenmesi, mümkün olmuştur. Bu çeşitliliğin korunması da yine bu oksijen üreten canlılara bağlıdır. Bugünün dünyasında atmosferin kabaca beşte birini oluşturan oksijen gazının %50 ile %70 kadarı deniz ve okyanuslarda yaşayan fotosentetik organizmalar tarafından üretilirken diğer %30 ile %50 kadarı da kara bitkileri tarafından üretilir (Ryther 1970; Roach 2004). Kara bitkileri içinde de ağaç ile çalı türlerinin oluşturduğu orman ekosistemleri de çok değerli, yaşamsal bir öneme sahiptir. Ormanlar, kara yaşamındaki biyoçeşitliliğin büyük bir yüzdesine ev sahipliği yapar ve bu biyoçeşitliliğin sürdürülmesinde kilit bir işleve sahiptir. Bunun dışında ormanlar, sağladığı odun, yiyecek, lif ilaç vb. ürünlerle önemli bir ekonomik değer de üretmektedir.

Ormanların tüm dünya yüzeyinde kapladığı alanların yüzölçümü 2015 verilerine göre yaklaşık olarak 40 milyon km² olup; yeryüzünün yaklaşık %31 gibi önemli bir yüzdesini oluşturur (The World Bank 2015). Aynı durum Türkiye için de geçerlidir. Nitekim, Orman Bölge Müdürlüğü'nün 2015 verilerine göre, Türkiye'de toplam ormanlık alan 22,342,935 hektardır ve bu alan ülke yüzölçümünün %28.6'sına denk gelmektedir (OGM 2017). 1926 yılına kadar geri giden orman istatistiklerine göre; kapalı orman yüzdeleri (normal orman, ağaçların tepe çatılarının alanı %11-100 oranında örten ormanlar), boşluklu orman yüzdeleri (bozuk orman, ağaçların tepe çatılarının alanı %10'dan daha az örten ormanlar) ile toplam hektar biriminden orman varlığı ve ülke genelinde ormanlık alanların yüzdesi Çizelge 1.1'de verilmektedir (Dağdaş ve Bilge 2015; OGM 2017). Her ne kadar ormanlık alanlar dünya genelinde azalıyor olsa da; son 64 yıllık dönemde Türkiye'deki ormanlık alanların miktarında düzenli bir artış göze çarpmaktadır (The World Bank 2015; OGM 2017).

Çizelge 1.1. Türkiye'de 1926-2015 yıllarını kapsayan orman istatistiği

Yıllar	Kapalı Orman Yüzdesi	Boşluklu Orman Yüzdesi	Toplam Orman Alanı (ha)	Ormanlık Alan Yüzdesi
1926	Verilmemiş	Verilmemiş	13,093,380	16.9
1954	36.5	63.5	10,583,687	13.7
1973	44	56	20,199,296	26.1
1999	49	51	20,763,248	26.7
2004	50	50	21,188,747	27.2
2012	53	47	21,678,134	27.7
2015	57	43	22,342,935	28.6

Orman Genel Müdürlüğü'nün 2015 verileri incelendiğinde, Türkiye'nin orman varlığının büyük çoğunluğunu (%90) oluşturan ilk altı ağaç cins ve türünün yüzdeleri sırasıyla; meşe (%26.34), kızılçam (%25.11), karaçam (%19), kayın (%8.5), sarıçam (%6.8) ve ardıçtır (%4.29). Ayrıca köknar, sedir, ladin, fıstıkçamı, kızılalağaç, gürgen, kestane kavak ve ıhlamur gibi türler de bulunmaktadır (OGM 2017). Türkiye'deki ardıç ormanlarının kapladığı alanlarla ilgili sayısal veriler çelişkilidir. Orman Genel Müdürlüğü'nün 2015 verileri dikkate alındığında normal kapalı 218,303 hektar ve boşluklu kapalı da 740,120 ha olmak üzere toplamda 958,403 hektar ardıç orman varlığı söz konusudur. Orman Bölge Müdürlüğü'nce hazırlanmış başka yayınlarda ise 91,234 ha normal ve 484,031 ha bozuk olmak üzere toplamda 575,315 ha ardıç ormanı bulunmaktadır (Koç vd. 2012; OGM 2013). Son olarak, aynı kurum tarafından 2014 yılında hazırlanmış "Ardıç Ormanlarının Rehabilitasyonu Eylem Planı" başlıklı kaynağa göre Türkiye genelinde 1,113,085 ha büyüklüğünde ardıç ormanı bulunmaktadır ve bu sayıya ardıçların diğer türlerle oluşturduğu karışık ormanlar dahil değildir (OGM 2014). Tüm bu kaynaklardan derlenen sayısal veriler değerlendirildiğinde, Türkiye'deki ardıç ormanlarının yüzdelik olarak çoğunun boşluklu kapalı (bozuk) orman niteliği taşıdığı anlaşılmaktadır.

Türkiye'nin ardıç türlerinin oluşturdukları ormanlar içinde en baskın türün %82 yayılış oranıyla *J. excelsa* M. Bieb. olduğu bildirilmiştir (OGM 2014). Bu türün bireyleri ve oluşturdukları popülasyonlara (ormanlara) deniz etkisinin azaldığı ve bittiği alanlar ile genellikle Güneydoğu Anadolu dışındaki bölgelerde sıklıkla rastlanmaktadır. Ancak, ardıç türleri popülasyonlarından oluşan ormanlar yukarıda paylaşılan verilere göre büyük ölçüde bozulmuş durumdadır. Bu durumun kökeni binyıllar öncesine, eski Anadolu uygarlıklarına dayanmaktadır. O zamanlardan beri süregelen ardıç ormanlarının tahribatı söz konusudur. Binlerce yıldır Anadolu'da kurulan uygarlıklar, ardıç odunlarını yüksek ısı enerjisi vermesi nedeniyle evlerde ve demir atölyelerinde yakacak olarak; çürümeye, kurtlanmaya ve suya dayanıklı olması nedeniyle ise bina, ambar, kuyu ve sarnıç inşaatlarında, mezar tahtalarında, bahçe çitlerinde, yün boyamada, müzik aleti ve mobilya yapımında kullanmışlardır (OGM 2014). Yukarıda sayılan nedenlerle ardıç alanları tahrip edildiği gibi, tarla açma ve keçi-koyun otlatma gibi faaliyetler de ardıç ormanlarının tahrip edilmesinin nedenleri arasında sayılmaktadır. Özellikle küçükbaş hayvanların ardıç fidanlarının yeni çıkan filizlerini yemesi ve yeni çıkan küçük fideleri ezmesi de ardıç ağaçlarının büyümesini sekteye uğratmakta, yeni bireylerin yetişmesini; yani popülasyonların gençleşmesini önlemekte ve var olan fidanların da bodur kalmalarına neden olmaktadır. Böylece ardıç popülasyonları kendini yenileme özelliklerini kaybetmektedir (Eler 2000).

Yukarıda sayılan nedenlerle ardıç popülasyonlarının kendini yenileyememesi ve ağaç kesimleri popülasyonların bütünlüğünün bozularak parçalanmasına (fragmentasyon) neden olmaktadır. Bu durum yalnızca Türkiye ardıçları için değil Avrupa kıtasının genelinde yaygın olarak bulunan *J. communis* L. türü için de geçerli bir sorundur. O kadar ki, bu kıtadaki *J. communis* popülasyonlarının parçalanmasıyla oluşan küçük ardıç toplulukları birbirinden oldukça izole olmuş görünümü vermektedir (Michalczyk 2008). Bu şekilde bölünen ve birbirinden izole olan popülasyonların genetik çeşitliliklerini kaybederek soy içi üreme baskısı (inbreeding) altında, genetik darboğaz (bottleneck) sorunuyla karşı karşıya kalmaları ve bunların sonucunda izole küçük popülasyonların birbirinden önemli derecede genetik farklılaşma göstermeleri yüksek bir

olasılıktır. Bunu sınamak için Michalczyk (2008) çalışmasında Avrupa kıtasındaki *J. communis* popülasyonlarının genetik çeşitliliği, AFLP ile SSR belirteçleri kullanarak belirlenmiş ve yukarıda sözü edilen olumsuz durumların varlığına yönelik bir bulguya ulaşamamıştır. Bu popülasyonların genetik çeşitliliklerini korudukları ve birbirinden izole duran popülasyonlarda istatistiksel olarak önemli bir farklılaşma olmadığı sonucu ortaya çıkmıştır.

Avrupa kıtasındaki hakim ardıç türü olan *J. communis* popülasyonlarının durumu Türkiye'deki hakim ardıç türü *J. excelsa* ile önemli benzerlikler göstermektedir. Habitat parçalanması adı verilen ekolojik sorun, *J. excelsa*'nın Türkiye popülasyonları için de geçerlidir. Bu nedenle *J. excelsa* popülasyonlarının da hem genetik çeşitliliklerinin moleküler belirteçlerle değerlendirilmesine hem de habitat parçalanması sorunundan olumsuz etkilenip etkilenmediğinin sınanmasına gereksinim vardır.

Farklı ardıç türleri üzerinde yapılmış SSR (Simple Sequence Repeat), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), ITS (Internal Transcribed Spacer) ve cpDNA (Chloroplast-DNA) belirteçlerine dayalı pek çok genetik çalışma bulunmaktadır. Ardıç üzerine ilk SSR belirteçleri, *J. communis*, türüne özgün olarak geliştirilmiştir (Michalczyk vd. 2006). Daha sonra *J. communis* primerleri *J. excelsa* için optimize edilmiş ve çalışılmıştır. *J. excelsa* türünün popülasyonlarına yönelik SSR belirteçleri kullanılarak iki çalışma yapılmıştır. Birincisi Douaihy vd. (2011)'in çalışmasıdır. Bu yayında, *J. excelsa* türünün Kırım'dan iki, Yunanistan ve Güney Kıbrıs'tan birer, Lübnan'dan altı ve Türkiye'den de iki popülasyonun (Eğirdir ve Ilgaz/Tosya) çalışmaya dahil edilmiş olduğu görülmektedir. Bir diğer çalışmada ise Göller Yöresi ve dolaylarından altı popülasyon (Eğirdir, Beyşehir, Gölhisar, Bucak, Aksu ve Sütçüler) ele alınmıştır (Yücedağ ve Gailing 2013).

J. excelsa üzerine yapılmış yukarıda sözü edilen genetik çalışmaların ortak sonuçları popülasyonlardaki genetik çeşitliliğin önemli ölçüde korunmuş ve popülasyonlar arasında dikkate değer genetik farklılaşmanın gerçekleşmemiş olduğudur. Önceki bu çalışmalardan hareketle bu tez çalışmasında benimsenen temel hedef; özellikle daha geniş bir alandan örnekleme yaparak, *J. excelsa* popülasyonları arasında genetik bir izolasyonun olup olmadığını, genetik farklılaşmanın düşük olup olmadığını ve popülasyonların genetik çeşitliliklerini önemli ölçüde koruyup korumadıklarını analiz etmek ve ortaya atılan bu soruların yanıtını bulmaktır.

Yukarıda özetlenmiş olduğu gibi Türkiye'nin en geniş yayılış alanına sahip ardıç türü olan *J. excelsa* popülasyonları üzerinde az sayıda popülasyon genetiği çalışması olup; var olan SSR temelli çalışmalar da hem ele alınan lokus sayısının azlığı hem de popülasyonların dar bir alandan seçilmiş olmasından dolayı, *J. excelsa*'nın Türkiye genelindeki popülasyonlarının genetik çeşitlilikleri hakkında bir sonuca varabilmek için yeterince kapsayıcı nitelikte değildir. Bundan hareketle; bu tez çalışmasının ana amacı, *J. excelsa*'nın ana yayılış alanlarından ve marjinal popülasyonlarından geniş bir örneklemin ele alınarak, genetik çeşitlilik düzeylerinin belirlenmesi ve popülasyonların genetik yapısının karşılaştırılmasıdır. Çalışmanın amacı ayrıntılı olarak belirtilirse; *J. excelsa* türünün Türkiye'deki popülasyon (meşcere) oluşturan alanlarından alınan örneklerin, SSR ve ITAP (Intron Targeted Amplified Polymorphism) belirteçleri kullanarak, genetik çeşitliliklerinin analizini yapmak, elde edilen bulgular ışığında ekolojik farklılıklarının ve

insan etkisinden kaynaklanan faktörlerin (özellikle habitat parçalanması) türün genetik yapısında ve gen havuzunda ne gibi değişiklikler oluşturduğunu araştırmaktır.

Bu tez çalışmasında kullanılan ITAP yöntemi diğer pek çok geleneksel yöntemle göre (RFLP, RAPD, SSR, AFLP, SRAP) çok daha yenidir. Dolayısıyla, ITAP belirteçlerinin ardıç türleri için kullanıldığı bir genetik çalışmaya literatürde henüz rastlanmamıştır. Ancak Çin’de yetişen bazı muz, ejderha/kedigözü (longan) ve yerfıstığı varyetelerinin genetik olarak analiz edildiği bir ITAP çalışması bulunmaktadır (Xiong vd. 2013). Bu nedenle bu tez çalışması bu yönüyle de özgün bir nitelik taşımaktadır.

SSR ve ITAP belirteçleri ile elde edilecek bulgularla doğal ortamında *J. excelsa*’nın varlığını sürdürme yeteneği açısından önemli olan uyum gücü hakkında bir değerlendirme yapılabilecektir. Ayrıca, dünya ölçeğinde değerlendirildiğinde Türkiye’nin bu ardıç türüne ait popülasyonların çok büyük bir yüzdesini barındırması bu tez çalışmasından elde edilen sonuçların önemini artırmaktadır. Yukarıda sayılan nedenlerle bu tez çalışması ile ulaşılabilecek sonuçlar koruma biyolojisi açısından değerli olacaktır. Bu tez çalışmasıyla Türkiye’de *J. excelsa* sahalarının korunması ve geliştirilmesine yönelik stratejiler belirlenmesinde katkılar sağlanması da bu tez çalışmasının hedefleri arasındadır.

1.1. *Juniperus* L. Cinsi ve *Juniperus excelsa* Türü Hakkında Sistemik Bilgiler

Ardıç, açık tohumlu bitkilerin önemli bir grubu olan koniferler içerisinde yer alan servigiller (Cupressaceae) familyasından olup, *Juniperus* cinsine ait iğne veya pul yapraklı ağaç ve çalı formundaki taksonların ortak adıdır. Dünya üzerinde *J. procera* Hochst. ex Endl. (Afrika ardıcı) türünün ekvatorun güneyindeki bazı popülasyonları (Tanzanya, Zimbabve, Mozambik) hariç tutulursa, *Juniperus* tamamen kuzey yarımkürede yayılış gösteren kozmopolit bir cinstir. Dünya genelinde Farjon ve Filer (2013)’e göre 53, Adams vd. (2007)’ye göre 67 ardıç türü bulunmaktadır. Bunun yanı sıra *Juniperus* cinsi üzerine yazılmış R.P. Adams’ın “Junipers of the World: The Genus *Juniperus*” başlıklı kitabının 2014 baskısında da dünya genelinde ardıçların 75’i tür kategorisinde olmak üzere 117 tür ve tür-altı taksonu olduğu belirtilmektedir.

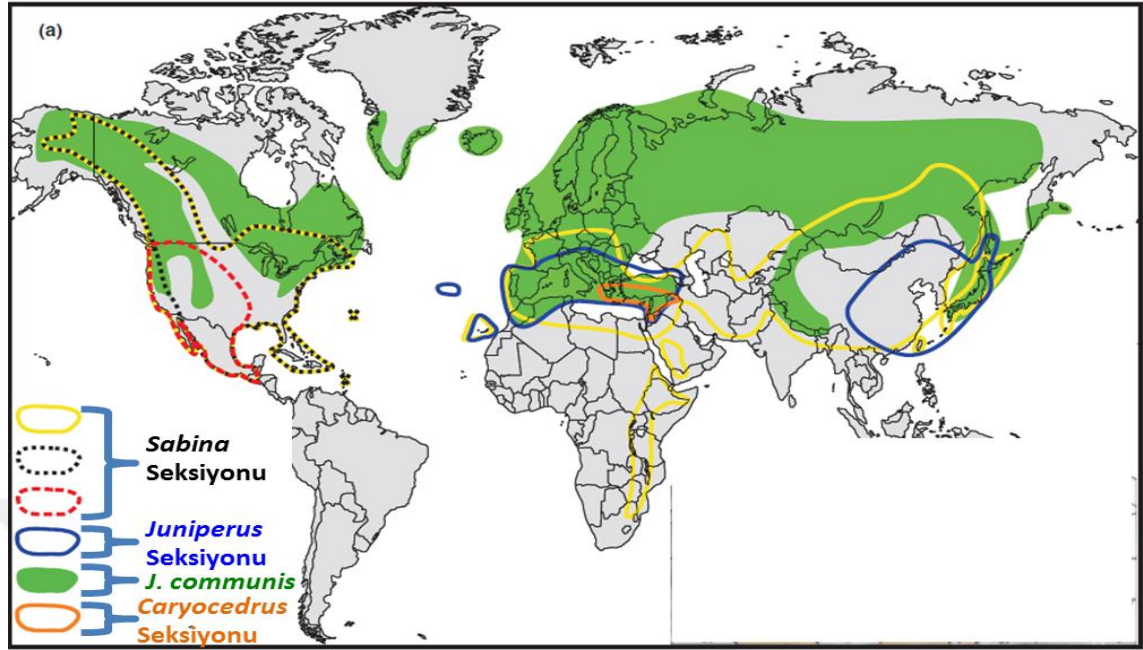
Juniperus türleri iki veya tek evcikli herdem yeşil çalı ve ağaçlardır. Ağaç kabukları incedir. Genç yapraklar ibre şeklinde ve sert; erişkin yapraklar ise aynı şekilde, tabanda üçlü demetler halinde veya pul benzeri, dekuzat ve tabanda serbesttir. Erkek kozalaklar çok sayıda sporofil içerir. Dişi kozalaklar ise tabanda küçük ve kalıcı braktellerle çevrilidir. Dişi kozalaklar 3-8 puldan oluşmuş, pullar sert ve etlidir; 1-3 yılda olgunlaşır. Tohumlar ise kanatsızdır (Coode ve Cullen 1982). Olgun kozalakların her bir pulunda 1-3 tohum bulunur. Tohumlardaki çenek sayısı 2-6 arasındadır. Polenlerin dağılması rüzgarla, tohumların dağılması ise kuşlar aracılığıyla gerçekleşir (Adams 2014).

Ardıçlarda diploit kromozom sayısı 22 olup *J. chinensis* ve *J. thurifera* gibi türlerde tetraploidi de görülür (Adams 2014). Ayrıca, Kuzey Amerika’da bulunan bazı türler arasında (*J. horizontalis*, *J. virginiana*, *J. grandis*, *J. occidentalis* ve *J. osteosperma*) melezleşme olduğunu bildiren ve esansiyel yağların (terpenoid bileşikler)

analizlerine dayanan bazı araştırmalar da bulunmaktadır (Palma-Otal vd. 1983; Adams 2013a,b). Ayrıca; esansiyel yağ, ITS ve cpDNA verilerine dayanılarak *J. maritima* ile *J. scopulorum* türleri arasında melezleşme ve gen katımının (introgresyon) varlığı da gösterilmiştir (Adams 2015a,b).

Juniperus cinsi üç seksiyondan meydana gelmiştir. Bunlardan ilki *Caryocedrus* seksiyonu olup yalnızca Doğu Akdeniz Havzası'nda yayılış gösteren *J. drupacea* Labill. (Andız) türünü içerir. Andızlarda yaprakta mavi renkli iki stoma bandı vardır ve yapraklar lanseolat-akuminat, tam kenarlıdır ve pul şeklinde yaprak bulunmaz. Kozalaklarında üçer adet tohum bulunur ve tohumlar bir çekirdeğe benzer şekilde birleşmiştir (Seçmen vd. 2004). Kozalaklar yaprak koltuklarından çıkar, olgunlaştıklarında 18-25 mm çapında, odunsu ve mor renkte olur. İkinci seksiyon, *Juniperus* seksiyonudur ve 14 tür içerir. Bunlardan *J. communis*'in Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da pek çok alt türü yayılış gösterir ki bu durum onu Dünya'da en yaygın bulunan ardıç türü yapmaktadır. *J. jackii* yalnızca Kuzey Amerika'da, diğer 12 tür ise Doğu Yarımküre'de yayılış göstermektedir. Bu seksiyon türlerinin hepsi erişkin yapraklarının iğnemsisi, tabanda üçlü demetler halinde olması, kozalaklarının üçer adet sabit sayıda ve ayrık tohum içermeleriyle karakterizedir. *Caryocedrus* seksiyonunda olduğu gibi kozalaklar yaprak koltuklarından çıkar. Olgun kozalaklar 8-18 mm çapında reçineli veya odunsudur. İkinci seksiyon *Juniperus* seksiyonu da kendi altında iki alt gruba ayrılır. Bunlardan birincisi *J. communis* ve onunla ilişkili altı türü içermektedir. Yaprakta mavi renkli tek stoma bandı vardır, olgun kozalak renkleri mavi ve mavi-siyahtır. Diğer grup ise *J. oxycedrus* ve onunla ilişkili altı türü kapsamaktadır. Yaprakta mavi renkli iki stoma bandı vardır ve olgun kozalakların renkleri kırmızı, kahverengi ve mor renklerinin arasındaki değişik tonlardadır. Üçüncü seksiyon ise, *Sabina* olup 60 türü vardır. Bu seksiyon, dünyada bulunan en yaygın ardıç türü olan *J. communis* türünden sonra pek çok alt türü ile Avrasya geneline yayılmış olan dünya genelinde en geniş yayılış gösteren ikinci ardıç türü *J. sabina* türünü de içermektedir. Karakteristik özellikleri; ergin yaprakların kiremitsi veya dekurrent olması, tohum sayısının değişken olması (1-13) ve yaprakların tabanda demet oluşturmaması olup diğer seksiyonlardan ayırt edilir. Kozalaklar da diğer iki seksiyondan farklı olarak yaprak uçlarından çıkar. Ayrıca bu seksiyon serrat yapraklılar ve tam kenarlı yapraklılar olarak iki gruba ayrılır (Adams 2014). Serrat yapraklılar (22 tür) Batı Yarımküre'de yayılış gösterirken tam kenarlı yapraklılar ise her iki yarım kürede de bulunur. Tam kenarlı yapraklılar ise kendi aralarında kozalakları tek tohumlu olanlar ve çok tohumlu olanlar olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır. Tek tohumlular alt grubu (16 tür, 3 varyete) yalnızca Doğu Yarımküre'de görülürken, çok tohumlular (23 tür ve 16 varyete) alt grubuna ise her iki yarımkürede de rastlanır. Diğer seksiyonlardaki türler yalnızca dioik (iki evcikli) iken *Sabina* seksiyonunda hem dioik hem de monoik (tek evcikli) türlere rastlanır. Tüm bunların dışında, jeolojik devirlerde yaşamış *J. pauli* (Kvacek 2002), *J. creedensis* (Axelrod 1987) ve *J. desatoyana* (Axelrod 1991) gibi fosil ardıç türleri de bulunmaktadır (Mao vd. 2010).

Morfolojik karakterlere göre yapılan taksonominin yanında *Juniperus* cinsi türleri üzerinde moleküler sistematik yaklaşımlara göre de çalışılmış ve tüm seksiyonların filogenetik açıdan monofiletik bir grup oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Bu şekilde ardıçların morfolojik taksonomileri moleküler verilerle desteklenmiştir (Little 2006; Mao vd. 2010; Adams 2014). Ardıç türlerinin dünya üzerinde yayılış alanları Şekil 1.1'deki haritada seksiyon bazında gösterilmiştir.



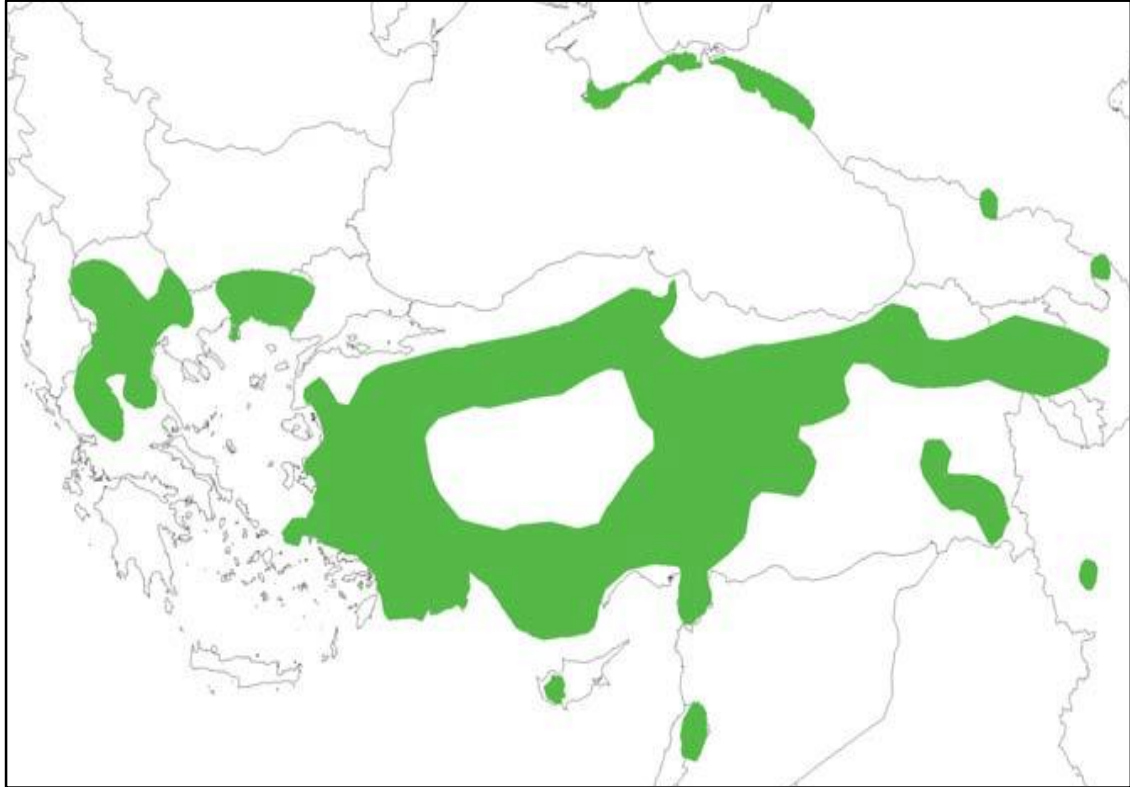
Şekil 1.1. *Juniperus* cinsi seksiyonlarının dünya üzerindeki yayılışı (Mao vd. 2010)

Türkiye’de yayılış gösteren ardıç tür ve alttürleri Coode ve Cullen (1982) ve Güner vd. (2012)’ye göre; andız (*J. drupacea*), adi/cüce ardıç (*J. communis* L. subsp. *hemisphaerica* (J. & C. Presl) Nyman ve subsp. *nana* (Willd.) Syme in Sowerby), katran/diken ardıcı (*J. oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* Clinton-Baker ve subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball., *J. oblanga* M. Bieb., sabin/kara ardıcı (*J. sabina* L.), Finike/servi ardıcı (*J. phoenicea* L.), kokulu/yağ ardıç (*J. foetidissima* Willd.), boylu/boz ardıç (*J. excelsa* subsp. *excelsa*) ve daltaban ardıcı (*J. excelsa* subsp. *polycarpos* K. Koch) şeklindedir. Morfolojik veriler kullanılarak yapılan tür ayırımına ek olarak, daha sonraki yıllarda ise moleküler veriler ışığında türlerde sistematik revizyonlar yapılmıştır. Buna göre, *J. oblanga*, *J. communis* içerisine alınmış (Adams ve Schwarzbach 2012a); *J. oxycedrus* subsp. *macrocarpa*, *J. macrocarpa* olarak ayrı bir tür kategorisine sokulmuş (Adams 2000a); *J. oxycedrus* subsp. *oxycedrus* alttürünün adı *J. deltoides* R.P. Adams olarak revize edilmiştir (Adams vd. 2005). Bunun yanında *J. excelsa*’nın iki alt türü olan *J. excelsa* subsp. *polycarpos*, *J. polycarpos* ve *J. excelsa* subsp. *excelsa* da *J. excelsa* olarak ayrı birer tür olarak birbirinden ayrılmıştır (Adams 2001).

Türkiye’de yayılış gösteren *Sabina* seksiyonundan dört ardıç türünü birbirinden ayırt etmek için onların kendilerine özgü, bazı pratik morfolojik özellikleri kullanılmaktadır. Bunlardan ilki Finike/servi ardıcıdır (*J. phoenicea* L.). Bu türün olgun kozalakları koyu kırmızı renktedir ve yaprakların kenarındaki yeşil olmayan zarımsı yapı dar, ince ve dişlidir. Diğer türlerin yaprak kenarlarında böyle bir zarımsı yapı yoktur ve kozalak renkleri koyu mor-siyah renktedir. Sabin/kara ardıcının (*J. sabina* L.) kozalakları 4-6 mm çapında ve geriye doğru kıvrık saplıdır. Diğer türlerde ise kozalak sapı düzdür. Kokulu/yağ ardıcının (*J. foetidissima*) genç sürgünleri dört köşeli ve en az 1 mm

kalınlıkta, kozalaklar 1-3 tohum içerir. Son olarak, *J. excelsa* 20 m'ye kadar boyolanabilen tek veya iki evcikli ağaçlardır. Genç sürgünleri düz-yuvarlaktır, kalınlıkları en çok 0.8 mm'dir (Seçmen vd. 2004). Yapraklar üçgensel, kiremitsi dizilişli 1-1.5 mm boyutlarında ve sırtlarında oval-linear salgı cebi vardır. Kozalakları küresel şekilde, 7-10 mm boyutlarında ve 4-9 tohum taşır (Coode ve Cullen 1982).

J. excelsa türü Türkiye'de geniş yayılış gösterir ve Türkiye merkezli olmak üzere yayılış alanları Şekil 1.2'deki haritada gösterildiği gibidir (Douaihy vd. 2011). Haritada görüldüğü üzere yayılış alanının büyük çoğunluğu Türkiye toprakları üzerindedir. *J. excelsa*'nın Türkiye'deki yayılış alanları Bilecik, Sinop, Tokat, Gümüşhane, Balıkesir, Eskişehir, Kayseri, Van, Muğla, Burdur, Antalya, Adana, Kahramanmaraş ve Hakkari'dir (Coode ve Cullen 1982). Bunun yanında, *J. excelsa*'nın yayılış alanları yukarıda sayılan yörelerden ibaret değildir. Bu sayılan alanlardan başka popülasyon oluşturacak veya oluşturmayacak şekilde (seyrek ve tek bireyler halinde) *J. excelsa*, Türkiye'nin büyük bir bölümünde görülür. Türkiye üzerindeki yayılış alanları göz önüne alındığında *J. excelsa*'nın İran-Turan ve Akdeniz fitocoğrafik bölgelerinde yaygın şekilde görülen bir ağaç türü olduğu görülmektedir (Coode ve Cullen 1982). Bunun yanında Arnavutluk, Makedonya, Bulgaristan, Yunanistan, Güney Kıbrıs, Kırım-Rusya, Ermenistan, Azerbaycan, İran, Lübnan ve Suriye'de de *J. excelsa* popülasyonları bulunmaktadır (Douaihy vd. 2011; Adams 2014). *J. excelsa* türü IUCN'nin tehlike altındaki türlerin sınıflandırıldığı kategorilerden "LC (Little Concern, Asgari Endişe)" kategorisi içerisinde yer almaktadır (Farjon 2013).



Şekil 1.2. *J. excelsa* türünün yayılış alanları (yeşil renkli alanlar, Douaihy vd. 2011)

1.2. *Juniperus* Türlerinin Ekolojik Özellikleri ile Ekonomik Önemleri

Ardıç türleri, nerdeyse tüm Kuzey Yarımküre üzerinde nemli, yarı-kurak ve kurak habitatlardaki çok çeşitli ekolojik koşullara uyum sağlayarak evrimleşmiş ve çeşitlenmiştir. Fosil kayıtlarına göre, *Juniperus* cinsi türlerinin yarı-kurak Madrean (Amerika) ve Tetyan (Avrasya) florasının bir parçası olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bayesian yaklaşımını temel alan moleküler saat analizi yöntemi kullanılarak *Juniperus* cinsinin dış gruplardan (*Cupressus* sensu lato) yaklaşık olarak (75.9–) 71.9–49.7 (–49.7) milyon yıl önce; yani Paleosen/Eosen olarak adlandırılan jeolojik devirlerdeki bir zamanda ayrıldığı hesaplanmıştır (Mao vd. 2010). Bunun yanı sıra, fosil kayıtlarına göre ilk *Sabina* seksiyonu üyeleri Eosen/Oligosen sınırında, yaklaşık 34 milyon yıl önce Avrupa’da ortaya çıkmaya başlamıştır. *Juniperus* ile *Caryocedrus* seksiyonlarının ortaya çıkışı ise daha yeni olup Miyosen ortalarından itibaren görülmeye başladıkları Avrupa’daki fosil kayıtlarından anlaşılmaktadır (Mao vd. 2010).

Ardıç türlerinin ortaya çıktığı jeolojik devirlerden itibaren günümüze dek dünya üzerinde yayıldığı alanlara bakıldığında, birbirinden çok farklı ekolojik koşullara uyum sağlama yeteneklerinin yüksek olduğu görülmektedir. Besin açısından fakir topraklarda, taşlık, kayalık, kireçli veya kumlu topraklar üzerinde yetişebilirler. Yüksek rakımlı alanlarda yayılış gösteren türleri olduğu gibi, büyük kozalaklı katran ardıcı (*J. macrocarpa*) gibi deniz kıyılarındaki kumul alanlarda yetişebilen türleri de vardır. Ardıçlar, diğer bitki cinslerine ait türlerle karşılaştırıldığında uç koşullara oldukça dayanıklıdır. Öyle ki, şiddetli kuraklıklarda ardıç türleri ekosistemde istilacı role bürünebilmektedir. Ancak büyüme-gelişme hızları da bir o kadar düşüktür (Willson vd. 2008).

Ardıç türlerinin sahip olduğu bazı anatomik-fizyolojik özelliklere bakılırsa; kuraklıktan kaynaklanan su azlığı ve soğuktan kaynaklanan toprak suyundan yararlanamama streslerine karşı dirençli oldukları görülmektedir. Bu durum da uyum gücü bakımından ardıçları üstün kılmaktadır. Bu anatomik özelliklerden bazıları; iletim demetlerindeki kılcallığın fazlalığı, yaprak alanının azlığı, özsu taşıyan odun alanının yaprak alanına oranının fazlalığı, iletim demetlerindeki sıvı iletim hızının daha düşük olması ve odun yoğunluğunun fazla olmasıdır. Bu özellikler ksilemde kavitasyon (buhar nedeniyle sıvının ani faz değişimi) ve içe çökme olaylarını önemli ölçüde engeller (Willson vd. 2008). Ayrıca, ardıç türlerinde gölgede veya diğer türlerle rekabetten kaynaklanan yeterince ışık alamama, durumlarında bile hayatta kalarak gelişimlerini sürdürebilme özelliği vardır. Bunun yanında, ardıçların otlatma baskısı gibi insan faaliyetleri sonucu büyüme hızları azalsa da hayatta kalabilmekte ve böyle streslere karşı koyabilmektedir (Milios vd. 2009).

Ardıçların su kıtlığına karşı bazı anatomik-fizyolojik üstünlükleri varken üreme konusunda ise önemli kısıtlılıkları vardır. Ardıçların; dioik ve kendine kısır olmaları, rüzgarla tozlaşma gerçekleştiğinden salınan polenlerin megagametofiti dölleme başarısının düşük olması, embriyolardaki gelişim anomalileri, böcek, akar ve hastalık etkenleri üreme kapasitelerini düşüren başlıca nedenlerdir (Gruwez vd. 2011; Mezquida vd. 2016). Bu sayılan nedenlerden ötürü ardıç tohumlarının çoğu boş; diğer bir deyişle embriyosuz olmakta ve bu haliyle tohumlar yeni fidan geliştirme yeteneğine sahip

olamamaktadır. Ayrıca, üreme mevsiminde gerçekleşen yağış ve donlar da dölleme başarısını düşüren diğer etkenlerdir. Tüm bunların dışında, ardıç türlerinin sıklıkla yetiştiği kurak, kayalık, kumlu vb. alanlarda bitki büyümesi için gerekli maddelerin az olmasının da canlı tohum yüzdesini düşüren etmenler arasında olduğu düşünülmektedir (Gruwez vd. 2011). Düşük canlı tohum yüzdesi, ardıçlar için önemli bir dezavantaj olup popülasyonların yenilenmesini büyük ölçüde güçleştiren bir durum olarak ortaya çıkmaktadır.

Ardıç ağaçlarında ilkbahar mevsimiyle birlikte polen ve megagametofit (dişi üreme organı) oluşumu gerçekleşir. Tozlaşma rüzgârla gerçekleşir. Kendileme görülmediğinden tozlaşmanın farklı bireyler arasında olması gerekmektedir. Tozlaşmanın ardından dölleme ve kozalak-tohum gelişimleri/olgunlaşmaları 2-3 yıllık bir zaman alır. Tohumların çimlenmesi genellikle ilkbahar, bazen de sonbaharda gerçekleşir. Ayrıca taze sürgünler don olaylarına karşı duyarlıdır. Doğada ardıç tohumlarının yayılması ve tohumların çimlenebilmesi için ardıçların etli kozalaklarını yiyerek beslenen başta ardıç kuşlarına ve diğer bazı hayvanlara ihtiyaç vardır. Kuşların sindiriminden geçmeyen tohumlarda dormansiye neden olan, kozalak etinde bulunan reçine ve blastokolin gibi maddeler uzaklaştırılmamış olduğundan çimlenme mümkün olmaz. Ardıç tohumları çürük ve böcek yeniği gibi nedenlerle %85'lere varan oranda boştur. Bu nedenle tohumla üretilmeleri oldukça güçtür (Demirci ve Avşar 2000; Ayan vd. 2004).

Yukarıda sayılan nedenlerden ötürü ardıç popülasyonlarının tohumla üretilmesi güç olsa da; çelik ve aşıyla üretilmeleri daha kolaydır. Ancak ardıç tohumları üzerinde yapılan uzun çalışmalar sonucu ardıç tohumlarının çimlendirilme başarısı yolunda önemli yol kat edilmiş ve tohumlardan seri halinde fidanların elde edilmesi mümkün olmuştur. Tohum ekimi, çelikle üretim ve ardıç kuşu kullanılarak yapılan doğal üretim; ayrıca zararlılarla (böcek, koyun, keçi, tavşan vb.) yapılan mücadele yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde ardıç ormanlarındaki bozulmanın ve daralmaların önlenmesi artık daha kolay hale gelmiştir (Demirci ve Avşar 2000; OGM 2014).

Ardıçlar ekosistem içerisinde de önemli işlevleri bulunan bitkilerdir. Ekstrem ekolojik koşullara dayanıklı olduklarından ardıçların ormansızlaşma sürecinde ekosistemi en son terkeden ağaçlar olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca, yaygın kök sistemleri sayesinde toprağı erozyona karşı korumak için idealdirler. Bu nedenle erozyon denetimi amaçlı ağaçlandırma çalışmalarında tercih edilirler. Bunun yanında rüzgar, kar ve ses kontrolü amacıyla perde görevi görmesi için de ardıç dikimleri söz konusudur (OGM 2014).

J. excelsa türü de yukarıda ardıç ağaçları ile ilgili ele alınmış olan ekolojik özelliklerin hepsini taşır. *J. excelsa*'nın bazı gelişimsel özellikleri ise şöyledir: *J. excelsa* 35 m'ye kadar boylanabilen, gövde genişliği 1 metreyi aşabilen ömrünün ilk 10-15 yılına kadar iğne yapraklar geliştiren; ancak daha sonra sürgüne yapışık mavi-yeşil pul yapraklar oluşturan bir türdür ve bir evciklidir. Erkek kozalaklar beyaz renkte ve yaz sonunda belirlemeye başlar. Daha sonra kirli sarı renkte olur ve baharda kızarır. Tozlaşma genellikle mart ayında gerçekleşir. Dişi kozalakların olgunlaşması iki yıl alır, mavi dumanlı siyah renklidir. *J. excelsa*, 20-25 yaşından itibaren tohum tutmaya başlar. Tohum verimi %2-7 arasında değişir. Tohumların olgunlaşması için ise tozlaşmanın ardından en az 18 ay gereklidir. Bir kg tohum ortalama 46,000 adet olup, en ideal hasat zamanı Kasım

ile Ocak ayları arasındır (OGM 2014). Türkiye'nin neredeyse tamamında deniz ikliminden kaçınarak düşük yükseltilerden alpin bölgelere (300-3000 m) kadar yayılış gösterir. Ancak, Kırım gibi yayılış alanının kuzey sınırlarında 30-40 metrelerdeki yükseltilerde dahi görülebilmekte ve popülasyon oluşturabilmektedir (Douaihy vd. 2011). Orman oluşturduğu alanların tipik özelliği; karasal iklim özellikleri göstermesi, yıllık ortalama yağış miktarının 400-600 mm arasında olması, ekstrem toprak (sığ, derinliği az, taşlık-kayalık, alkali ve besin değeri düşük vb.) ve iklim özelliklerine (güneşli bakılar, kapalı havzalar, şiddetli soğuğa maruz alanlar ve kuru yetişme ortamları) sahip olmasıdır (OGM 2014).

Ardıç odunu, bazı üstün özellikleri nedeniyle hem halk arasında hem de sanayide geniş kullanım alanı bulmaktadır. Ardıç odunlarının yapısı sade ve homojendir. Bazılarının odununda belirgin bir koku bulunmaktadır. Dirençleri orta derecedir ve şok etkilerine karşı yüksek direnç gösterir. Özellikle öz odunları mantar ve böceklere karşı büyük bir dayanıklılık gösterir ve kolay işlenir. Bu üstünlükleri nedeniyle; kurşun kalem, çekmece, sandık ve dolap yapımında, oymacılıkta, kaplamacılıkta, çivi ve vida tutma direnci iyi olduğundan mobilya ve süs eşyası yapımında, evlerin dekorasyonunda, bahçe çiti yapımında, bazı yörelerde toprak damlı evlerin dam ve taban döşemelerinde tercihen kullanılır (OGM 2014). Etili kozalakları yemeklerde tat verici olarak kullanılır. Kozalaklarının ezilmesi ve fermente edilmesiyle içki yapımında, bunun yanında andızın büyük kozalaklarından pekmez yapımında yararlanılmaktadır. Ayrıca, ardıç ağacı fosillerinden oluşan oltu taşı süs eşyası yapımında kullanılır (OGM 2014). Bunların yanı sıra, *J. chinensis*, *J. horizontalis*, *J. virginiana* gibi bazı türler peyzaj amaçlı kullanılmaktadır (Mamikoğlu 2010).

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Ardıç Türleri Üzerine Moleküler Yöntemlerle Yapılmış Biyocoğrafik, Filogenetik ve Popülasyon Genetiği Alanlarındaki Çalışmalar

Ardıç türleri arasında filogenetik ilişkilerin belirlenmesi için esansiyel yağlar, RAPD, ITS, cpDNA belirteçleri kullanılmıştır. Bu çalışmalar genetik uzaklıklara dayalı filogenetik analizlerin yanı sıra sistematik revizyonları da kapsamaktadır. İlk çalışmalar RAPD belirteçlerine dayalı çalışmalar olmuştur (Adams ve Demeke 1993; Adams 1999; Adams 2000a,b,c,d; Adams vd. 2002). Bu çalışmalar ile ardıç seksiyonları ve türlerinin güncel sistematigi oluşturulmuştur. Bunun dışında, Bayesian, maksimum parsimoni, maksimum olasılık ve moleküler saat yöntemleri ile yapılmış *Juniperus* genusu ve dış grup türlerinin 60 milyon yıl öncesine giden filogenisinde seksiyonların ve bu seksiyonları oluşturan türlerin monofiletik olduğu, sırasıyla *Sabina* ve sonraki dönemde de *Caryocedrus* ve *Juniperus* seksiyonlarının ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlar fosil kayıtlarla da uyumludur (Mao vd. 2010). Bu çalışmanın ardından Adams ve Schwarzbach tarafından, nrDNA (ITS) ve cpDNA analizleri ile, Bayesian yaklaşımlarına göre, ardıç seksiyonlarının filogenetik ve moleküler sistematik analizlerini içeren bir dizi çalışma yapılmıştır (Adams ve Schwarzbach 2012a,b; 2013a,b). Bu çalışmalar, Mao vd. (2010)'un sonuçlarını destekleyici ve tamamlayıcı nitelikte çalışmalardır. Ardıç türleri üzerine yapılan moleküler çalışmalar izoenzim-alloenzim, RAPD, ISSR, AFLP, SSR, cpDNA belirteçlerine dayanmaktadır. Bu çalışmalar 1990'lı yıllardan itibaren başlamış olup son yıllarda da sayıca giderek artmaktadır. Aşağıdaki paragraflarda görüldüğü üzere bu çalışmaların bir kısmı özetlenmiştir.

Moleküler belirteçlere dayalı çalışmalarda pek çok ardıç türü ele alınsa da en çok çalışılan *J. communis* türü olmuştur. Rusya ve Alaska'daki *J. communis* varyetelerini konu alan bir allozim çalışmasında, çalışılan popülasyonların %60-80 arasında değişen yüksek polimorfizm oranlarına sahip olduğu, popülasyonların soy içi üreme katsayısı ve popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın da genel olarak düşük olduğu (Fis=0.03; Fst=0.04) bulunmuştur (Khantemirova ve Semerikov 2010). Aynı çalışma grubunun yaptığı başka bir izoenzim çalışması da popülasyonlardaki polimorfizm oranlarının %60-90 arasında olması, 0.01 Fis değeri ile benzer sonuçlar vermiştir; ancak Fst değeri 0.12 olup önceki çalışmaya göre daha yüksektir (Hantemirova vd. 2012). Michalczyk vd. (2010)'un AFLP belirteçleri ile yaptığı çalışmada, AMOVA sonucuna göre Avrupa'daki 23 *J. communis* popülasyonu arasında yüksek bir genetik farklılaşma bulunmasına karşın (popülasyonlar ve bölgeler arasındaki varyans toplamda %85), bu farklılaşmanın önemli ölçüde bir filogenetik sinyal veya popülasyonların genetik yapısında anlamlı bir coğrafik örüntü oluşturmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak, AFLP belirteçleri kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise aynı türün İngiltere popülasyonları için %41-63 arasında değişen polimorfizm bulunmuş ve PCoA analizi ile de popülasyonlarda bölgesel farklılaşmalar olduğu tespit edilmiştir (Merwe vd. 2000). Adam vd. (2003)'ün *J. communis* üzerine RAPD belirteçlerini kullanarak yaptığı biyocoğrafik çalışma da bu türün bireylerinin buzul çağı sonrası yeniden güney bölgelerden kuzey bölgelere doğru yayılarak popülasyon oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Son olarak, dünya genelinden temin edilmiş *J. communis* alt türlerine ait örnekler üzerinde RAPD belirteçleriyle DNA parmak izi çalışması yapılmış ve bu alt türler arasındaki genetik farklılaşmalar ve tarihsel biyocoğrafik örüntüler değerlendirilmiştir (Adams ve Pandey 2003; Adams vd. 2003).

Moleküler çalışmalar kapsamında başka ardıc türleri üzerine de bazı çalışmalar vardır. Azor Adaları'nda yetişen endemik bir tür olan *J. brevifolia* popülasyonlarında, RAPD ve ISSR belirteçleri kullanılarak, genetik çeşitlilik ve farklılaşmanın araştırıldığı bir çalışmada genetik çeşitliliğin çoğunlukla popülasyon içinden kaynaklandığı (%55-59); ancak popülasyonlar arasındaki Pair-wise Fst değerlerinin 0.3 ile 0.6 arasında değiştiği hesaplanmış ve bu da yüksek sayılabilecek genetik farklılaşmaya işaret etmiştir (Silva vd. 2011). *J. phoenicea* türü üzerinde ISSR belirteçleriyle yapılan çalışmada dört Batı Akdeniz ve bir de Kıbrıs olmak üzere beş popülasyon analiz edilmiş, AMOVA bulgularına göre popülasyon içinden kaynaklanan varyans %76.5 ve bununla paralel olarak Gst değeri 0.12, Hs değeri 0.13 ve Ht değeri de 0.15 olarak bulunmuştur (Meloni vd. 2006). Benzer şekilde, başka bir çalışmada RAPD belirteçleriyle elde edilen sonuçlara dayalı olarak *J. phoenicea* türünün Batı Akdeniz ve Kuzey Afrika popülasyonları çalışılmış ve Gst değeri 0.06, Hs değeri 0.17, Ht değeri 0.18 ve AMOVA bulgularından elde edilen ortalama genetik farklılaşma değeri de 0.11 olarak bulunmuştur (Dzialuk vd. 2011). *J. phoenicea* türü içerisinde yer alan iki alt türün genetik ilişkisinin incelendiği bir izoenzim çalışmasında da iki alt tür arasındaki ortalama genetik uzaklık 0.37 olarak hesaplanmış, popülasyonlarda ortalama %72 polimorfizm ve düşük fiksasyon indeks değerleri olduğu (-0.08-0.08) bulunmuştur. Genetik uzaklık değerlerine göre oluşturulan dendrogramda da alt türler arasında önemli bir bölgesel ve genetik ayrışma olduğu sonucu görülmüştür. (Boratynsky vd. 2009). Etiyopya'da bulunan çeşitli *J. procera* türü popülasyonları da AFLP belirteçleri ile moleküler analize tabi tutulmuş ve AMOVA bulguları %94 oranında popülasyon içi varyansa işaret etmesine, diğer bir deyişle popülasyonlar arasında yüksek gen akışı olmasına karşın, popülasyonlar arasında önemli genetik farklılaşmalar olduğu ve bu farklılaşmaların coğrafik uzaklıklarla istatistiksel olarak önemli bir ilişkisinin olduğu ($R^2=0.33$; $P=0.03$) tespit edilmiştir (Sertse vd. 2011). Kore'de yayılış gösteren endemik bir tür olan *J. coreana* ve bu türün atası olduğu düşünülen *J. rigida* türlerindeki genetik çeşitlilik enzim elektroforezi ve polimorfizm yüzdesine göre karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Buna göre, *J. coreana* türündeki genetik çeşitliliğin, lokuslardaki polimorfizm yüzdesinin ve gözlenen heterozigotluğun diğer türe göre daha düşük (0.199'a karşılık 0.224, %55'e karşılık %73 ve 0.09'a karşılık 0.14); soy içi üreme katsayısının (Fis) ise daha fazla olduğu (0.24'e karşılık 0.48) bulunmuştur (Huh ve Huh 2000).

Son yıllarda *Juniperus* cinsinin türleri üzerine yapılmış pek çok cpDNA belirteçlerinin kullanıldığı çalışmalar da vardır. Tibet'te bulunan endemik bir tür olan *J. przewalskii* türü popülasyonları üzerine yapılmış cpDNA belirteçlerine dayalı bir çalışmada yapılan AMOVA analizi ile iki bölge popülasyonları ve aynı bölge içindeki popülasyonlar karşılaştırılmış ve varyasyonun büyük ölçüde bölgeler ve popülasyonlar arasından kaynaklandığı gösterilmiş; Gst ve Nst gibi değerler de buna paralel olarak yüksek bulunmuştur (0.77 ve 0.83) ve Tibet'teki bu iki bölge arasında önemli bir genetik izolasyon olduğu, gen akışının kısıtlandığı AMOVA bulguları ile (popülasyon içi varyans %17.5, popülasyonlar ve gruplar arası toplam varyans %82.5) gösterilmiştir (Zhang vd. 2005). Çin'de yayılış gösteren *J. sabina* popülasyonları üzerine yapılan cpDNA'ya dayalı benzer bir çalışmada ise Gst (0.93), Nst (0.98) ve AMOVA analizleri (popülasyon içi varyans %4.35, popülasyonlar ve bölgeler arasındaki toplam varyans %95.65) bölgeler ve popülasyonlar arasında benzer sonuçlara işaret etmiştir. Dolayısıyla da bölgeler arası gen akışına, bunların arasında yer alan çölün önemli bir coğrafik engel teşkil ettiği sonucuna varılmıştır (Guo vd. 2010). İspanya'daki *J. macrocarpa* türüne ait, Cebelitarık

Boğazı'nın her iki yanındaki üç bölgede yer alan popülasyonlar, AFLP ve plastit belirteçleri ile çalışılmış, AFLP bulgularına göre F_{st} 0.14 bulunmuştur. PCoA ve AMOVA (popülasyon içi varyans %71) analizlerine göre popülasyonlar arasında coğrafi izolasyon eğilimi az iken, plastit belirteçleri için yapılmış AMOVA analiz bulgularına (popülasyon için varyans %47) ve genetik farklılaşma katsayı değerlerine ($N_{st}/G_{st} = 0.34/0.32$) göre ise bu eğilimin çok daha belirgin olduğu gözlenmiştir. En çok özgül haplotip bulunduran Atlantik'teki bölgenin ilgili tür için genetik rezerv teşkil ettiği, türün Atlantik kıyılarından yayılarak Akdeniz kıyısındaki diğer iki bölgeyi kolonize etmiş olabileceği sonuçlarına ulaşılmıştır (Juan vd. 2012). Kanarya Adaları'nda bulunan endemik bir ardıç türü olan *J. cedrus* üzerine yapılan başka bir çalışmada, AFLP belirteçleri bulgularına göre popülasyonlar arasında özgül biyocoğrafik yapılar bulunamamıştır. AFLP bulguları ayrıca, genetik çeşitliliğin büyük ölçüde popülasyon içinden kaynaklandığına ($H_t=0.19$ ve $H_s=0.15$), G_{st}/F_{st} değerlerinin orta düzeyde olduğuna (0.24/0.23) ve coğrafik uzaklığın istatistiksel açıdan anlamlı bir genetik izolasyona neden olmadığına ($R^2=0.17$; $P=0.37$) işaret edilmiştir. Bunun yanında, plastit belirteçleri ile elde edilen bulgulara göre *J. cedrus* türü ile çalışılan diğer ardıç türlerinin (*J. oxycedrus*, *J. macrocarpa* ve *J. maderensis*) birbirlerinden farklı ve özgül haplotip örüntüleri sergiledikleri gösterilmiştir. Ayrıca, söz konusu bu çalışmada ada popülasyonları genetik çeşitlilik bakımından karşılaştırılarak koruma stratejilerinde önceliklerin belirlenmesi de hedeflenmiştir (Rumeu vd. 2014).

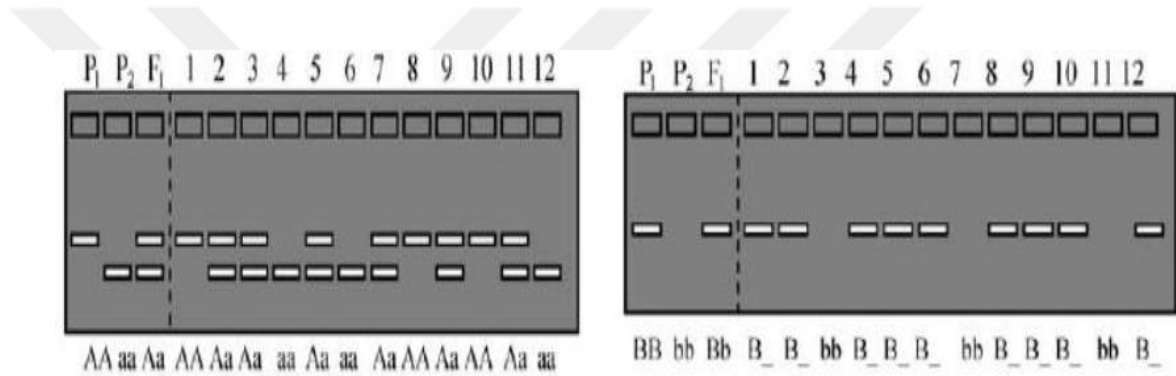
2.2. SSR (Single Sequence Repeat, Basit Dizi Tekrarları) ve Ardıç Türlerinde Yapılmış SSR Belirteçlerine Dayalı Çalışmalar

Basit dizi tekrarları (SSR, STR veya mikrosatellit) çekirdek, kloroplast ve mitokondri de dahil olmak üzere tüm ökaryotik genomlarında yaygın olarak bulunan, baz çifti (bç) bakımından tekli, ikili, üçlü, dördü, beşli veya altılı (-onlu) tekrarlardan oluşan DNA dizileridir. Mikrosatellitler örnek olarak $(AT)_n$, $(GACT)_n$, $(TTAACC)_n$ şeklinde ifade edilirler ki "n" simgesi tekrarlayan dizilerin sayısını ifade eder. Mikrosatellitlerin baz dizisi sayısının üst sınırı tartışmalı da olsa; eğer tekrar motifindeki baz sayısı 10'u aşarsa minisatellit (VNTR) olarak adlandırılır ve bunların genomdaki dağılım ve sayıları mikrosatellitlere göre daha azdır (Richard vd. 2008). Bu birkaç baz çiftinden oluşan tekrarlar (n), art arda gelmek suretiyle, sayı olarak 5 ile 50 arasında değişir (Klug ve Cummings 2003). Ancak tekrar sayısı (n) 100'ü aşan uç örnekler de vardır. Örneğin, Weller ve meslektaşları tarafından tanımlanan ilk mikrosatellit olarak literatüre giren insan miyoglobulin genindeki dört nükleotitlik bir motifin 165 kez tekrar ettiği dizi $((GGAT)_{165})$ bir SSR lokusu olup toplam uzunluğu 660 bç'ni bulmaktadır (Weller vd. 1984; Richard vd. 2008).

SSR analizi, PZR ile çoğaltılmak istenen mikrosatellit lokusunun her iki yanındaki komşu DNA bölgelerinin baz dizisinin belirlenmesi, ve bu dizi bilgilerinden yararlanılarak bu bölgeleri hedef alan ileri (forward) ve geri (reverse) primerlerin tasarlanması temeline dayanır (Şekil 2.1).

vardır. DNA polimerazlar bu hatayı iki türlü yapabilir. DNA polimerazlar zincire fazladan bir mikrosatellit ünitesi ekleyerek tekrar sayısının bir mikrosatellit ünitesi kadar artmasına veya eklemesi gereken üniteyi eklemeyerek tekrar sayısının bir ünite kadar azalmasına neden olabilir (Tautz ve Schlötterer 1994; Klintschar vd. 2004; Forster vd. 2015). Bu nedenle mikrosatellitler polimorfizm düzeyi yüksek belirteçlerdir.

Homozigotluk ve heterozigotluğun birbirinden ayırt edilebilmesinin mümkün olduğu kodominant belirteçler olmaları ve güvenilirliklerinin yüksek olması, mikrosatellitlerin genetik çeşitlilik çalışmalarında tercih edilmesine neden olmaktadır. Özellikle, heterozigotluğun homozigotluktan ayırt edilebilmesi niteliği SSR belirteçlerini diğer tüm dominant belirteçlerden üstün kılmaktadır. Çünkü dominant belirteçlerde (RAPD, ISSR, AFLP, SRAP vb.) heterozigot karakterler homozigotlardan ayırt edilemez. Bu durum Şekil 2.2’de şematik olarak açıklanmaktadır (Yorgancılar vd. 2015).



Şekil 2.2. Kodominant belirteçlerde heterozigotluğun ayırt edilebilmesi (solda) ve dominant belirteçlerde de ayırt edilememesi durumu (sağda)

SSR yönteminin yukarıda sözü edilen özelliklerinin yanında bazı kısıtlamaları da söz konusudur. Mikrosatellit bölgelerinin PZR’de çoğaltılarak analiz edilebilmesi için gerekli primerlerin tasarlanması, mikrosatellitlerin her iki yanındaki komşu dizilerin dizi bilgisini gerektirir (kesim, klonlama ve dizileme). Bu da fazla maliyet ve işgücü sorunlarını ortaya çıkarmaktadır. Bu durum, SSR analizlerinin en önemli kısıtlayıcısıdır (Staub vd. 1996;Yorgancılar vd. 2015).

Yüksek polimorfizm düzeyleri sayesinde mikrosatellitler, popülasyon genetiği, moleküler sistematik, moleküler karakterizasyon, belirteç destekli seçim, genetik haritalama, QTL (Quantitative Trait Loci) analizleri, gen kaynaklarının belirlenmesi, değerlendirilmesi ve korunması, ebeveyn belirleme ve kriminal olaylar gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Staub vd. 1996; Gülşen ve Mutlu 2005; Richard vd. 2008; Yorgancılar vd. 2015). Yukarıda belirtilen kullanım alanlarına uygun olarak mikrosatellitlerin, 1990’lı yıllardan bugüne değin etkin olarak kullanıldığı çok fazla sayıda akademik çalışma bulunmaktadır (Gupta vd. 1994; Diwan ve Cregan 1997;

Smulders vd. 2001; Collard vd. 2005; Dizkırıcı vd. 2008; Hu vd. 2011; Cosson vd. 2014; Zhou vd. 2016; Bilgen ve Kaya 2017).

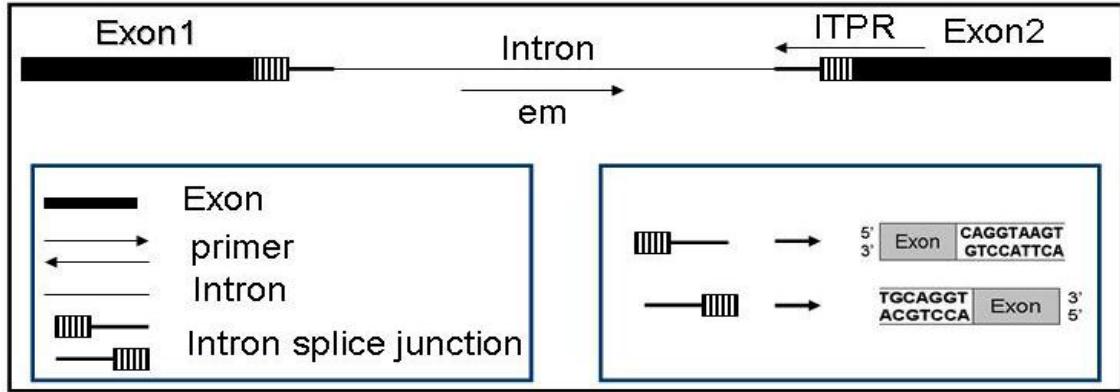
Ardıç türlerinde bulunan SSR lokuslarına özgül primerler tasarlanmış ve kullanılmıştır. 2000’li ve özellikle 2010’lu yıllarda ilki *J. communis* türü olmak üzere pek çok ardıç türüne özel mikrosatellit belirteçleri geliştirildiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Bu ardıç türleri *J. communis* (Michalczyk vd. 2006), *J. przewalskii* (Zhang vd. 2008), *J. tibetica* (Opgenoorth 2009), *J. pingii* (Li vd. 2013), *J. cedrus* (Rumeu vd. 2013), *J. thurifera* (Teixeira vd. 2014), *J. sabina* (Geng vd. 2016) olarak sıralanabilir. Yukarıda belirtilen türler için geliştirilen primerlerden özellikle *J. communis* primerleri başka ardıç türlerinde de denenmiş ve bazı türlerde başarıyla kullanılabilceği gösterilmiştir. Bu türler *J. brevifolia* (Bettencourt vd. 2015), *J. deltoides*, *J. oxycedrus*, *J. navicularis*, *J. macrocarpa*, *J. brevifolia*, *J. cedrus* (Boratynski vd. 2014) ve son olarak *J. excelsa*’dır (Douaihy vd. 2011, Yücedağ ve Gailing 2013).

2.3. ITAP (Intron Targeted Amplified Polymorphism, Intron Hedefli Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi) Belirteçleri

ITAP belirteçleri diğer moleküler belirteçlere göre oldukça yeni bir yöntemdir. Xiong ve meslektaşları tarafından (2013) yılında geliştirilmiştir. Tıpkı Li ve Quiros’un (2001) yılında *Brassica* türlerinin linkaj haritalaması için geliştirdiği SRAP (Sequence Related Amplified Polymorphism, Dizi İlişkili Çoğaltılmış DNA Polimorfizmi) yöntemi gibi gen bölgelerinin PZR ile çoğaltılarak analiz edilmesini hedefler. Ancak, SRAP yönteminde gen bölgelerinin hem ekzon hem de intron bölgeleri hedeflenirken, ITAP yönteminde farklı olarak yalnızca genlerin intron bölgeleri hedeflenir.

SRAP yönteminde ileri ve geri olmak üzere bir çift primer vardır. Bunlardan “me” serisi olarak adlandırılan ileri (forward) primerler olup 17 bç uzunluğundadır, 5’ ucundaki ilk on baz çifti (5’-TGAGTCCAAA) özgül olmayan baz dizileridir. Sonraki gelen “CCGG” çekirdek dizileri açık okuma çerçevelerindeki guanin ve sitozince zengin ekzon bölgelerini hedefler. Son gelen 3’ uçtaki üç baz ise seçici bazlardır. Geri (reverse) primerler ise “em” serisi olarak adlandırılır. 5’ uçtan itibaren gelen ilk 11 baz (5’-GACTGCGTACG) özgül olmayan dizilerdir, sonraki “AATT” dizileri adenin ve timince zengin intron bölgelerini hedefler ve 3’ uça yine üç bazlık seçici kısım bulunur. Bu şekilde geri primerler de toplam 18 bç uzunluğundadır. Bu primer çiftleri ile gen bölgelerinin hem ekzon hem de intron bölgelerinin PZR ile çoğaltılması sağlanır (Li ve Quiros 2001).

ITAP yönteminde gen bölgelerinin yalnızca intron bölgelerinin çoğaltılması hedeflenir. Bu yöntemde ileri (forward) primerler SRAP belirteçlerinin geri primerlerleri; yani “em” serisi primerlerdir. Geri primerler ise “ITPR” serisi olarak adlandırılır. Bu primerler korunmuş 3’ “intron-ekzon bağlantı dizilerini” hedefler. Bu diziler, intron-ekzon sınırı olduğundan intronların çıkartılması (splays) işleminde önemli bir işlev görür. Bu primer çiftleriyle gen bölgelerinin yalnızca intron bölgelerinin PZR ile çoğaltılması sağlanır (Şekil 2.3). ITPR primerleri 18 bç uzunluğunda olup ilk sekiz baz (5’-GACTGCGT) özgül değildir. Sonraki yedi bazlık “ACCTGCA” çekirdek dizileri 3’ “intron-exon bağlantı bölgesine” yapışmayı sağlar ve primerin 3’ ucunda ise üç bazlık seçici kısım bulunur (Xiong vd. 2013).



Şekil 2.3. ITAP yönteminin çalışma prensibinin şematik gösterimi (Xiong vd. 2013)

ITAP belirteçlerinin PZR protokolü SRAP belirteçleriyle aynıdır (Xiong vd. 2013). SRAP-PZR'lerindeki sıcaklık koşulları ilk beş döngüde denaturasyon aşaması; 94 °C'de bir dakika, yapışma aşaması; 35 °C'de bir dakika ve uzatma aşaması 72 °C'de bir dakika olarak uygulanır. Daha sonraki 35 döngü denaturasyon aşaması; 94 °C'de bir dakika, yapışma aşaması 50 °C'de bir dakika ve uzatma aşaması 72 °C'de bir dakika olacak şekilde devam ettirilir (Li ve Quiros 2001). Toplam 40 döngüden sonra ise son uzatma aşaması olarak örnekler 72 °C'de 5 dakika boyunca tutulur ve en son olarak sıcaklık 4 °C'ye düşürülerek PZR sonlandırılır. İlk beş döngüde düşük yapışma sıcaklığı uygulanmasının nedeni, primerlerin kısmen de olsa kalıp DNA'ya yapışması sağlanarak PZR'nin ilk döngülerdeki etkinliğini arttırmaktır. Sonraki 35 döngüde ise ilk beş döngüdeki PZR ürünleri çoğaltılmaya devam edilir ve elde edilen bantların tekrarlanabilirliği artırılır (Li ve Quiros 2001).

ITAP-PZR ürünleri agaroz jel elektroforezi (AJE) ile ayrıştırılır, jel gümüş nitrat veya ethidium bromür ile boyanır ve UV ışık altında, jel görüntüleme sistemleri aracılığıyla fotoğraflanarak bant örüntüleri kaydedilir. ITAP belirteçleri; RAPD, AFLP, ISSR, SRAP vb. yöntemlerde olduğu gibi dominant belirteçlerdir. Bu nedenle, ITAP lokusları, yani DNA bantları "1" ve "0" şeklinde skorlanarak istatistiksel analizler için hazır hale getirilir.

ITAP yöntemi ile hedef alınan 3' intron-ekzon bağlantı dizileri, bitkiler alemi içerisinde korunmuş bölgeler olup başka pek çok bitki türü üzerinde de bu yöntemle çalışılabilir. Ayrıca, SRAP belirteçleri gibi gen bölgelerini hedeflediği için RAPD, ISSR, AFLP yöntemlerine göre avantajlıdır. Çünkü bu yöntemlerle taranan lokuslar pek çok zaman gen bölgelerine karşılık gelmemektedir. Ayrıca, intronların, gen ifadesine katılmamaları ve genomda çok fazla yer kaplamaları nedeniyle yüksek düzeyde polimorfizm göstermeleri önemli bir üstünlüktür. Böylece, ITAP belirteçlerinde polimorfizm düzeyi de yüksek olmaktadır. Bunlarla birlikte, primer dizilerinde bulunan 3' uçtaki seçici bazlarda yapılacak küçük değişikliklerle yeni primerler kolayca tasarlanabilir (Xiong vd. 2013). Öyle ki, hem ileri (em) hem de geri (ITPR) primerlerin 3' uçlarındaki üç adet seçici baz ile 64'er adet (4x4x4) primer kombinasyonu teorik olarak üretilebilir. Tüm bunların dışında, ITAP belirteçlerinin SSR belirteçleri gibi ön dizi bilgisi gerektirmemesi ve AFLP gibi işlem basamaklarının uzun ve zorlu olmaması da önemli üstünlükleridir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Bitki Materyali

Çizelge 3.1’de örnek alınmış, popülasyonların il-ilçe olarak adları (Özel statüye sahip olan popülasyonların statüleri parantez içlerinde belirtilmiştir.), enlem-boylam olarak konumları ve yükselteleri görülmektedir. Ayrıca, popülasyonlar enlem-boylam bilgilerine göre Şekil 3.1’deki haritada işaretlenmiştir. İleri meküler analizler (AMOVA ve PCoA) için popülasyonlar üç bölge olarak gruplandırılmıştır. Aynı haritada, aynı bölgeden olan popülasyonlar çemberler içerisine alınmış ve çember içlerine bölgelerin adları yazılmıştır. *J. excelsa*’nın Türkiye üzerindeki yayılış alanları (Doğu Anadolu’nun doğusu dışında) ise saydam-sarı renkte gösterilmiştir (Şekil 3.1). Kuzey enlemlerinde yer alan popülasyonlar “Kuzey” grubu, güney enlemlerinde yer alanlar ise “Batı” ve “Doğu” grupları olarak belirlenmiştir. Belirtilen lokasyonlardan (Çizelge 3.1) Mayıs 2015-Mayıs 2016 tarihleri arasında *Juniperus excelsa* türünün 19 popülasyonunun her birinden 24’er birey, dış grup olarak kullanmak amacıyla da Gümüşhane-Torul’dan *J. polycarpus* türüne ait 10 ağaç ve Antalya-Termessos antik kenti yakınlarından ise *J. foetidissima* türüne ait altı ağaç olmak üzere toplamda 472 adet ağaç örneklenmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan *Juniperus* taksonlarına ait coğrafik bilgiler

Pop. No	Tür Adı	Örneklenen Pop. Adı	Enlem	Boylam	Yükselti (m)
1	<i>J. excelsa</i>	Adana-Pozantı	N37°31'55.4"	E34°59'31.2"	1188
2	<i>J. excelsa</i>	Afyon-Sandıklı	N38°20'25.1"	E30°07'48.5"	1123
3	<i>J. excelsa</i>	Ankara-Beypazarı (ATM)*	N40°12'48.4"	E31°40'02.2"	535
4	<i>J. excelsa</i>	Antalya-Elmalı	N36°49'17.7"	E29°46'03.7"	1380
5	<i>J. excelsa</i>	Antalya-Gündoğmuş	N36°51'02.5"	E32°05'11.0"	1405
6	<i>J. excelsa</i>	Antalya-Termessos (MP)*	N36°58'43.5"	E30°27'31.7"	1050
8	<i>J. excelsa</i>	Aydın-Efeler	N37°56'43.9"	E27°53'51.0"	1470
9	<i>J. excelsa</i>	Burdur-Bucak	N37°24'06.5"	E30°20'46.0"	1360
10	<i>J. excelsa</i>	Denizli-Acıpayam (GKO)*	N37°11'41.6"	E29°08'02.7"	1460
11	<i>J. excelsa</i>	Denizli-Beyağaç (GKO)*	N37°17'52.7"	E28°58'19.2"	1180
12	<i>J. excelsa</i>	Eskişehir-Mihalıççık (GKO)*	N39°50'50.3"	E31°15'59.7"	980
13	<i>J. excelsa</i>	Eskişehir-Seyitgazi (GKO)*	N39°28'53.3"	E30°39'57.7"	1010
15	<i>J. excelsa</i>	Isparta-Senirkent	N38°05'15.0"	E30°48'11.8"	1369
16	<i>J. excelsa</i>	Karabük-Eskipazar (ATM)*	N41°00'01.2"	E32°37'18.5"	560
17	<i>J. excelsa</i>	Konya-Hadim (GKO)*	N37°02'34.0"	E32°30'37.2"	1440
18	<i>J. excelsa</i>	Mersin-Mut (GKO)*	N36°51'14.9"	E33°17'46.2"	1443
19	<i>J. excelsa</i>	Mersin-Tarsus (GKO)*	N37°07'00.5"	E34°27'36.0"	1470
20	<i>J. excelsa</i>	Muğla-Seydikemer (GKO)*	N36°52'41.5"	E29°31'03.7"	1388
21	<i>J. excelsa</i>	Sinop-Boyabat	N41°37'22.1"	E34°37'18.1"	386
14	<i>J. polycarpus</i>	Gümüşhane-Torul	N40°32'29.9"	E39°16'54.8"	1112
7	<i>J. foetidissima</i>	Antalya-Termessos (MP)*	N36°58'43.5"	E30°27'31.7"	1050

* ATM: Ardiç Tohum Meşçeresi, GKO: Gen Koruma Ormanı, MP: Milli Park, Pop.: Popülasyon



Şekil 3.1. Çalışılan *J. excelsa* popülasyonlarının coğrafik konumları. Sarı alan, *J. excelsa*'nın Türkiye'deki doğal yayılış alanını kabaca göstermektedir (1. Adana-Pozantı, 2. Afyon-Sandıklı, 3. Ankara-Beyazır, 4. Antalya-Elmalı, 5. Antalya-Gündoğmuş, 6. Antalya-Termessos, 7. Antalya-Termessos Jf, 8. Aydın-Efeler, 9. Burdur-Bucak, 10. Denizli-Acıpayam, 11. Denizli-Beyağaç, 12. Eskişehir-Mihalıççık, 13. Eskişehir-Seyitgazi, 14. Gümüşhane-Torul-Jp, 15. Isparta-Senirkent, 16. Karabük-Eskipazar, 17. Konya-Hadim, 18. Mersin-Mut, 19. Mersin-Tarsus, 20. Muğla-Seydikemer, 21. Sinop-Boyabat)

3.2. Popülasyonlara İlişkin Bilgiler ve Toprak Analizi

Örnek toplamak amacıyla popülasyonların bulunduğu yerlere gidildiğinde arazinin ortalama eğimi, *J. excelsa* popülasyonlarının saflığı ve arazinin kayalık, taşlık vb. olma durumları not edilmiş ve fotoğraf çekimleri yapılmıştır. Arazilere ilişkin sözü geçen diğer bilgiler Çizelge 3.2’de ve her bir popülasyon arasındaki düz bir hat boyunca ve kilometre cinsinden uzaklıklar ise Çizelge 3.3’te görülmektedir.

Çizelge 3.2’de görülen popülasyonlardan tümü doğal popülasyonlardır. Afyon-Sandıklı, Burdur-Bucak, Denizli-Acıpayam, Denizli-Beyağaç, Eskişehir-Mihalıççık, Eskişehir-Seyitgazi, Karabük-Eskipazar, Konya-Hadim, Mersin-Mut ve Muğla-Seydikemer saf *J. excelsa* popülasyonlarıdır. Diğer ağaç türleriyle karışık, ancak *J. excelsa*’nın baskın tür olduğu popülasyonlar, Adana-Pozantı, Antalya-Elmalı, Mersin-Tarsus’tur. Geriye kalan Ankara-Beypazarı, Antalya-Gündoğmuş, Antalya-Termessos, Aydın-Efeler, Isparta-Senirkent ve Sinop-Boyabat popülasyonlarında *J. excelsa* hakim tür değildir. Gümüşhane-Torul’dan toplanan örnekler ise diğer türlerin yanında çok az sayıda ve bir popülasyon olarak sayılamayacak niteliktedir.

Her popülasyondan, toprak analizleri yapmak amacıyla toprak örnekleri alınmıştır. Toprak örnekleri tercihen şev (yol kenarlarında bulunan; ancak yol seviyesinden yuksekteki toprak sütunlar) kısımlarından alınmıştır. Bu kısımlardan örnek almaktaki amaç, toprağı çok fazla kazmaya gerek olmadan hem toprağın derin katmanlarından hem de ağaçların köklerinin hizasından örnekleme yapılmasını mümkün kılmasıdır. Örnekleme yapılırken keser ile şevin en dış kısımları sıyrılmış ve daha iç kısımdan toprak örnekleri alınmıştır. Örnek alınırken taşlar ayıklanmış ve her popülasyondan dörder kilogram toprak örneği alınarak naylon poşetlere konulmuş ve üzerine hangi popülasyondan alındığına dair bir karton parçasına not yazılarak, bu kartonlar poşetlerin içerisine konulmuştur.

Çizelge 3.2. Çalışılan popülasyonların arazi yapısı, eğim ve bakışı

Pop. No	Pop. Adı	Arazi	Eğim	Bakı
1	Adana-Pozantı	Toprak	20°	Güneydoğu
2	Afyon-Sandıklı	Taşlık	30°	Güney-güneydoğu
3	Ankara-Beypazarı	Toprak	40°	Kuzeybatı
4	Antalya-Elmalı	Kayalık	50°	Kuzeybatı-kuzey-kuzeydoğu
5	Antalya-Gündoğmuş	Kayalık	50°	Kuzey ve güney

(Devamı Arkada)

Çizelge 3.2'nin devamı

Pop. No	Pop. Adı	Arazi	Eğim	Bakı
6-7	Antalya-Termessos	Kayalık	30°	Güneydoğu ve kuzeybatı
8	Aydın-Efeler	Kayalık	40°	Güney-güneybatı
9	Burdur-Bucak	Kayalık	50°	Doğu-güneydoğu ve batı-kuzeybatı
10	Denizli-Acıpayam	Kayalık	50°	Kuzey ve güney
11	Denizli-Beyağaç	Kayalık	40°	Doğu-güneydoğu ve batı-kuzeybatı
12	Eskişehir-Mihalıççık	Taşlık	10°	Güney-güneybatı
13	Eskişehir-Seyitgazi	Taşlık	20°	Batı-güneybatı
14	Gümüşhane-Torul	Kayalık	40°	Güneybatı ve kuzeydoğu
15	Isparta-Senirkent	Taşlık	50°	Batı
16	Karabük-Eskipazar	Toprak	30°	Batı
17	Konya-Hadim	Taşlık	10°	Kuzey-kuzeydoğu
18	Mersin-Mut	Taşlık	10°	Kuzey ve güney
19	Mersin-Tarsus	Toprak	30°	Güney-güneybatı
20	Muğla-Seydikemer	Taşlık	20°	Güneybatı ve kuzeydoğu
21	Sinop-Boyabat	Toprak	10°	Güney

Çizelge 3.3. Çalışılan popülasyonlar arasındaki kuş uçuşu (düz bir hat boyunca) uzaklıklar (km)

Adana-Pozantı	Afyon-Sandıklı	Ankara-Beyazır	Antalya-Elmalı	Antalya-Gündoğmuş	Antalya-Termessos	<i>J. foetidissima</i>	Aydın-Efeler	Burdur-Bucak	Denizli-Acıpayam	Denizli-Beyağaç	
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Adana-Pozantı
436	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Afyon-Sandıklı
414	247	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Ankara-Beyazır
469	172	412	***	***	***	***	***	***	***	***	Antalya-Elmalı
268	239	375	206	***	***	***	***	***	***	***	Antalya-Gündoğmuş
406	154	375	64	145	***	***	***	***	***	***	Antalya-Termessos
406	154	375	64	145	0.1	***	***	***	***	***	<i>J. foetidissima</i>
625	200	412	207	390	250	250	***	***	***	***	Aydın-Efeler
410	106	333	82	166	48	48	224	***	***	***	Burdur-Bucak
519	155	401	70	265	120	120	137	110	***	***	Denizli-Acıpayam
532	154	400	88	281	137	137	119	122	18	***	Denizli-Beyağaç
413	194	53	361	341	327	327	360	283	348	347	Eskişehir-Mihalççık
435	135	118	306	318	279	279	295	233	287	284	Eskişehir-Seyitgazi
499	823	646	923	747	861	861	1021	847	953	961	<i>J. polycarpus</i>
373	65	248	168	178	127	127	255	86	177	183	Isparta-Senirkent
436	365	119	526	464	485	485	529	446	519	518	Karabük-Eskipazar
226	254	360	245	43	182	182	419	196	300	315	Konya-Hadim
168	324	399	314	108	253	253	492	269	371	387	Mersin-Mut
66	404	421	418	213	355	355	586	365	472	486	Mersin-Tarsus
490	171	415	23	229	85	85	186	94	49	67	Muğla-Seydikemer
456	529	294	678	574	628	628	705	596	681	683	Sinop-Bozabat

(Devamı Arkada)

Çizelge 3.3'ün devamı.

Eskişehir-Mihalççık	Eskişehir-Seyitgazi	<i>J. polycarpus</i>	Isparta-Senirkent	Karabük-Eskipazar	Konya-Hadim	Mersin-Mut	Mersin-Tarsus	Muğla-Seydikemer	Sinop-Boyabat	
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Adana-Pozantı
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Afyon-Sandıklı
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Ankara-Beypazarı
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Antalya-Elmalı
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Antalya-Gündoğmuş
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Antalya-Termessos
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	<i>J. foetidissima</i>
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Aydın-Efeler
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Burdur-Bucak
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Denizli-Acıpayam
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Denizli-Beyağaç
***	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Eskişehir-Mihalççık
66	***	***	***	***	***	***	***	***	***	Eskişehir-Seyitgazi
685	743	***	***	***	***	***	***	***	***	<i>J. polycarpus</i>
200	156	778	***	***	***	***	***	***	***	Isparta-Senirkent
172	237	563	359	***	***	***	***	***	***	Karabük-Eskipazar
330	315	704	190	440	***	***	***	***	***	Konya-Hadim
377	372	662	259	465	73	***	***	***	***	Mersin-Mut
412	423	565	340	460	173	107	***	***	***	Mersin-Tarsus
364	306	939	176	531	267	336	440	***	***	Muğla-Seydikemer
345	410	409	511	181	541	542	501	686	***	Sinop-Boyabat

Topraklar analize gönderilmeden önce gazete kağıdı üzerine serilmiş ve 2-3 gün boyunca zaman zaman hafifçe karıştırılarak kurutulmuştur. Daha sonra gözenekleri 2 mm çapındaki çelik bir elek ile topraklar elenmiştir. Böylece elekten geçirilen toprağın kaba kısımları uzaklaştırılmıştır. Toprakların elekten geçirilmiş kısımları tekrar poşetlenerek etiketlenmiştir. Şekil 3.2’de bitki ve toprak örneği alınmış popülasyonlardan biri olan Antalya-Gündoğmuş ilçesi sınırları içerisindeki Gelesandra Yaylası mevkiinde çekilmiş diğer türlerle karışık *J. excelsa* popülasyonundan bir fotoğraf ve Şekil 3.3’te de aynı mevkiden alınarak elenmiş toprak örneği görülmektedir.



Şekil 3.2. *J. excelsa* 'nın Antalya-Gündoğmuş popülasyonundan görünüşü

Her bir popülasyondan alınmış toprak örnekleri “Türkiye Cumhuriyeti Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Bölge Toprak Bitki Su ve Gübre Analiz Laboratuvarı” tarafından analiz edilmiştir. Toprak analizinde bakılan başlıca parametreler pH, elektriksel iletkenlik (EC), CaCO_3 , kum, kil, mil ve organik madde yüzdeleri, ppm biriminden fosfor (P), magnezyum (Mg), potasyum (K), kalsiyum (Ca), demir (Fe), manganez (Mn), çinko (Zn) ve bakır (Cu) miktarlarıdır.



Şekil 3.3. *J. excelsa*'nın Antalya-Gündoğmuş popülasyonundan alınmış toprak örneği

3.3. Popülasyonlardaki Ağaçlardan Yaprak Örneklerinin Toplanması ve Kurutulması

Popülasyonlardaki ağaçlardan örnekleme yapılırken, örnek alınacak her ağacın arasında en az 20-30'ar metrelik uzaklık bulunmasına dikkat edilmiştir. Bahçe makası kullanılarak örnek alınacak (dış gruplar da dahil olmak üzere) ağaçların taze sürgünlerinden yaprak ve tür teşhisi için de olgun kozalak örnekleri alınmıştır. Her bir ağaçtan alınan taze sürgünler (yaprak) ve olgun kozalak örnekleri ayrı ayrı kese kağıtları içerisine konulmuştur. Kese kağıtlarının üzerine örnek numarası ve toplandığı popülasyonun adı kısaltılarak yazılmıştır. Kese kağıtlarının içerisine silika jel girmemesi için ağzı katlanmak suretiyle kapatılarak içinde daha önceden fırında nemi alınmış silika jel bulunan kilitli poşetlere konulmuştur (Kurt 2011) (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Nemi alınarak kilitli poşete yerleştirilmiş silika jel ile içerisinde örnek bulunan ağzı kapatılmış kese kağıdı (solda); örneğin suyunu çekmek suretiyle nemlenerek pembeleşmiş silika jel (sağda)

Kilitli poşetlerin ağzı kapatılarak örneklerin hava ile teması kesilmiştir. Bu şekilde örnekler dışarıdan gelecek nem veya küf gibi olumsuz etkenlere karşı korunmuştur. Kilitli poşetler içerisinde oluşturulmuş kapalı ortamda taze örneklerde bulunan su silika jel tarafından emilmiştir. Nemlenen silika jellerin rengi mavi-lacivertten pembeye dönüştüğü zaman örneklerin silika jelleri değiştirilmiştir. Nemlenen silika jeller ise fırına konularak nemleri tekrar alınmış ve yeniden kullanılmıştır. İlk 3-4 gün her bir örneğin silika jelleri bu şekilde günde bir kez değiştirilirken, daha sonra değiştirme sıklığı sırasıyla iki, üç veya dört günde bir olacak şekilde azaltılmıştır. Bitki örneklerinin tamamen kuruması 15 ile 20 gün arasında gerçekleşmiştir. Şekil 3.5'te de kurutma süreci tamamlanmış bir yaprak örneğinin fotoğrafı görülmektedir.



Şekil 3.5. Kurutma süreci tamamlanmış yaprak örneği

3.4. DNA İzolasyonu ve Kalite-Miktar Tayini

DNA izolasyonu, her bir popülasyondan örneklenen her bir ağaçtan toplanan yaprak örnekleri, kuruduktan sonra, kuru bitki materyalinden yapılmıştır. Her bir kuru bitki materyalinden, ortalama 40 mg kadar tartılarak steril eppendorf tüplerine konulmuştur ve tüplerin üzerine ağaca ait numara yazılmıştır. Daha sonra bu tüplerin içerisine birer tane 3 mm çapında steril çelik bilye eklenmiştir. Tüplerin ağzı kapatılarak

öğütücüde (homojenizatör, Retsch MM 400) saniyede 30 titreşim sıklığında 6 dakika boyunca yaprak örnekleri öğütülmüş ve toz haline getirilmiştir. Bu şekilde tüm örnekler DNA izolasyonu için hazır hale getirilmiştir. DNA izolasyonunda Dellaporta vd. (1983) yöntemi, küçük değişiklikler yapılarak, kullanılmıştır. Bu protokole göre;

i) Öğütme işlemi tamamlanmış eppendorf tüplerindeki her bir örneğin üzerine 1 ml özütleme tamponu eklenmiştir. Özütleme tamponu son derişim olarak; 100 mM Tris, 50mM EDTA, 500 mM NaCl, 10 mM 2-merkaptotanol ve %1 PVP içermektedir ve pH'ı 8'dir.

ii) Her bir tüpe 130 µl %10'luk SDS eklenmiştir.

iii) Eppendorf tüplerinin ağzı sıkıca kapatılmış ve nazikçe ters-düz edilerek, önceden 65 °C'ye ısıtılmış su banyosuna yerleştirilmiştir ve 15 dakikada bir nazikçe ters-düz edilerek bu sıcaklıkta 45 dakika boyunca tutulmuştur.

iv) Örneklerin üzerine soğuk 5M'lık potasyum asetat çözeltisinden 350 µl eklenerek, tüpler +4 °C'de 30 dakika boyunca bekletilmiştir.

v) Tüpler +4 °C'den alınarak santrifüje yerleştirilmiş ve 13,000 rpm hızında 25 dk boyunca santrifüj edilmiştir.

vi) Santrifüjlemenin ardından tüplerin üstteki sıvı kısmından (süpernatant) mikropipetle 900 µl alınarak steril eppendorf tüplerine aktarılmış ve tekrar 13,000 rpm hızında 25 dakika boyunca santrifüj edilmiştir.

vii) Bu kez üstteki sıvı kısımdan 800 µl steril eppendorf tüplerine alınarak üzerine aynı hacimde soğuk 2-propanol eklenmiş, tüpler ters düz edilerek +4 °C'ye kaldırılmış ve bir gece boyunca bekletilmiştir.

viii) Ertesi gün, +4 °C'de bekletilmiş tüpler 13,000 rpm hızında 30 dakika boyunca santrifüj edilmiş, sonra sıvı kısmın tamamı dökülmüş ve tüpün dibinde DNA'nın çökelti olarak toplandığı gözlemlenmiştir. Tüpler ters çevrilerek kalan sıvı kısmın kurutma kağıdı üzerine süzülmesi sağlanmıştır.

ix) DNA çökeltisinin üzerine 100 µl 50 mM Tris/10 mM EDTA ve 11 µl 3 M'lık sodyum asetat çözeltileri eklenerek tüplerin ağzı kapatılmış, 30 dakika boyunca 37 °C'de etüvde tutulmuş ve DNA çökeltisinin çözünmesi sağlanmıştır.

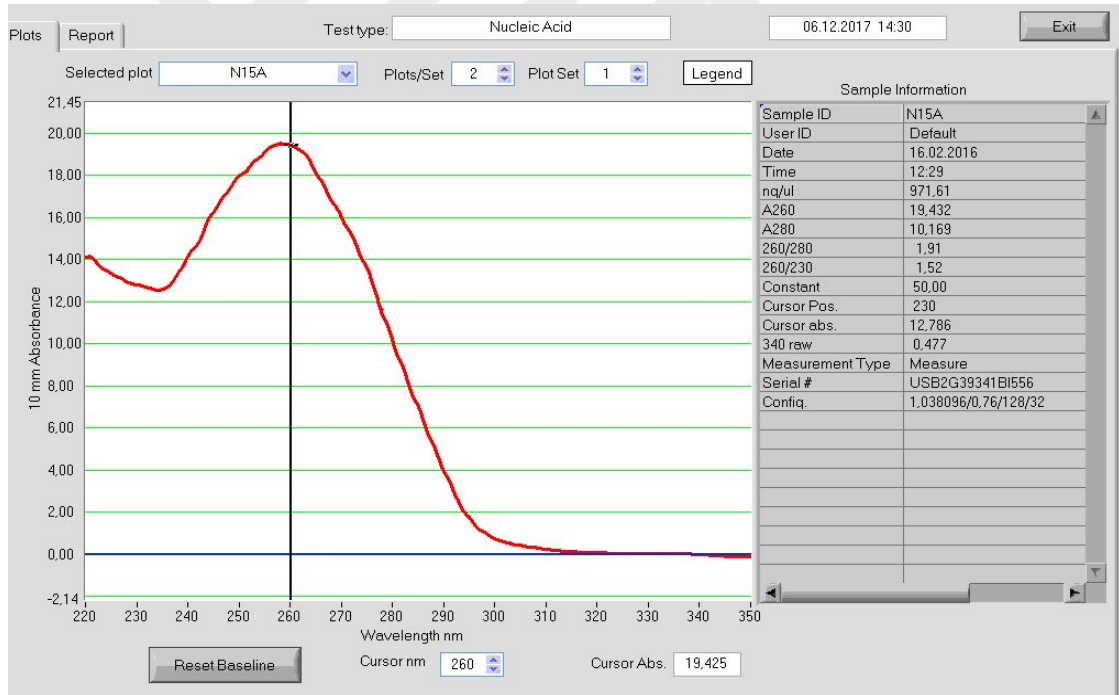
x) Bu işlemin ardından 100 µl soğuk 2-propanol eklenmiş ve ağızları kapatılan tüpler, nazikçe ters-düz edilerek 30 dakika boyunca -20 °C'de tutulmuştur. Ardından 5 dakika boyunca 13,000 rpm'de santrifüj edilmiştir.

xi) Sıvı kısmın tamamı dökülmüş, tüpler ters çevrilerek kalan sıvı kısmın kurutma kağıdı üzerine süzülmesi sağlanmıştır ve dipte biriken DNA çökeltisinin üzerine 1 ml soğuk, %70'lik etanol konulmuştur. Tüplerin kapağı kapatılarak etanol tüpün çeperlerinde gezdirilmiştir. Daha sonra da tüpler yeniden 5 dakika boyunca 13,000 rpm'de santrifüj edilmiştir.

xii) Santrifüj sonrası tüplerdeki etanol dökülmüş ve tüplerin dibindeki DNA çöktelisinin kuruması için tüpler ters bir şekilde ve kurutma kağıdının üzerinde, gece boyunca, 37 °C’de etüvde tutulmuştur.

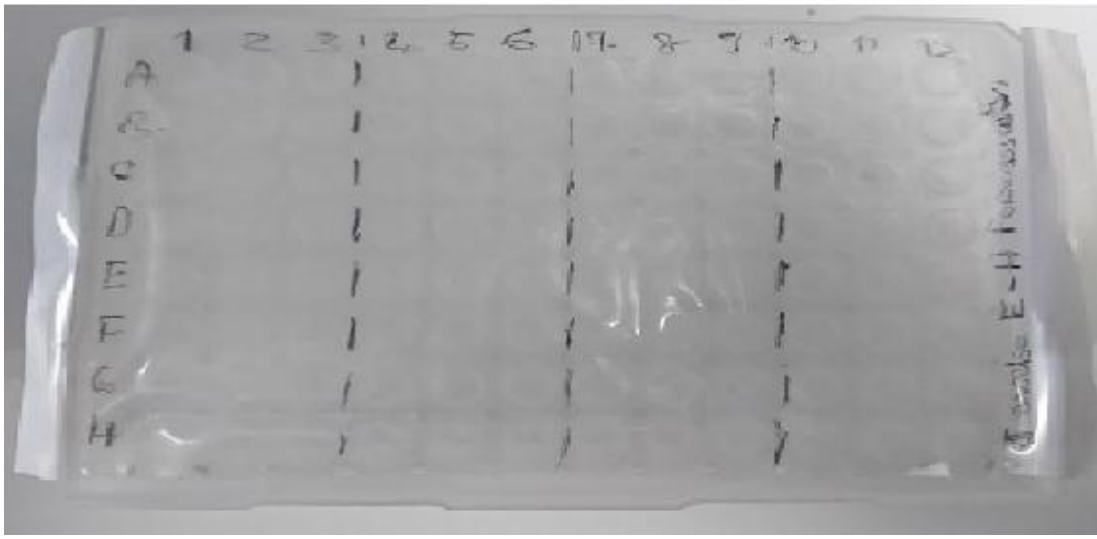
xiii) Ertesi gün tüplere 50 µl RNaz A’lı steril distile su (30:1 steril distile su ve RNaz A (10mg/ml)) eklenmiş ve diplerindeki DNA çöktelilerinin çözünmesi için 30 dakika boyunca 37 °C’de etüvde tutulmuştur.

Her bir örnekten izole edilen DNA’ların miktar ve kalite ölçümü, “Thermo Nanodrop 1000 Spektrofotometresi” kullanılarak yapılmıştır. Miktar tayinlerinin yanı sıra; kalite ölçümü OD260/OD280 ve OD260/OD230 oranlarına göre yapılmıştır. DNA molekülünün 260 nm dalga boyunda en çok emilim gösterdiği göz önüne alınarak; örnek DNA’larının 260 nm dalga boyunda en çok emilim göstermesi koşulu aranmıştır. DNA kalitesinde kabul edilebilir en düşük değerler OD260/OD280 oranı için 1.7; OD260/OD230 oranı için ise 1.2 olmuştur. Her bir örnek için ikişer ölçüm yapılmış ve bunların ortalamasına göre örneklerin durumuna karar verilmiştir. Bu sayılan koşulların sağlanmadığı durumlarda ilgili örnekler için DNA izolasyonu tekrarlanmıştır. Şekil 3.6’da bu ölçümlerden bir örnek görülmektedir.



Şekil 3.6. Eskişehir-Seyitgazi popülasyonuna ait örneklerden birinin DNA miktar ve kalitesini belirlemek için Nanodrop 1000 ile yapılan ölçüm sonucu

Daha sonra her bir örneğe ait DNA’lar Şekil 3.7’de görüldüğü gibi 96 kuyucuklu plakalarda son derişim 10 ng/µl olacak şekilde steril distile su ile sulandırılarak PZR için hazır hale getirilmiştir.



Şekil 3.7. 10 ng/µl olacak şekilde sulandırılmış DNA örneklerinin bulunduğu 96 kuyucuklu plakalardan birinin üstten görünüşü

3.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Tabanlı İşlemler

Hem SSR hem de ITAP lokuslarının çoğaltılmasında değerlendirilebilir kalitede bantlar elde etmek amacıyla ön denemeler yapılmıştır. Ön denemelerde çalışılacak primerlerin seçimi, PZR karışım koşullarının ve PZR döngülerinin optimizasyonu yapılmıştır.

3.5.1. nSSR lokuslarının analizleri

Denenecek nSSR primer çiftleri daha önceden *J. communis* ile *J. thurifera* türleri için geliştirilmiş ve Douaihy vd. (2011), Yücedağ ve Gailing (2013) ile Teixeira vd. (2014)'ün çalışmalarında kullanılmış olan primerlerden seçilmiştir. Çünkü, Douaihy vd. (2011) ile Yücedağ ve Gailing (2013)'in çalışmalarında *J. communis* için geliştirilmiş SSR primerlerinin (Jc031, Jc032, Jc037 ve Jc166) *J. excelsa* türünde de çalıştığı gösterilmiştir. Ayrıca, Teixeira vd. (2014)'ün çalışmasında kullanılanlar (JT01, JT02, JT03, JT33, JT34, JT37, JT38, JT40 ve JT46) ise *J. excelsa*'ya filogenetik olarak en yakın türlerden biri olan *J. thurifera* türü için geliştirilmiştir. Bu sözü edilen çalışmalardan dizi bilgileri alınan nSSR primer çiftleri sentezletirilmiş ve bu primer çiftleri ile elde edilmiş PZR ürünleri, agaroz jel elektroforezinde (AJE) yürütülmüş ve ethidium bromür boyaması ile jel görüntülemesi yapılmıştır. Boyanan jeller görüntüleme sistemi ile amplifikasyon varlığı veya yokluğu; eğer varsa, oluşan bantların büyüklüğü ve kalitesi bakımından analiz edilmiştir. Ancak Jc031, Jc032, JT01, JT03 ve JT46 primer çiftleriyle yapılan ön denemelerde, bunların değerlendirilebilir kalitede allel örüntüsü vermediği görülmüştür; bu yüzden bu primer çiftleri ileri analizlerde kullanılmamıştır. Geriye kalan sekiz primer çiftinin ise ileri analizler için uygun olduğu görülmüş ve analizlere bu primerlerle devam edilmiştir (Çizelge 3.4). Primer denemeleri, Denizli-Beyağaç popülasyonundan dört bireyle her bir primer çifti en az ikişer kez kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 3.4. Çalışmada kullanılan nSSR primer çiftlerine ait bilgiler

KARIŞIM ADI	PRİMER ADI	PRİMER DİZİSİ (5'-3')	TEKRAR MOTİFİ	İŞARETLENDİĞİ BOYA (5' F)	BAĞLANMA SICAKLIĞI (°C)	PRİMER DERİŞİMİ (µM)
TEK BAŞINA	JT02	F: TTCTTCCTCACTTTTGTTGCC R:AGGTGCTAGGGGTGCTTGTA	(GAA) ₈	NED (Sarı)*	52	3.5
KARIŞIM-1	JT34	F: CATGCATGGGTTATAATAATAGAGATA R: TGGGCACAAATTTTAGTGTAATG	(AG) ₁₂	FAM (Mavi)	55	2.5
	JT37	F: GATGTTTGTATCATATCCTTGATTGG R: TCCACACCTATCGGGTTCAT	(GT) ₁₄	VIC (Yeşil)		2.5
	JT38	F: CCAACAAGCCTCCACCCTAT R: CAAGTTTGAAAGTGTGGTCA	(AC) ₁₄	NED (Sarı)*		2.5
	Jc037	F: GGCAATTAGTAAGGCACAAG R: TAAGGTGGATATCACCAAGG	(TG) ₉ -(AG) ₂₂	FAM (Mavi)		3.5
KARIŞIM-2	JT33	F: GAGCTTCCTTTGTAGATTTTGGG R: GTAAGAAGACACCACTCAGTCGAT	(CT) ₁₁	PET (Kırmızı)	57	3.5
	Jc166	F: ATTTGTTTTCTTGTGGATGC R: GCACTGACACCTATATGCAC	(TG) ₁₄	VIC (Yeşil)		3.5
	JT40	F: GGCCGCATGATCCACT R: TCGTAACGTAATGACATGTATAGTGC	(CA) ₂₀	PET (Kırmızı)		2.5

*Ancak, “GeneMapper Software Version 4.0” programında siyah renkte gösterilir.

nSSR reaksiyonları JT02 primer çifti için tek başına yapılırken, geriye kalan yedi primer çiftinden multiplex-PZR yapmak amacıyla iki farklı karışım (Karışım-1 ve Karışım-2) oluşturularak PZR ürünleri elde edilmiştir. Primer karışımları oluşturulurken yapışma sıcaklıkları (T_m) aynı olanlar aynı karışıma dahil edilmiştir (Çizelge 3.4). PZR ürünlerini analiz edebilmek amacıyla primer çiftlerinden forward (İleri) primerler 5' uçlarından farklı renkteki floresan boylarla (kırmızı, mavi, yeşil ve sarı) işaretlenmiştir. Çizelge 3.4'te SSR reaksiyonlarında kullanılan primer çiftlerinden oluşan karışımları, primer dizileri, tekrar motifleri, işaretlendiği boylar, uygulanmış yapışma sıcaklıkları, derişimleri ve literatürdeki çalışmalarda gözlenmiş allel büyüklükleri görülmektedir. Multiplex-PZR işlemleri 2X Qiagen Multiplex-PZR kiti, bu kit ile birlikte verilen steril dH_2O ve primer karışımları eklenerek gerçekleştirilmiştir. SSR'lar için multiplex-PZR'ın son hacmi; 5 μl 2X Qiagen Multiplex-PZR Kiti, bu kit ile birlikte verilen steril dH_2O 'dan 2 μl , derişimleri her bir primer çifti için 2,5 veya 3,5 μM olan primer karışımından (Çizelge 3.4) 2 μl ve her bir genomik DNA'dan ise 1 μl (10 ng/ μl) olmak üzere toplamda 10 μl olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu son hacimde primer çiftlerinin her birinin son derişimi 0.5 veya 0.7 μM olmuştur. SSR-PZR için denaturasyon, bağlanma ve uzatma döngülerinin sayısı ve sıcaklıkları Çizelge 3.5'te özetlenmiştir.

Çizelge 3.5. SSR-PZR'leri için optimize edilmiş reaksiyon döngüsü

Aşamalar	İşlemin Adı	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı (adet)
1	Ön - Denatürasyon	95	15 dakika	1
2	Denatürasyon	94	30 saniye	30
	Bağlanma	52 - 57	90 saniye	
	Uzatma	72	60 saniye	
3	Son – uzatma	60	30 dakika	1
4	Bekleme	4	∞	

Çalışılan SSR lokuslarının her birisi için PZR ile elde edilen DNA parçalarının (fragment) baz çifti (bç) olarak büyüklüklerini; böylece allelik örüntülerini belirlemek amacıyla "ABI PRISM 310 Genetic Analyzer" dizileme cihazı kullanılarak kapiller jel elektroforezi yapılmıştır. 5' işaretli ileri primerlerden dolayı dört farklı renkteki floresan boya (kırmızı, mavi, yeşil ve sarı) ile işaretmiş olan PZR ürünlerinin büyüklüklerini aynı anda belirlemek mümkündür. Bunun için tek başına PZR yapılan JT02 primerinin PCR ürünü Karışım-2 ile birleştirilerek fragment analizi yapılmıştır. Bu işlemde, her bir PZR ürününden 1'er μl alınıp 200'er μl 'lik sekizli strip tüplerine konulmuş, her birinin üzerine 10.5 μl 20:1'lik formamit:LIZ DNA standardı karışımından eklenmiş ve sonra bu tüpler çok kısa bir süre minisantrifüjden geçirilerek dizileme cihazına yerleştirilip fragment analizi yapılmıştır. Gözlenen allel büyüklükleri DNA dizileme cihazı fragment analizini yaparken, analiz ile eş zamanlı olarak bilgisayar ortamına, "310 Data Collecton Software Version 3.1.0" programı aracılığıyla kaydedilmiştir. Gözlenen SSR allellerinin büyüklükleri "LIZ" DNA standardına göre belirlenmiştir. Bu DNA standardı, turuncu renkli LIZ boyasıyla işaretlenmiş farklı büyüklükteki 13 DNA parçasından oluşmaktadır.

Bu parçaların büyüklükleri sırasıyla; 75, 100, 139, 150, 160, 200, 300, 340, 350, 400, 450, 490 ve 500 bp'dir. Her bir örnek için "ABI-310 Genetic Analyzer" dizileme cihazında elde edilen veriler "GeneMapper Software Version 4.0" programı kullanılarak analiz edilmiş ve alleller tespit edilerek genotipler belirlenmiştir. Elde edilen genotip verileri, popülasyon genetiği parametrelerine göre analiz edilmek üzere, "GenAIEx" formatında düzenlenmiştir.

3.5.2. ITAP lokuslarının analizi

Çalışmada kullanılacak ITAP primerlerini belirlemek amacıyla Yang vd. (2013) ve Xiong vd. (2013)'ten dizi bilgisi alınan primerler sentezletirilmiştir. Yang vd. (2013)'ten dizi bilgisi alınmış "Em" serisi primerler ileri (forward), Xiong vd. (2013)'ten dizi bilgisi alınmış "ITPR" serisi primerler ise geri (reverse) primer işlevi görmektedir. Bu ileri ve geri primerler; 27 adet "Em" ve beş adet de "ITPR" serisi olmak üzere toplamda 135 olası primer çifti (27X5) oluşturmaktadır.

Toplam 135 ITAP primer çifti, değişik dört popülasyondan ikişer örnek olmak üzere toplamda sekiz örnek DNA'sı üzerinde denenmiş; değerlendirilebilir kalitede ve polimorfizmi yüksek bant örüntüsü elde edilen sekiz primer çifti ITAP analizleri için seçilmiştir. Bu primer çiftleri sırasıyla; Em1-ITPR5, Em5-ITPR4, Em5-ITPR5, Em12-ITPR3, Em19-ITPR2, Em20-ITPR3, Em21-ITPR1 ve Em26-ITPR3'tür. Bu primerlerin dizi bilgisi Çizelge 3.6'da görülmektedir.

Çizelge 3.6. Çalışmada kullanılan ITAP primerlerine ait bilgiler

Forward (İleri) Primerler (Yang vd. 2013)	
Primer Adı	Primer Baz Dizisi (5'-3')
EM1	GAC TGC GTA CGA ATT AAT
EM5	GAC TGC GTA CGA ATT AAC
EM12	GAC TGC GTA CGA ATT CAT
EM19	GAC TGC GTA CGA ATT ACG
EM 20	GAC TGC GTA CGA ATT TAG
EM21	GAC TGC GTA CGA ATT TCG
EM26	GAC TGC GTA CGA ATT CGG
Reverse (Geri) Primerler (Xiong vd. 2013)	
Primer Adı	Primer Baz Dizisi (5'-3')
ITPR1	GAC TGC GTA CCT GCA AAT
ITPR2	GAC TGC GTA CCT GCA TGC
ITPR3	GAC TGC GTA CCT GCA GAC
ITPR4	GAC TGC GTA CCT GCA ATG
ITPR5	GAC TGC GTA CCT GCA GCT

ITAP-PZR reaksiyonlarında kullanılacak primer çiftlerinin belirlenmesinin ardından Xiong vd. (2013)'te belirtilen şekilde ITAP-PZR'ları yapılmış ve PZR ürünleri elde edilmiştir. PZR işlemleri için gerekli malzemeler (Taq buffer, MgCl₂ ve Taq polimeraz) "Fermentas" firmasından sağlanmıştır. Çizelge 3.7'de ITAP-PZR'leri için optimize edilmiş reaksiyon koşulları ve Çizelge 3.8'de ise PZR döngüleri gösterilmiştir.

Çizelge 3.7. ITAP primerleri için optimize edilmiş reaksiyon karışımı

Karışım İçeriği	Kullanılan Miktar (µl)	Son Derişim
Steril dH ₂ O	1.95	-
10x Tampon	1.5	1 X
10 mM dNTP	0.3	0.2 mM
5 µM Primer F (Em serisi)	1.5	0.5 µM
5 µM Primer R (ITPR serisi)	1.5	0.5 µM
25 mM MgCl ₂	3	5 mM
Genomik DNA (10 ng/µ)	5	50 ng
Taq DNA Polimeraz	0.25	1.25 U
Toplam	15	-

Çizelge 3.8. ITAP-PZR reaksiyon döngüsü (Xiong vd. 2013)

Aşamalar	İşlemin Adı	Sıcaklık (°C)	Süre/Döngü (dakika)	Döngü Sayısı (adet)
1	Ön - Denatürasyon	94	5	1
2	Denatürasyon	94	1	5
	Bağlanma	35	1	
	Uzatma	72	1	
3	Denatürasyon	94	1	35
	Bağlanma	50	1	
	Uzatma	72	1	
4	Son – uzatma	72	10	1
5	Bekleme	4 °C	∞	-

ITAP-PZR ürünlerinin ayrıştırılması için Agaroz Jel Elektroforezi (AJE) yöntemi kullanılmıştır. Bunun için gerekli agaroz Vivantis firmasından sağlanmıştır. Agaroz jeller TBE (Tris, Borik asit ve EDTA) tamponuyla, % 1.5 derişimde olacak şekilde hazırlanmış ve hazırlanan jeller yine TBE tampon ile doldurulmuş elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Yükleme boyası olarak iki farklı markadan (Vivantis ve Gene Ruler-Fermentas “6X loading dye”) kullanılmıştır. Kullanım öncesi yükleme boyası 1:1 oranında TBE ile sulandırılmıştır. Daha sonra, yükleme öncesi beş hacim PZR ürününe (15 µl) karşılık bir hacim (3 µl) olacak şekilde yükleme boyası katılmıştır. PZR ürünleri ve DNA standardı yüklendikten sonra 90 V (volttta) 90 dakika boyunca yürütülmüştür. Ayrıştırılan ITAP-PZR bantları ethidium bromür ile boyanarak jel görüntüleme sisteminde (DNR Mini Bis Pro Bio-Imaging Systems) görüntülenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

ITAP bantlarının büyüklüklerini belirlemek için 14 fragment içeren DNA standardı (100 bp Gene Ruler Fermentas) kullanılmıştır. Bu fragmentler 100 - 3000 baz çifti arasındadır. DNA standardı sırasıyla; 3000, 2000, 1500, 1200, 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200 ve 100 bç verecek şekilde, fragmentlere ayrılmaktadır. Jellerde her bir primer çifti için elde edilen bantların büyüklükleri “Bio imaging Systems, Gelquant V.27.0” programı kullanılarak belirlenmiştir. Program bantların büyüklüklerini DNA standardında elde edilen fragmentleri örnek DNA’larının fragmentleri ile karşılaştırarak belirlemektedir. ITAP lokuslarının (DNA bantlarının) değerlendirilmesi için binary (ikili) sistem kullanılmış; başka bir deyişle bant varlığı “1”, yokluğu ise “0” olarak kaydedilmiş ve bütün örnek DNA’larının sekiz primer çifti ile elde edilen ITAP-PZR bant örüntüleri bilgisayara girilmiş ve “GenAIEx” formatında veri dosyası olarak hazırlanmıştır.

3.6. SSR ve ITAP Verilerinin Değerlendirilmesi

SSR ve ITAP verilerinin değerlendirilmesi, Popgene (Yeh vd. 1999), GenAIEx (Peakall ve Smouse 2006), Genepop (Raymond ve Rousset 1995), Arlequin (Excoffier vd. 2005) ve Structure (Pritchard vd. 2000) programları ile yapılmıştır. SSR lokusları verilerine göre popülasyonların genetik çeşitlilik parametreleri Popgene ver. 1.32 kullanılarak hesaplanmıştır (Yeh vd. 1999). Gözlenen allel sayısı (na), bu allelerin büyüklük aralığı (bç), bu allelerin her birinin bulunma oranları hesaplanmış ve çalışılan lokusların Hardy-Weinberg denge analizleri (Ki-kare ve G-kare testleri) yapılmıştır. Nei (1987)’ye göre genetik çeşitlilik parametreleri olarak, etkili allel sayısı (Kimura ve Crow 1964; ne), Shannon bilgi indeksi (Lewontin 1972; I) değerleri, tüm popülasyonlar göz önüne alınarak her bir lokus ve tüm lokuslar göz önüne alınarak da her bir popülasyon için ortalamaları ve standart hatalarıyla birlikte hesaplanmıştır. Bunun yanında, Wright (1951)’e göre F-istatistiği parametreleri olan, soy içi üreme katsayısı (Fis), popülasyonların farklılaşma derecesi (Fst) ve Fit (Fiksasyon indeksi) değerleri tüm popülasyonlar hesaba katılarak her bir lokus için ortalama ve standart hataları ile birlikte bulunmuştur. Fst’den tahmin edilen gen akışı değeri (Nm), Levene (1949)’a göre gözlenen ve beklenen heterozigotluk oranları (H_e ve H_o), ve polimorfik lokus sayısı (Pls) ile yüzdesi (Ply) her bir lokus için ortalama ve standart hataları da dahil olmak üzere analiz edilmiştir.

Genepop (Raymond ve Rousset 1995; Rousset 2008) programı kullanılarak, popülasyonların birbirlerinden genetik olarak farklılaşma değerleri bakımından ikili

olarak karşılaştırılması amacıyla “Pair-wise Fst” değerleri Weir ve Cockerham (1984)’e göre hesaplanmıştır. İncelenen SSR lokuslarındaki gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olup olmadığı da aynı program kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analiz heterozigot eksikliği ve heterozigot fazlalığı olmak üzere iki farklı ve karşıt H1 hipotezine göre yapılmıştır. Ayrıca çalışılan SSR lokusları baz alınarak her bir popülasyonun Hardy-Weinberg Dengesi’nde olup olmadığı da Genepop programı aracılığıyla sınıanmıştır (Markov Chain parametreleri; dememoration 1000, batches 100 ve iteration per batch 1000).

Popgene programı kullanılarak ITAP verileri için de SSR verileri ile ortak ve benzer pek çok analiz yapılmıştır. Bunlardan ilki her bir primer çifti ile elde edilen lokus sayısı, primer çifti başına elde edilen ortalama lokus sayısı ve bu primer çiftleri ile elde edilen lokusların baz çifti biriminden büyüklük aralıkları, toplam lokus sayısı, polimorfik lokus sayısı ve yüzdesidir (Pls ve Ply). Nei (1987)’ye göre gözlenen allel sayısı (na), etkili allel sayısı (ne), Nei’nin (1973) gen çeşitliliği (h), Shannon bilgi indeksi (I) değerleri tüm lokuslar hesaba katılarak her bir popülasyon için ayrı ayrı ve tüm lokuslarla popülasyonların birlikte değerlendirilmesi şeklinde olmak üzere iki farklı biçimde hesaplanmıştır. Nei (1987)’ye göre popülasyon içinden kaynaklanan genetik çeşitlilik (Hs), toplam genetik çeşitlilik (Ht), popülasyonların farklılaşma derecesi (Gst) değerleri ile McDermott ve McDonald (1993)’e göre Gst değerinden elde edilen gen akış değeri (Nm) de bulunmuştur. Arlequin ver 3.5.2.2 (Excoffier vd. 2005) programı kullanılarak, popülasyonların birbirlerinden genetik olarak farklılaşma değerleri bakımından ikili olarak karşılaştırılması amacıyla Pair-wise Fst” değerleri, “ Distance Method” yöntemi ile hesaplanmıştır. Bunun yanında, SSR’lar için yapıldığı gibi ITAP’lar için de Nei (1972)’ye göre popülasyonlar arası genetik uzaklık değerleri de belirlenmiştir.

SSR ve ITAP verilerinden elde edilen Nei (1972) genetik uzaklık değerleri bakımından popülasyonlar ikili olarak karşılaştırılmıştır. Bu değerlerden yola çıkılarak “FigTree v.1.4.3” programı (Rambaut 2016) ile SSR ve ITAP verileri için ayrı ayrı UPGMA ağacı (dendrogram) oluşturulmuştur. “GenAlEx 6.503” programı (Peakall ve Smouse 2006) ile SSR ve ITAP lokuslarından elde edilen verilere göre AMOVA (Analysis of Molecular Variance), PCoA (Principal Coordinates Analysis) ve Mantel testi analizleri yapılmıştır. AMOVA analizi, var olan genetik çeşitliliğin popülasyon içi, popülasyonlar ve bölgeler arasında ne oranlarda dağıldığını görebilmek amacı ile yapılmıştır. Bu şekilde, 456 birey, 19 popülasyon ve 3 bölge F-İstatistiği’ne göre 999 permutasyonlu olacak şekilde analiz edilmiştir. AMOVA analizlerinde dış gruplar (*J. polycarpus* ve *J. foetidissima*) hesaba katılmamıştır. Bu sözü geçen üç bölge doğu, batı ve kuzey popülasyonlarını kapsayacak şekilde oluşturulmuştur. Doğu bölgesi popülasyonları; Adana-Pozantı, Mersin-Tarsus, Mersin-Mut, Konya-Hadim ve Antalya-Gündoğmuş, batı bölgesi popülasyonları; Antalya-Termessos, Antalya-Elmalı, Muğla-Seydikemer, Denizli-Acıpayam, Denizli-Beyağaç, Aydın-Efeler, Burdur-Bucak, Isparta-Senirkent ve Afyon-Sandıklı, son olarak da kuzey bölgesi popülasyonları; Eskişehir-Seyitgazi, Eskişehir-Mihalıççık, Ankara-Beypazarı, Karabük-Eskipazar ve Sinop-Boyabat’tır.

PCoA analizi yapılırken hem ITAP hem de SSR lokusları bakımından popülasyonların birbirlerine olan genetik uzaklık verileri ve Pair-wise Fst verileri kullanılmıştır. Böylece, dört farklı veri seti ile yapılan PCoA analizi ile popülasyonların birbirleriyle olan genetik uzaklıklarına göre koordinat eksenlerinde nasıl

konumlandıklarını ve aynı bölgelerde bulunan popülasyonların birbiriyle kümeleşme eğiliminde olup olmadığını görebilmek; bu şekilde popülasyonlar arasındaki genetik izolasyonun ipuçlarını yakalayabilmek hedeflenmiştir.

Eldeki veri setleri kullanılarak yapılan bir diğer analiz de Mantel Testi'dir (Mantel 1967; Sokal 1979). Mantel Testi analizlerinde ise popülasyonlar arasında kilometre cinsinden uzaklığa bağlı olarak ortaya çıkan genetik izolasyonun derecesini tespit etmek hedeflenmiştir. Tıpkı PCoA analizinde olduğu gibi Mantel Testi analizinde hem ITAP hem de SSR lokusları için popülasyonların birbirlerine olan genetik uzaklık ve Pair-wise Fst verileri ile Çizelge 3.3'te görülen popülasyonların her birinin arasındaki kuş uçuşu uzaklık (km) verileri kullanılmıştır. Dört farklı veri seti ile yapılan Mantel testleri 99 permutasyonlu olarak yapılmış olup bulunan korelasyonun istatistiksel olarak %5'lik yanılma düzeyine göre önemli olup olmadığını belirten olasılık (P) değeri hesaplanmıştır. Mantel testi analizleri de yalnızca *J. excelsa* popülasyonları için yapılmış olup dış gruplar (*J. polycarpus* ve *J. foetidissima*) analize dahil edilmemiştir.

SSR ve ITAP verileri kullanılarak, popülasyonların yapısı ve birbirleri ile olan yakınlığı "Structure 2.3.4" programı (Pritchard vd. 2000) ile Bayesian yaklaşımının MCMC (Markov Chain Monte Carlo) algoritmasına göre analiz edilmiştir (Burn-in period 5000, replication 50,000 ve iteration 10). Bu analizde en uygun grup sayısı (K), Structure Harvester (Earl ve vonHoldt 2012) programı üzerinden Evanno vd. (2005) ve Jakobsson ve Rosenberg (2007)'nin yaklaşımları uygulanarak belirlenmiştir. Analiz sonuçları, uygun K değerinin gösteren K -Delta grafikleri ile birlikte, "Structure" programı tarafından verilen; K gruplarının popülasyonlar içerisindeki dağılımını gösteren grafik şeklindeki çıktısı alınarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Toprak Analizleri

Her bir popülasyondan alınmış olan toprak örneklerinin analizinde bakılan başlıca parametreler pH, elektriksel iletkenlik (EC), kireç (CaCO_3), kum, kil, mil ve organik madde yüzdeleri, ppm biriminden fosfor (P), magnezyum (Mg), potasyum (K), kalsiyum (Ca), demir (Fe), manganez (Mn), çinko (Zn) ve bakır (Cu) miktarları Çizelge 4.1’de görüldüğü gibidir.

Çizelge 4.1. Çalışılan popülasyonlardan alınan toprak örneklerinin analiz sonuçları

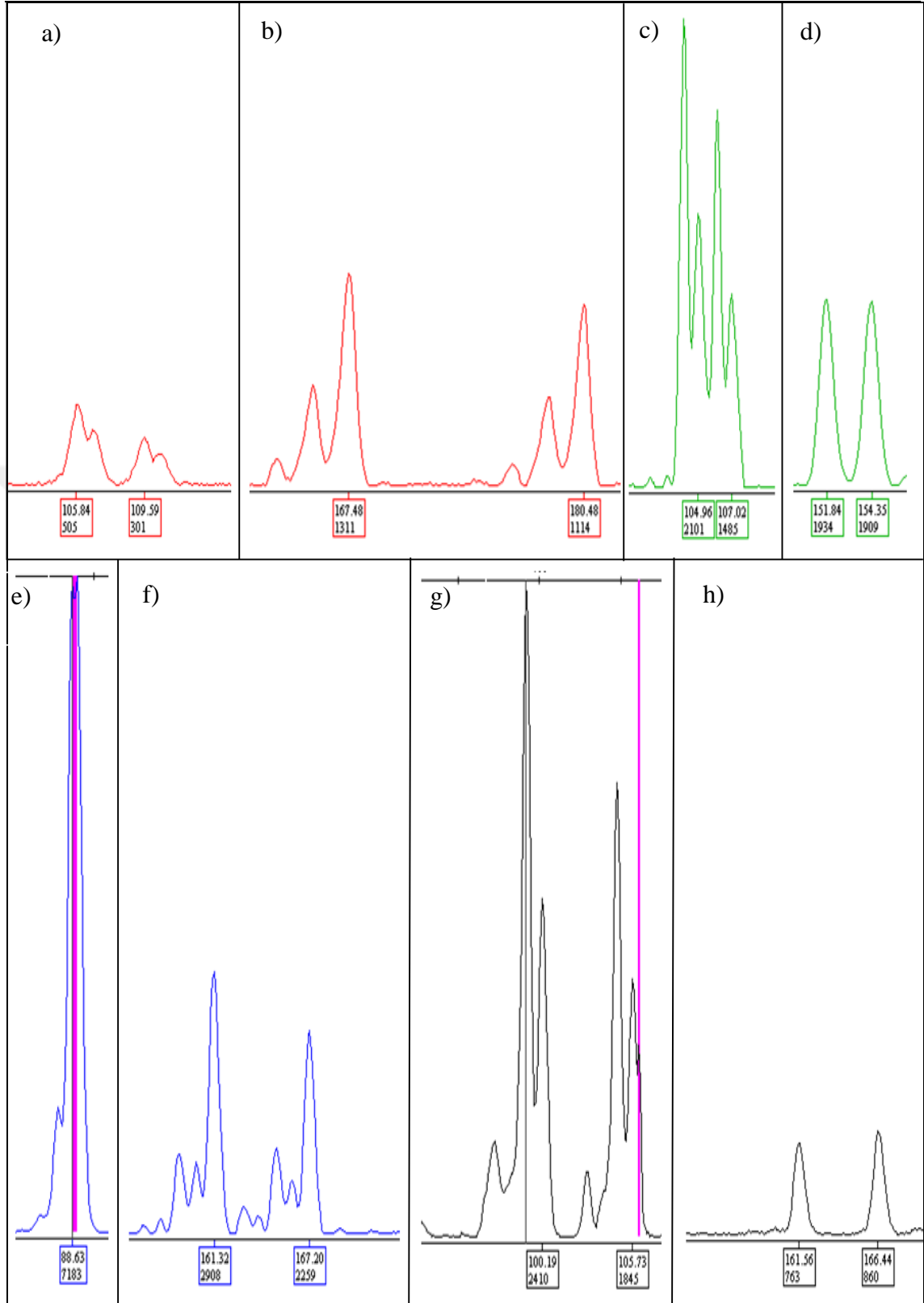
Pop.	pH	EC (mS/cm)	CaCO_3	Kum	Kil	Mil	Organik madde	P	Mg	K	Ca	Fe	Mn	Zn	Cu
Adana Pozantı	7.9	0.196	11.7	70	7.6	22	0.8	6	1038	66	7456	9.9	6.2	0.4	2.6
Afyon Sandıklı	7.9	0.113	0.8	62	5.6	32	0.8	11	35	64	1326	4.5	4.0	0.6	0.5
Ankara Beypazarı	7.5	2.2	5.5	69	11	20	3.0	22	556	567	4587	8.7	8.9	1.5	0.5
Antalya Elmalı	7.4	0.275	1.1	71	11	18	0.5	6	116	116	4931	19.3	15.8	0.7	4.2
Antalya Gündoğmuş	7.4	0.381	8.4	49	19	32	3.5	19	125	263	8030	27.3	14.0	1.2	1.6
Antalya Termessos	7.0	0.984	30.4	65	11	24	9.2	76	411	483	8315	27.3	15.6	5.0	1.7
Aydın Efeler	7.7	0.240	9.8	35	15	50	1.5	7	120	12	2867	4.2	15.0	0.4	0.6
Burdur Bucak	7.6	0.236	19.5	59	13	28	1.5	7	181	112	8539	13.6	13.4	0.2	1.5
Denizli Acıpayam	7.5	0.131	0.5	49	21	30	1.0	6	147	70	6409	14.4	16.1	0.4	1.2
Denizli Beyazağaç	7.3	0.489	5.8	42	22	36	10.2	27	200	504	7925	20.0	22.0	1.6	1.4
Eskişehir Mihalıççık	8.0	0.168	32.6	45	17	38	1.5	8	409	189	4769	7.5	6.1	0.2	1.3
Eskişehir Seyitgazi	7.6	0.361	9.4	47	25	28	2.3	9	1038	415	6709	8.9	8.2	0.3	1.6
Gümüşhane Torul	8.0	0.162	8.6	72	5.6	22	0.8	14	309	132	4687	3.4	6.9	0.6	1.2
Isparta Senirkent	7.7	0.248	17.1	49	21	30	3.2	14	1039	263	5052	14.	8.8	0.6	1.0
Karabük Eskipazar	7.2	4.64	8.6	76	12	12	1.9	9	259	155	15594	4.8	16.6	0.2	1.0
Konya Hadim	7.5	0.161	0.6	62	12	26	2.8	7	127	208	6927	6.6	12.7	0.7	1.7
Mersin Mut	7.6	0.263	60.8	64	12	24	1.3	10	85	64	5270	6.2	4.0	0.3	0.8
Mersin Tarsus	8.0	0.141	55.3	56	7.6	36	1.1	6	81	60	5210	5.2	3.4	0.1	0.4
Muğla Seydikemer	7.4	0.094	0.8	56	22	22	1.5	9	81	230	3522	12.4	22.8	0.4	2.0
Sinop Boyabat	8.0	0.213	16.4	42	14	44	2.0	6	407	167	4559	9.2	4.2	0.1	1.2

Çizelge 3.1'e göre; toprakların ölçülen pH değeri 7.0 ile 8.0 arasında değişmektedir. Bu değer bakımından en yüksek olan popülasyonlar 8.0 ile Eskişehir-Mihalıççık, Gümüşhane-Torul, Mersin-Tarsus ve Sinop-Boyabat, en düşük olan ise 7.0 ile Antalya-Termessos'tur. Elektriksel iletkenlik (EC) değeri en yüksek olan Karabük-Eskipazar (4.64 mS/cm), en düşük olan ise Muğla-Seydikemer (0.094 mS/cm) olmuştur. Kalsiyum karbonat (CaCO₃) yüzdesi en yüksek olanın Mersin-Mut (%60.8), en düşük olanın ise Denizli-Acıpayam (%0.5) olduğu görülmüştür. Bünye analizlerinde; kum yüzdesi en yüksek olan Karabük-Eskipazar (%76) ve en düşük olan Aydın-Efeler (%35), kil yüzdesi en yüksek olan Eskişehir-Seyitgazi (%25) ve en düşük olan Gümüşhane-Torul (%5.6) ile Afyon-Sandıklı (%5.6), mil yüzdesi ise en yüksek olan Aydın-Efeler (%50) ve en düşük olan ise Karabük-Eskipazar'dır (%12). Organik madde yüzdesi en yüksek Denizli-Beyağaç'ta (%10.2), en düşük Antalya-Elmalı'da (%0.5) ölçülmüştür. Fosfor (P) miktarı en yüksek olanın Antalya-Termessos (76 ppm), en düşük olanların ise Adana-Pozantı (6 ppm), Antalya-Elmalı (6 ppm), Denizli-Acıpayam (6 ppm), Mersin Tarsus (6 ppm) ve Sinop-Boyabat (6 ppm) olduğu görülmüştür. Magnezyum (Mg) miktarı en yüksek olan Isparta-Senirkent (1039 ppm), en düşük olan ise Afyon-Sandıklı (35 ppm) olmuştur. Potasyum (K) miktarı en yüksek olan Ankara-Beypazarı (567 ppm), en düşük olan ise Aydın-Efeler'dir (12 ppm). Kalsiyum (Ca) miktarı en yüksek Karabük-Eskipazar'da (15,594 ppm), en düşük ise Afyon-Sandıklı'da (1326 ppm) ölçülmüştür. Demir (Fe) miktarı en yüksek olanın Antalya-Gündoğmuş (27.3 ppm) ve Antalya-Termessos (27.3 ppm), en düşük olanın ise Gümüşhane-Torul (3.4 ppm) olduğu görülmüştür. Manganez (Mn) miktarı en yüksek olan Muğla-Seydikemer (22.8 ppm), en düşük olan ise Mersin-Tarsus (3.4 ppm) olmuştur. Çinko (Zn) miktarı en yüksek olan Antalya-Termessos (5 ppm), en düşük olanlar ise Mersin Tarsus (0.1 ppm) ve Sinop-Boyabat'tır (0.1 ppm). Son olarak, bakır (Cu) miktarı en yüksek olanın Antalya-Elmalı (4.2 ppm), en düşük olanın ise Mersin-Tarsus (0.4 ppm) olduğu bulunmuştur.

4.2. SSR Analizleri

Fragment analizleri yapılmış toplam sekiz SSR lokusundan (Jc037, Jc166, JT02, JT33, JT34, JT37, JT38 ve JT40) elde edilen allel örüntüleri "Materyal-Metot" başlığı altında ayrıntılarıyla anlatıldığı gibi analiz edilmiştir.

Buna göre elde edilen ilk bulgu, JT34 lokusunun monomorfik olduğu; yani yalnızca bir lokus ve allel gözleendiği olmuştur. Bu nedenle bu lokusun ileri analizlerde bir ağırlığı olmamıştır. Şekil 4.1'de görüldüğü gibi Çizelge 3.4'ten referans alınan allel büyüklük aralığı içinde veya bu aralığa yakın büyüklüğe sahip olan ve belirli özgül biçimler gösteren bantların ilgili lokuslardaki özgül alleller olduğuna karar verilmiştir. Şekil 4.1'deki kırmızı renkli pikler PET ile işaretli JT40 ve JT33, yeşil renkli pikler VIC ile işaretli JT38 ve Jc166, mavi renkli pikler FAM ile işaretli JT34 ve Jc037 ve siyah renkli pikler ise NED ile işaretli JT38 ve JT02 lokuslarının özgül allel örüntülerini göstermektedir.



Şekil 4.1. Sekiz SSR lokusunda gözlenen özgül allel örüntüsü. a) JT40; b) JT33; c) JT37; d) Jc166; e) JT34; f) Jc037; g) JT38; h) JT02.

İncelenen sekiz SSR lokusunun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıkları analiz edilmiştir. Bunu ortaya çıkarabilmek için Popgene programı bünyesinde Ki-Kare ve G-Kare testleri uygulanmış ve bu testlerin sonuçlarına göre; JT02, JT37 ve JT38 lokuslarının Hardy-Weinberg Dengesi'nde olduğu ($P \geq 0.05$); ancak Jc037, Jc166, JT33 ve JT40 lokuslarının ise bu dengeden önemli ölçüde sapma gösterdiği ($P < 0.01$) istatistiksel olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Bu çizelgede her bir lokustaki allel bileşimlerinden ortaya çıkan beklenen/gözlenen genotip sayıları, serbestlik dereceleri (df), Ki-kare ve G-kare değerleri ve P (probability, önemlilik düzeyi) değerleri verilmiştir. Bunun yanında Genepop programı ile yapılan analizlerde, tüm lokuslar göz önüne alınarak popülasyonlar değerlendirildiğinde hiçbir popülasyonun Hardy-Weinberg Dengesi'nde olmadığı bulunmuştur ($P < 0.05$).

Çizelge 4.2. Çalışılan SSR lokuslarının Hardy-Weinberg Denge analizi sonuçları

Lokus Adı	Beklenen Genotip Sayısı	Gözlenen Genotip Sayısı	Serbestlik Derecesi	Ki-Kare/=P Değeri	G-Kare/=P Değeri
Jc037	351	137	325	1940.9/<0.01	800.1/<0.01
Jc166	66	25	55	1176.59/<0.01	158.37/<0.01
JT02	6	3	3	0.13/=0.99	0.26/=0.97
JT33	435	189	406	1124.23/<0.01	705.34/<0.01
JT37	6	5	3	1.93/=0.59	1.97/=0.58
JT38	55	30	45	32.52/=0.92	30.99/=0.94
JT40	21	17	15	88.92/<0.01	45.88/<0.01

Çalışma kapsamında analiz edilen her bir lokus, bu lokuslarda gözlenen allel aralığı, allelerin baz çifti bakımından büyükük aralığı ve mikrosatellit tekrar motifleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Ayrıca, bu lokuslarda gözlenen alellerle ve her bir allelin bulunma oranları Çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Çalışılan SSR lokuslarında gözlenen alleller, büyüklükleri ve tekrar motifleri

Lokuslar	Gözlenen Allel Aralığı	Gözlenen Allel Büyüklük Aralığı (bç)	Tekrar Motifi
Jc037	A-Z	147-201	(TG) ₉ -(AG) ₂₂
Jc166	A-K	144-164	(TG) ₁₄
JT02	A-C	160-167	(GAA) ₈
JT33	A-Z, a-c	153-217	(CT) ₁₁
JT34	A	89	(AG) ₁₂
JT37	A-C	105-109	(GT) ₁₄
JT38	A-J	98-116	(AC) ₁₄
JT40	A-F	104-116	(CA) ₂₀

Çizelge 4.4. Çalışılan SSR lokuslarında gözlenen allellerin bulunma oranları

Allel/Lokus	Jc037	Jc166	JT02	JT33	JT34	JT37	JT38	JT40
Allel A	0.006	0.003	0.012	0.006	1.000	0.655	0.006	0.042
Allel B	0.001	0.003	0.005	0.008	-	0.336	0.014	0.102
Allel C	0.001	0.002	0.983	0.020	-	0.010	0.029	0.678
Allel D	0.003	0.001	-	0.015	-	-	0.114	0.145
Allel E	0.003	0.248	-	0.017	-	-	0.390	0.024
Allel F	0.059	0.223	-	0.033	-	-	0.356	0.011
Allel G	0.081	0.397	-	0.012	-	-	0.067	-
Allel I	0.073	0.065	-	0.038	-	-	0.003	-
Allel H	0.073	0.051	-	0.050	-	-	0.020	-
Allel J	0.097	0.005	-	0.059	-	-	0.001	-
Allel K	0.049	0.002	-	0.048	-	-	-	-
Allel L	0.056	-	-	0.043	-	-	-	-
Allel M	0.057	-	-	0.068	-	-	-	-
Allel N	0.101	-	-	0.065	-	-	-	-
Allel O	0.073	-	-	0.068	-	-	-	-

(Devamı arkada)

Çizelge 4.4.'ün devamı

Allel P	0.083	-	-	0.071	-	-	-	-
Allel Q	0.046	-	-	0.091	-	-	-	-
Allel R	0.026	-	-	0.057	-	-	-	-
Allel S	0.032	-	-	0.051	-	-	-	-
Allel T	0.016	-	-	0.035	-	-	-	-
Allel U	0.013	-	-	0.042	-	-	-	-
Allel V	0.016	-	-	0.020	-	-	-	-
Allel W	0.011	-	-	0.027	-	-	-	-
Allel X	0.012	-	-	0.010	-	-	-	-
Allel Y	0.005	-	-	0.017	-	-	-	-
Allel Z	0.006	-	-	0.009	-	-	-	-
Allel a	-	-	-	0.014				
Allel b	-	-	-	0.005				
Allel c	-	-	-	0.004				

SSR analizlerinde Nei (1987)'ye göre genetik çeşitlilik bulguları olan gözlenen, allel sayısı (na), etkili allel sayısı (ne) ve Shannon bilgi indeksi değerleri bakımından Çizelge 4.5'te lokuslar ve aynı parametreler yanında, polimorfik lokus sayısı/yüzdesi ile gözlenen/beklenen heterozigotluk değerleri bakımından Çizelge 4.6'da da popülasyonlar karşılaştırılmıştır. Ayrıca, bu iki çizelgenin son satırında da aritmetik ortalamalar ile standart hatalar verilmiştir.

Çizelge 4.5. Çalışılan SSR lokuslarındaki gözlenen allel sayıları (na), etkili allel sayıları (ne) ve Shannon bilgi indeksi (I) değerleri

Lokuslar	Gözlenen Allel Sayısı (na)	Etkili Allel Sayısı (ne)	Shannon Bilgi İndeksi Değeri (I)
Jc037	26	15.08	2.86
Jc166	11	3.63	1.47
JT02	3	1.03	0.1
JT33	29	19.58	3.12
JT37	3	1.85	0.69
JT38	10	3.36	1.46
JT40	6	2.03	1.05
Ort. ± SH*	11.13 ± 0.35	5.95 ± 0.24	1.34 ± 0.04

*Ort.: Aritmetik ortalama, SH: Standart Hata

Çizelge 4.6. Çalışılan popülasyonların SSR lokusları bakımından genetik çeşitlilik parametreleri (na: Gözlene allel sayısı, ne: Etkili allel sayısı, I: Shannon bilgi indeksi, Pls: Polimorfik lokus sayısı, Ply: Polimorfik lokus yüzdesi, Ho: Gözlenen heterozigotluk, He: Beklenen heterozigotluk ve SH: Standart hata)

Popülasyonlar	Birey sayısı	(na) ± SH	(ne) ± SH	(I) ± SH	(Pls)/(Ply)	(Ho) ± SH	(He) ± SH
Adana-Pozantı	24	6.125 ± 0.818	4.170 ± 0.601	1.160 ± 0.138	7/87.5	0.462 ± 0.040	0.534 ± 0.051
Afyon-Sandıklı	24	5.875 ± 0.840	3.737 ± 0.502	1.091 ± 0.138	6/75	0.408 ± 0.038	0.506 ± 0.052
Ankara-Bey pazarı	24	6.625 ± 0.951	4.179 ± 0.577	1.190 ± 0.143	6/75	0.458 ± 0.043	0.536 ± 0.053
Antalya-Elmalı	24	6.125 ± 0.777	3.275 ± 0.380	1.095 ± 0.128	7/87.5	0.458 ± 0.045	0.501 ± 0.050
Antalya-Gündoğmuş	24	6.750 ± 0.875	4.256 ± 0.535	1.251 ± 0.137	7/87.5	0.441 ± 0.037	0.568 ± 0.051
Antalya-Termessos	24	6.375 ± 0.816	4.033 ± 0.565	1.138 ± 0.141	6/75	0.446 ± 0.043	0.512 ± 0.053
Aydın-Efeler	24	6.625 ± 1.043	5.133 ± 0.902	1.162 ± 0.161	7/87.5	0.448 ± 0.050	0.495 ± 0.056
Burdur-Bucak	24	6.500 ± 0.926	4.451 ± 0.664	1.188 ± 0.145	6/75	0.471 ± 0.046	0.537 ± 0.053
Denizli-Acıpayam	24	7.000 ± 0.858	4.666 ± 0.664	1.264 ± 0.145	7/87.5	0.492 ± 0.047	0.559 ± 0.054
Denizli-Beyağaç	24	6.125 ± 0.883	3.784 ± 0.614	1.090 ± 0.141	6/75	0.443 ± 0.047	0.500 ± 0.053

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.6'nın devamı.

Popülasyonlar	Birey sayısı	(na) ± SH	(ne) ± SH	(I) ± SH	(Pls)/(Ply)	(Ho) ± SH	(He) ± SH
Eskişehir-Mihalıççık	24	7.125 ± 0.986	4.630 ± 0.691	1.215 ± 0.151	6/75	0.392 ± 0.037	0.529 ± 0.054
Eskişehir-Seyitgazi	24	5.875 ± 0.808	4.302 ± 0.646	1.148 ± 0.140	7/87.5	0.446 ± 0.041	0.530 ± 0.051
Isparta-Senirkent	24	6.000 ± 0.876	4.001 ± 0.633	1.046 ± 0.145	6/75	0.347 ± 0.039	0.472 ± 0.054
Karabük-Eskipazar	24	6.250 ± 0.844	4.527 ± 0.649	1.203 ± 0.146	6/75	0.491 ± 0.047	0.539 ± 0.055
Konya-Hadim	24	6.125 ± 0.886	3.945 ± 0.592	1.090 ± 0.147	6/75	0.448 ± 0.050	0.492 ± 0.055
Mersin-Mut	24	7.125 ± 0.829	4.553 ± 0.623	1.279 ± 0.140	7/87.5	0.482 ± 0.041	0.563 ± 0.051
Mersin-Tarsus	24	6.125 ± 0.700	3.376 ± 0.442	1.098 ± 0.123	7/87.5	0.468 ± 0.043	0.508 ± 0.046
Muğla-Seydikemer	24	6.750 ± 1.002	4.414 ± 0.677	1.175 ± 0.149	6/75	0.438 ± 0.048	0.516 ± 0.055
Sinop Boyabat	24	6.625 ± 0.929	5.013 ± 0.748	1.265 ± 0.150	6/75	0.501 ± 0.046	0.562 ± 0.054
<i>J. polycarpus</i>	10	3.375 ± 0.612	2.531 ± 0.395	0.808 ± 0.170	5/62.5	0.406 ± 0.090	0.446 ± 0.087
<i>J. foetidissima</i>	6	4.125 ± 0.906	3.285 ± 0.700	1.008 ± 0.240	6/75	0.417 ± 0.089	0.540 ± 0.110

Çizelge 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5'ten anlaşılacağı üzere en çok gözlenen genotip, gözlenen allel, etkili allel sayıları ve bir genetik çeşitlilik indeksi olan "I" değeri yüksek lokus JT33 olmuştur. Bu parametreler bakımından en düşük sayısal değerler ise JT02 lokusunda gözlenmiştir. Ayrıca Çizelge 4.3'de gözlenen allel büyüklük aralığı da en geniş olan lokus yine JT33 olmuştur (217-153=64 bç).

Çizelge 4.5'te verilen sekiz SSR lokusunda gözlenen allellerin toplam sayısı 89 olarak bulunmuştur. İncelenen sekiz lokusun yedisinin polimorfik olduğu göz önüne alındığında; polimorfik lokus oranı %87.5 olmuştur. JT34 ise monomorfik bir lokus olup burada yalnızca 89 bç uzunluğunda bir allel gözlenmiştir. Bunun yanında az sayıda, popülasyonlara özgü allel (altı adet) de gözlenmiştir. Bunlar; Jc037 lokusunda 153 ve 155 bç (Karabük-Eskipazar), Jc166 lokusunda 144 bç (*J. foetidissima*) ve 150 bç (Muğla-Seydikemer), JT38 lokusunda da 114 ve 116 bç (Mersin-Mut) allelleridir. Diğer lokuslarda ise herhangi bir popülasyona özgü allel gözlenmemiştir.

Çizelge 4.6'da görüldüğü üzere *J. excelsa* popülasyonları bazında gözlenen allel sayısı (na) 5.875 ile en düşük popülasyonlar Afyon-Sandıklı ve Eskişehir-Seyitgazi, etkili allel sayısı (ne) en düşük popülasyon 3.275 ile Antalya-Elmalı, Shannon bilgi indeksi değeri (I) en düşük olan popülasyon ise 1.046 ile Isparta-Senirkent olmuştur. Öte yandan, gözlenen allel sayısı (na) 7.125 ile en yüksek popülasyonlar Eskişehir-Mihalıççık ve Mersin-Mut, etkili allel sayısı (ne) en yüksek popülasyonun 5.133 ile Aydın-Efeler, Shannon bilgi indeksi değeri (I) en yüksek olan popülasyonun ise 1.279 ile Mersin-Mut olduğu görülmüştür. Ayrıca, bütün popülasyonlarda gözlenen heterozigotluk değerinin beklenen heterozigotluk değerinden daha düşük olduğu bulunmuştur. Gözlenen heterozigotluk değerinin (H_o) en düşük olduğu popülasyon 0.347 ile Isparta-Senirkent; en yüksek olduğu popülasyon ise 0.501 ile Sinop-Boyabat'tır. Bunun yanında, en düşük beklenen heterozigotluk değerinin (H_e) 0.472 ile Isparta-Senirkent popülasyonunda, en yüksek ise 0.568 ile Antalya-Gündoğmuş popülasyonunda olduğu gözlenmiştir.

Çalışılan yedi polimorfik SSR lokusunda gözlenen ve beklenen homozigotluk ile gözlenen ve beklenen heterozigotluk oranları, ortalamaları ve standart hataları Çizelge 4.7'de özetlenmiştir. Gözlenen ve beklenen heterozigotluk arasında JT02 lokusu için bir farklılık bulunmamışken JT37 ve JT38 lokuslarında gözlenen heterozigotluğun beklenenden az miktar yüksek olduğu görülmüştür. Ancak; gözlenen heterozigotluk değerinin beklenen değerden JT40 lokusunda bir miktar ve Jc037, Jc166 ve JT33 lokuslarında ise oldukça düşük olduğu bulunmuştur. Genepop programı ile yapılan analizlere göre ise JT02 ve JT38 lokusları için gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değilken ($P \geq 0.05$); Jc037, Jc166, JT33 ve JT40 lokusları için önemli ($P < 0,01$); diğer bir deyişle heterozigot eksikliği olduğu bulunmuştur. Bunun yanında; gözlenen heterozigotluğun beklenenden daha fazla olduğu JT38 lokusunda istatistiksel anlamda önemli bir heterozigot fazlalığı söz konusu değilken ($P=0.068$), JT37 lokusunda ise bu heterozigot fazlalığı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.01$).

Çizelge 4.7. Çalışılan SSR lokuslarında gözlenen ve beklenen homozigotluk ile heterozigotluk değerleri

Lokuslar	Gözlenen Homozigotluk	Gözlenen Heterozigotluk (Ho)	Beklenen Homozigotluk	Beklenen Heterozigotluk (He)
Jc037	0.392	0.609	0.065	0.935
Jc166	0.428	0.572	0.275	0.725
JT02	0.966	0.034	0.966	0.034
JT33	0.283	0.717	0.050	0.950
JT37	0.517	0.483	0.541	0.459
JT38	0.275	0.725	0.297	0.703
JT40	0.555	0.445	0.492	0.508
Ort. \pm SH*	0.552 \pm 0.009	0.448 \pm 0.009	0.461 \pm 0.012	0.539 \pm 0.012

*Ort.: Aritmetik ortalama, SH: Standart Hata

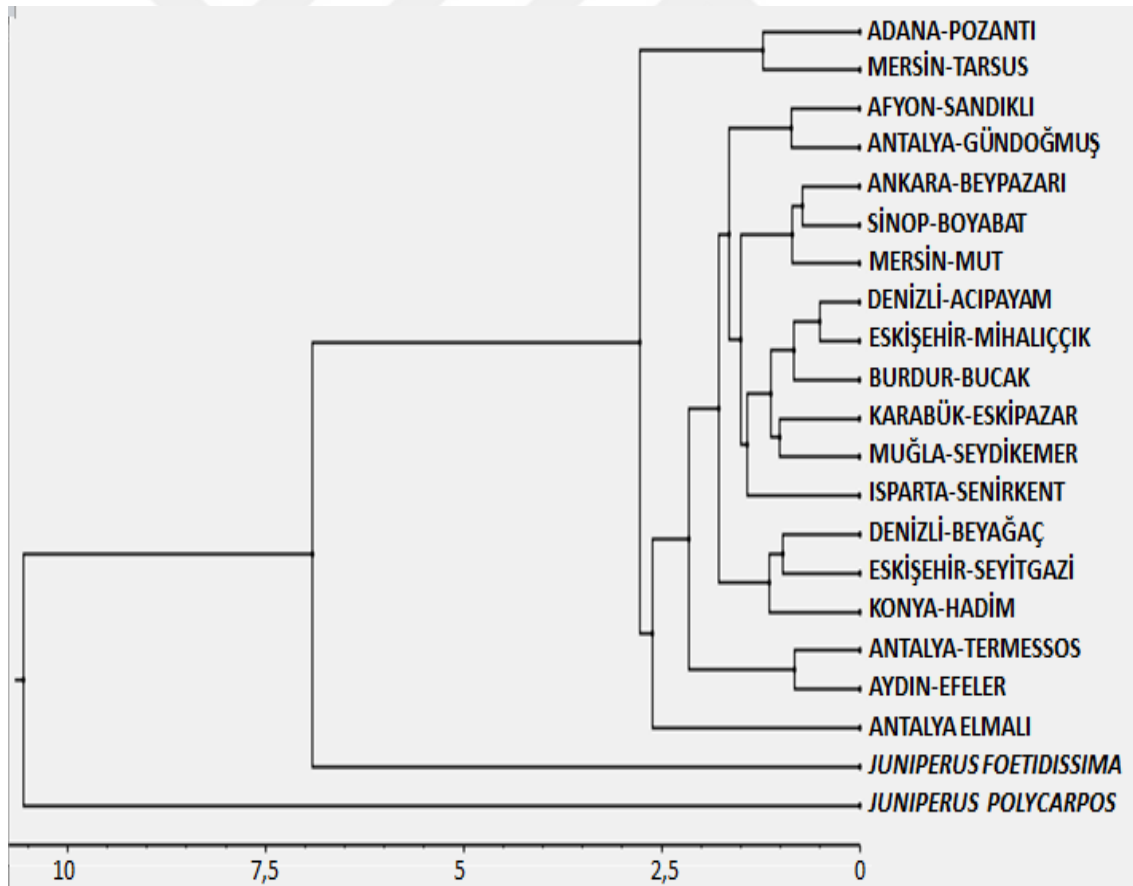
Polimorfik yedi lokustan elde edilen veriler kullanılarak popülasyonlardaki “Wright’ın F İstatistiği” analizi (Fis, Fst ve Fit) yapılmış ve Fst’den hesaplanan gen akışı (Nm) değerleri bulunmuştur. Tüm bu hesaplamalar Çizelge 4.8’de görüldüğü üzere her bir lokus için yapılmış ve ortalamaları alınmıştır. Fis değerinin en düşük olduğu lokuslar sıfırın altındaki değerleriyle sıfıra eşdeğer olan JT02, J37 ve J38 lokusları olmuştur. Aynı şekilde, Fst değeri en düşük olan lokusun yine JT02 (0.034) olduğu görülmüştür. Ayrıca, Fit değeri de sıfırın altında; yani en düşük olan lokuslar JT02, JT37 ve JT38’dir. Fis ve Fit değerleri en yüksek olan lokus Jc037 (sırasıyla 0.322 ve 0.353) olmuştur. En yüksek Fst değerine sahip lokusun ise JT37 (0.060) olduğu bulunmuştur. Gen akışı değeri (Nm) en düşük olan lokus 3.918 ile JT37 iken en yüksek olan lokus ise 7.211 ile JT02’dir.

Çizelge 4.8. Çalışılan SSR lokuslarının ayrı ayrı ve ortalama olarak F istatistiği ile gen akışı değerleri

Lokuslar	Fis	Fst	Fit	Nm
Jc037	0.322	0.050	0.353	5.188
Jc166	0.161	0.051	0.204	4.691
JT02	-0.049	0.034	-0.014	7.211
JT33	0.206	0.037	0.236	6.470
JT37	-0.131	0.060	-0.063	3.918
JT38	-0.070	0.034	-0.034	7.167
JT40	0.061	0.039	0.097	6.196
Ortalama	0.124	0.043	0.162	5.513

Çizelge 4.9’da popülasyonların birbirlerine olan genetik uzaklıkları Nei (1972)’ye göre hesaplanmış ve bu bakımdan popülasyonlar birbirleri ile ikili olarak karşılaştırılmıştır. Popülasyon çiftleri arasındaki genetik uzaklık değerleri kullanılarak UPGMA ağacı (dendrogram) hazırlanmıştır (Şekil 4.2). SSR dendrogramında en dıştan içe doğru sırası ile *J. polycarpus* ve *J. foetidissima* türleri ile *J. excelsa* popülasyonları yer almıştır. Çizelge 4.9’da görüldüğü gibi birbirine genetik uzaklık bakımından en uzak olanların 0.292 ile *J. polycarpus* ile *J. excelsa*’nın Mersin-Tarsus popülasyonu olduğu bulunmuştur. Genetik uzaklık bakımından 0.023 ile en yakın popülasyonların ise Denizli-Acıpayam ile Eskişehir-Mihalıççık popülasyonları olduğu görülmüştür.

SSR verileri kullanılarak popülasyonların genetik farklılaşma katsayısı (Fst) bakımından birbirleri ile ikili karşılaştırmaları da yapılmıştır. Popülasyon çiftleri arasındaki Fst değerleri Çizelge 4.10’da ikili olarak karşılaştırılmıştır. Buna göre bazı popülasyonlar arasında negatif; yani sıfıra eşdeğer Fst değerleri bulunmuştur. Bu ikili popülasyonlar; Burdur-Bucak ile Denizli-Acıpayam, Burdur-Bucak ile Eskişehir-Mihalıççık, Denizli-Acıpayam ile Eskişehir-Mihalıççık, Ankara-Beyşehir ile Mersin-Mut, Ankara-Beyşehir ile Sinop-Boyabat ve Eskişehir-Mihalıççık ile Muğla-Seydikemer’dir. En yüksek Fst değerinin ise 0.199 ile *J. polycarpus* ile *J. excelsa*’nın Mersin-Tarsus popülasyonu arasında olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.2. SSR verileri bakımından çalışılan popülasyonların Nei (1972)’ye göre genetik uzaklıklarını gösteren UPGMA ağacı

Çizelge 4.9. SSR verilerinden Nei (1972)'ye göre hesaplanmış genetik uzaklıklar bakımından popülasyonların ikili karşılaştırılmaları

Adana-Pozantı	Afyon-Sandıklı	Ankara-Beyazır	Antalya-Elmalı	Antalya-Gündoğmuş	Antalya-Termessos	<i>J. foetidissima</i>	Aydın-Efeler	Burdur-Bucak	Denizli-Acıpayam	Denizli-Beyağaç	Popülasyonlar
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Adana-Pozantı
0.056	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Afyon-Sandıklı
0.048	0.044	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Ankara-Beyazır
0.090	0.062	0.060	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Elmalı
0.067	0.029	0.047	0.064	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Gündoğmuş
0.082	0.034	0.052	0.064	0.053	****	****	****	****	****	****	Antalya-Termessos
0.149	0.152	0.157	0.207	0.168	0.161	****	****	****	****	****	<i>J. foetidissima</i>
0.080	0.045	0.058	0.067	0.071	0.027	0.172	****	****	****	****	Aydın-Efeler
0.042	0.040	0.031	0.059	0.045	0.041	0.173	0.050	****	****	****	Burdur-Bucak
0.062	0.037	0.037	0.053	0.035	0.033	0.159	0.051	0.029	****	****	Denizli-Acıpayam
0.051	0.050	0.041	0.073	0.065	0.068	0.155	0.070	0.038	0.048	****	Denizli-Beyağaç
0.054	0.037	0.034	0.045	0.043	0.035	0.169	0.044	0.029	0.023	0.041	Eskişehir-Mihalççık
0.036	0.039	0.044	0.074	0.048	0.055	0.145	0.074	0.043	0.035	0.031	Eskişehir-Seyitgazi
0.221	0.235	0.213	0.251	0.247	0.186	0.240	0.173	0.210	0.221	0.263	<i>J. polycarpus</i>
0.060	0.036	0.033	0.042	0.050	0.053	0.180	0.055	0.039	0.037	0.044	Isparta-Senirkent
0.045	0.045	0.043	0.061	0.054	0.040	0.175	0.037	0.035	0.035	0.060	Karabük-Eskipazar
0.045	0.043	0.037	0.085	0.059	0.061	0.131	0.073	0.050	0.049	0.036	Konya-Hadim
0.035	0.053	0.029	0.078	0.045	0.074	0.171	0.097	0.032	0.047	0.053	Mersin-Mut
0.036	0.093	0.051	0.090	0.082	0.126	0.197	0.129	0.054	0.079	0.068	Mersin-Tarsus
0.066	0.040	0.047	0.049	0.064	0.040	0.193	0.042	0.043	0.035	0.063	Muğla-Seydikemer
0.035	0.046	0.027	0.078	0.047	0.051	0.133	0.062	0.029	0.034	0.050	Sinop-Boyabat

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.9'un devamı.

Eskişehir-Mihalıççık	Eskişehir-Seyitgazi	<i>J. polycarpus</i>	Isparta-Senirkent	Karabük-Eskipazar	Konya-Hadim	Mersin-Mut	Mersin-Tarsus	Muğla-Seydikemer	Sinop-Boyabat	Popülasyonlar
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Adana-Pozantı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Afyon-Sandıklı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Ankara-Beypazarı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Elmalı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Gündoğmuş
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Termessos
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	<i>J. foetidissima</i>
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Aydın-Efeler
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Burdur-Bucak
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Denizli-Acıpayam
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Denizli-Beyağaç
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Eskişehir-Mihalıççık
0.035	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Eskişehir-Seyitgazi
0.223	0.278	****	****	****	****	****	****	****	****	<i>J. polycarpus</i>
0.027	0.040	0.239	****	****	****	****	****	****	****	Isparta-Senirkent
0.031	0.054	0.193	0.050	****	****	****	****	****	****	Karabük-Eskipazar
0.047	0.031	0.246	0.042	0.054	****	****	****	****	****	Konya-Hadim
0.047	0.041	0.262	0.047	0.053	0.044	****	****	****	****	Mersin-Mut
0.077	0.057	0.292	0.058	0.082	0.067	0.039	****	****	****	Mersin-Tarsus
0.028	0.061	0.186	0.042	0.032	0.064	0.063	0.104	****	****	Muğla-Seydikemer
0.043	0.040	0.187	0.053	0.036	0.036	0.031	0.061	0.053	****	Sinop-Boyabat

Çizelge 4.10. SSR lokus verilerinden hesaplanmış Pair-wise Fst değerleri bakımından popülasyonların ikili karşılaştırmaları

Adana-Pozantı	Afyon-Sandıklı	Ankara-Beypazarı	Antalya-Elmalı	Antalya-Gündoğmuş	Antalya-Termessos	<i>J. foetidissima</i>	Aydın-Efeler	Burdur-Bucak	Denizli-Acıpayam	Denizli-Beyağaç	Popülasyonlar
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Adana-Pozantı
0.026	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Afyon-Sandıklı
0.018	0.016	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Ankara-Beypazarı
0.056	0.035	0.031	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Elmalı
0.029	0.001	0.014	0.032	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Gündoğmuş
0.048	0.008	0.023	0.037	0.021	****	****	****	****	****	****	Antalya-Termessos
0.062	0.070	0.066	0.113	0.062	0.077	****	****	****	****	****	<i>J. foetidissima</i>
0.049	0.020	0.031	0.042	0.039	0.003	0.092	****	****	****	****	Aydın-Efeler
0.013	0.012	0.003	0.030	0.011	0.013	0.079	0.023	****	****	****	Burdur-Bucak
0.027	0.008	0.006	0.024	0.002	0.005	0.064	0.023	-0.0004	****	****	Denizli-Acıpayam
0.023	0.024	0.013	0.046	0.032	0.040	0.077	0.046	0.011	0.018	****	Denizli-Beyağaç
0.022	0.009	0.004	0.018	0.010	0.007	0.073	0.017	-0.0001	-0.01	0.013	Eskişehir-Mihalıççık
0.008	0.011	0.014	0.043	0.015	0.026	0.060	0.044	0.013	0.004	0.004	Eskişehir-Seyitgazi
0.144	0.161	0.134	0.173	0.149	0.127	0.141	0.125	0.138	0.139	0.183	<i>J. polycarpus</i>
0.034	0.012	0.009	0.020	0.023	0.029	0.099	0.033	0.015	0.012	0.021	Isparta-Senirkent
0.015	0.017	0.014	0.033	0.019	0.013	0.080	0.013	0.006	0.005	0.032	Karabük-Eskipazar
0.018	0.018	0.012	0.059	0.029	0.035	0.062	0.049	0.024	0.021	0.012	Konya-Hadim
0.006	0.022	-0.0001	0.043	0.009	0.039	0.069	0.060	0.002	0.018	0.023	Mersin-Mut
0.010	0.060	0.023	0.059	0.044	0.085	0.105	0.092	0.026	0.045	0.041	Mersin-Tarsus
0.034	0.014	0.018	0.023	0.029	0.014	0.096	0.017	0.015	0.006	0.035	Muğla-Seydikemer
0.006	0.017	-0.001	0.044	0.012	0.021	0.046	0.033	0.001	0.003	0.021	Sinop-Boyabat

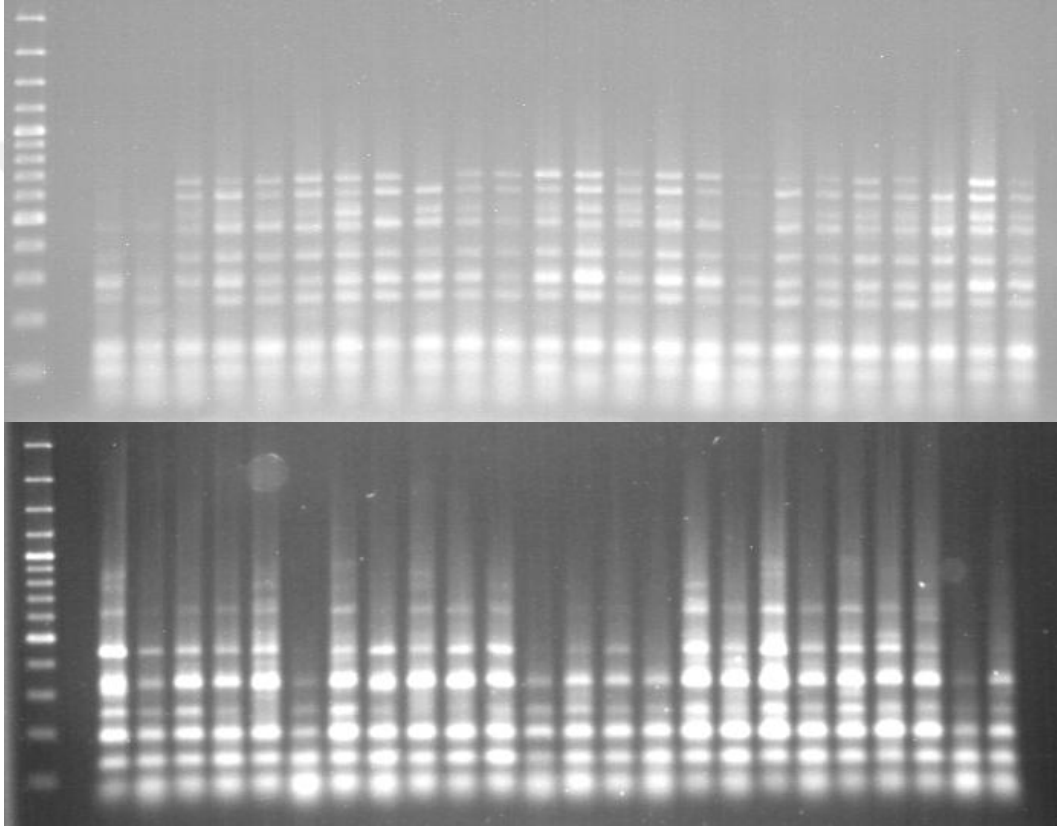
(Devamı Arkada)

Çizelge 4.10'un devamı.

Eskişehir-Mihalıççık	Eskişehir-Seyitgazi	<i>J. polycarpus</i>	Isparta-Senirkent	Karabük-Eskipazar	Konya-Hadim	Mersin-Mut	Mersin-Tarsus	Muğla-Seydikemer	Sinop-Boyabat	Popülasyonlar
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Adana-Pozantı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Afyon-Sandıklı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Ankara-Beyazıt
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Elmalı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Gündoğmuş
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Termessos
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	<i>J. foetidissima</i>
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Aydın-Efeler
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Burdur-Bucak
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Denizli-Acıpayam
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Denizli-Beyağaç
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Eskişehir-Mihalıççık
0.005	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Eskişehir-Seyitgazi
0.144	0.179	****	****	****	****	****	****	****	****	<i>J. polycarpus</i>
0.001	0.016	0.173	****	****	****	****	****	****	****	Isparta-Senirkent
0.002	0.023	0.125	0.025	****	****	****	****	****	****	Karabük-Eskipazar
0.019	0.006	0.174	0.020	0.027	****	****	****	****	****	Konya-Hadim
0.014	0.010	0.161	0.021	0.019	0.017	****	****	****	****	Mersin-Mut
0.044	0.029	0.199	0.035	0.049	0.041	0.012	****	****	****	Mersin-Tarsus
-0.0001	0.03	0.126	0.018	0.005	0.038	0.029	0.068	****	****	Muğla-Seydikemer
0.011	0.010	0.117	0.027	0.007	0.010	0.0004	0.030	0.022	****	Sinop-Boyabat

4.3. ITAP Analizleri

ITAP analizlerinde tüm popülasyonlar sekiz primer çifti ile taranarak toplamda 134 lokus gözlenmiştir. Bunlardan ikisi dışında geriye kalan 132 tanesinin polimorfik olduğu belirlenmiştir. Lokus sayıları 13 ile 21 arasında olup, en az lokus (13) elde edilen primer çifti Em1-ITPR5 iken, en çok lokus (21) elde edilen primer çifti Em26-ITPR3 olmuştur. ITAP jellerinden örnek iki resim Şekil 4.3'te görülmektedir. Tespit edilen polimorfik lokus yüzdesi 98.5 olarak belirlenmiştir. Monomorfik olan iki lokus ise; Em5-ITPR5, 225 bç ve Em19-ITPR2, 150 bç lokuslarıdır. Çizelge 4.11'de her bir primer çifti ile elde edilen lokus sayıları verilmiştir. Primer çifti başına elde edilen ortalama lokus sayısı ise 17 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.3. ITAP jellerinden örnek resimler (Yukarıdaki resim; Em19-ITPR2, Antalya-Elmalı'ya ve aşağıdaki resim Em21-ITPR1, Ankara-Beyşehir popülasyonuna aittir)

Genetik çeşitlilik parametreleri olarak gözlenen allel sayısı (n_a), etkili allel sayısı (n_e), Nei (1973)'ün genetik çeşitlilik katsayısı (h) ve Shannon bilgi indeksi (I) bulguları her bir *J. excelsa* popülasyonu için ayrı ayrı hesaplanmış ve Çizelge 4.12'de gösterilmiştir. Gözlenen allel sayısı (n_a), polimorfik lokus sayısı ve polimorfik lokus yüzdesi değerleri en düşük olan *J. excelsa* popülasyonu Adana-Pozantı (sırası ile; 1.313, 42, 31.34), en yüksek olan popülasyon ise Ankara-Beyşehir (sırası ile; 1.560, 75, 55.97) olmuştur. Etkili allel sayısı (n_e), Nei (1973) genetik çeşitliliği (h) ve Shannon bilgi indeksi (I) değerleri en düşük olan popülasyonun Denizli-Acıpayam (sırası ile 1.076, 0.051, 0.088) ve en yüksek olan popülasyonun ise Ankara Beyşehir (sırası ile 1.281, 0.166, 0.252) olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, gözlenen allel sayısı (n_a), etkili allel

sayısı (ne), Nei (1973) genetik çeşitliliği (h) ve Shannon bilgi indeksi (I) değerleri tüm popülasyonlar ve lokuslar hesaba katılacak şekilde (\pm) standart hatalarıyla birlikte hesaplanmıştır. Buna göre ortalamalar sırası ile gözlenen allel sayısı (na) için 1.985 (± 0.005), etkili allel sayısı (ne) için 1.220 (± 0.015), Nei (1973) genetik çeşitliliği (h) için 0.138 (± 0.007) ve Shannon bilgi indeksi (I) için ise 0.228 (± 0.011) olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.11. Çalışılan her bir ITAP primer çifti ile elde edilen lokus sayıları

Primer Çiftleri	Gözlenen Lokus Sayısı	Gözlenen Lokusun Büyüklük Aralığı (bp)
Em1-ITPR5	13	225-1050
Em5-ITPR4	14	150-850
Em5-ITPR5	16	150-1100
Em12-ITPR3	18	150-1100
Em19-ITPR2	17	150-1300
Em20-ITPR3	20	175-950
Em21-ITPR1	15	150-900
Em26-ITPR3	21	175-1300

Tüm lokus ve popülasyonlar hesaba katılarak Nei (1987)'ye göre yapılan hesaplamada; toplam popülasyonlar içi genetik çeşitlilik (H_s , \pm standart sapma) 0.107 (± 0.0008), toplam genetik çeşitlilik (H_t , \pm standart hata) 0.138 (± 0.001), bu değerlerden hesaplanan ve popülasyonlar arası farklılaşmanın bir oransal değeri olan G_{st} 0.225 ve popülasyonlar arası gen akışı (N_m) da 1.728 olarak bulunmuştur

SSR lokusları için yapıldığı gibi ITAP lokus verileri kullanılarak Nei (1972)'ye göre popülasyonlar arasındaki genetik uzaklıklar hesaplanmış ve bu bakımdan popülasyonlar arası genetik uzaklıklar Çizelge 4.13'te ikili olarak karşılaştırılmıştır. Buna göre; birbirlerine genetik olarak en uzak olanların Konya-Hadim ile Isparta-Senirkent (0.110) popülasyonları; birbirine genetik uzaklıkları en az olanların ise Antalya-Termessos ile Muğla-Seydikemer (0.010) popülasyonları olduğu görülmüştür. Ayrıca, genetik uzaklık verileri kullanılarak ITAP lokusları için bir UPGMA ağacı (dendrogram) da oluşturulmuştur (Şekil 4.4). Bu dendrogramın en dış kısmında Antalya-Elmalı ve Isparta-Senirkent popülasyonları yer almıştır. Dış gruplar olan *J. polycarpus* ve *J. foetidissima* türlerinin ise dendrogramın ikinci dış kısmında olacak şekilde birlikte gruplandırıldığı görülmüştür. Bunlara ek olarak, tıpkı SSR lokusları için yapıldığı gibi ITAP lokus verileri kullanılarak popülasyonlar arasındaki Pair-wise F_{st} değerleri hesaplanmış ve bu bakımdan popülasyonlar Çizelge 4.14'te ikili olarak karşılaştırılmıştır. Buna göre; birbirlerinden genetik olarak en çok farklılaşmış olanların Isparta-Senirkent ile Denizli-Acıpayam (0.582) popülasyonları; birbirinden genetik olarak en az farklılaşmış olanların ise Antalya-Termessos ile Muğla-Seydikemer (0.025) popülasyonları olduğu görülmüştür.

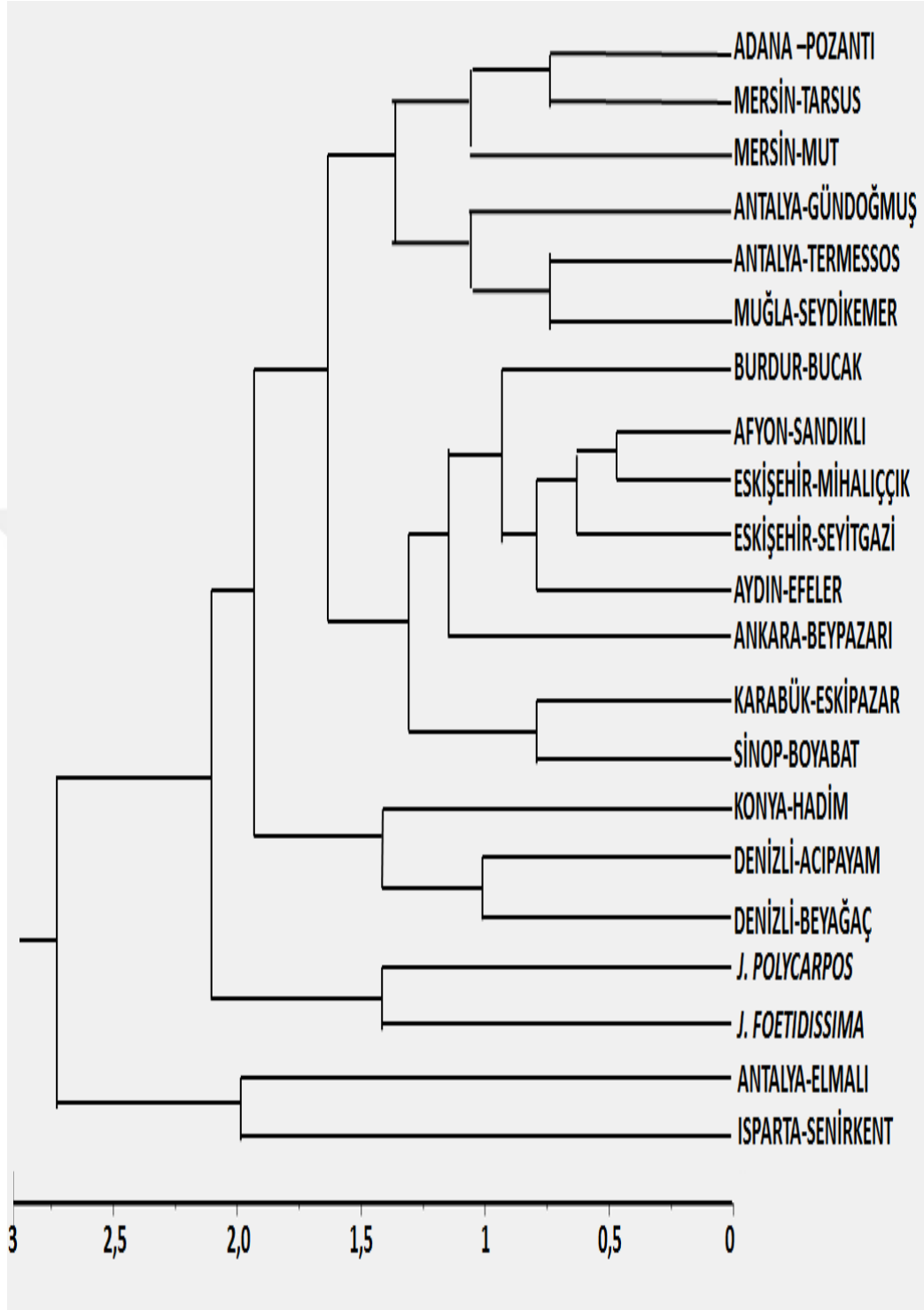
Çizelge 4.12. Çalışılan popülasyonların ITAP lokusları bakımından genetik çeşitlilik parametreleri (na: Gözlene allel sayısı, ne: Etkili allel sayısı, h: Nei (1973) genetik çeşitliliği I. Shannon bilgi indeksi, Pls: Polimorfik lokus sayısı, Ply: Polimorfik lokus yüzdesi ve SH: Standart hata)

Popülasyonlar	Birey sayısı	(na) ± SH	(ne) ± SH	(h) ± SH	(I) ± SH	(Pls)	(Ply)
Adana-Pozantı	24	1.313 ± 0.097	1.146 ± 0.062	0.086 ± 0.034	0.133 ± 0.049	42	31.34
Afyon-Sandıklı	24	1.373 ± 0.099	1.150 ± 0.058	0.092 ± 0.032	0.144 ± 0.047	50	37.31
Ankara-Bey pazarı	24	1.560 ± 0.102	1.281 ± 0.074	0.166 ± 0.039	0.252 ± 0.056	75	55.97
Antalya-Elmalı	24	1.381 ± 0.099	1.178 ± 0.064	0.107 ± 0.035	0.164 ± 0.051	51	38.06
Antalya-Gündoğmuş	24	1.343 ± 0.099	1.168 ± 0.066	0.098 ± 0.036	0.150 ± 0.051	46	34.33
Antalya-Termessos	24	1.381 ± 0.099	1.189 ± 0.066	0.112 ± 0.036	0.171 ± 0.052	51	38.06
Aydın-Efeler	24	1.321 ± 0.096	1.156 ± 0.062	0.092 ± 0.034	0.140 ± 0.049	43	32.09
Burdur-Bucak	24	1.448 ± 0.103	1.214 ± 0.072	0.125 ± 0.038	0.191 ± 0.055	60	44.78
Denizli-Acıpayam	24	1.351 ± 0.098	1.076 ± 0.041	0.051 ± 0.023	0.088 ± 0.034	47	35.07

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.12'nin devamı.

Popülasyonlar	Birey sayısı	(na) ± SH	(ne) ± SH	(h) ± SH	(I) ± SH	(Pls)	(Ply)
Denizli-Beyağaç	24	1.463 ± 0.102	1.173 ± 0.058	0.109 ± 0.033	0.173 ± 0.048	62	46.27
Eskişehir-Mihalıççık	24	1.508 ± 0.102	1.216 ± 0.066	0.131 ± 0.036	0.204 ± 0.052	68	50.75
Eskişehir-Seyitgazi	24	1.485 ± 0.102	1.227 ± 0.072	0.132 ± 0.038	0.203 ± 0.054	65	48.51
Isparta-Senirkent	24	1.418 ± 0.101	1.173 ± 0.062	0.105 ± 0.034	0.164 ± 0.049	56	41.79
Karabük-Eskipazar	24	1.448 ± 0.102	1.204 ± 0.069	0.120 ± 0.037	0.185 ± 0.052	60	44.78
Konya-Hadim	24	1.328 ± 0.096	1.121 ± 0.054	0.074 ± 0.030	0.118 ± 0.043	44	32.84
Mersin-Mut	24	1.351 ± 0.100	1.152 ± 0.063	0.090 ± 0.034	0.140 ± 0.049	47	35.07
Mersin-Tarsus	24	1.448 ± 0.104	1.189 ± 0.066	0.114 ± 0.036	0.177 ± 0.052	60	44.78
Muğla-Seydikemer	24	1.373 ± 0.104	1.201 ± 0.072	0.117 ± 0.039	0.176 ± 0.056	50	37.31
Sinop Boyabat	24	1.470 ± 0.102	1.195 ± 0.064	0.119 ± 0.035	0.185 ± 0.051	63	47.01
<i>J. polycarpus</i>	10	1.313 ± 0.147	1.112 ± 0.076	0.072 ± 0.043	0.116 ± 0.064	42	31.34
<i>J. foetidissima</i>	6	1.269 ± 0.182	1.135 ± 0.112	0.083 ± 0.063	0.128 ± 0.093	36	26.87



Şekil 4.4. ITAP verileri bakımından çalışılan popülasyonların Nei (1972)'ye göre genetik uzaklıklarını gösteren UPGMA ağacı

Çizelge 4.13. ITAP verilerinden, Nei (1972)'ye göre hesaplanmış genetik uzaklıklarına göre popülasyonların ikili karşılaştırılmaları

Adana-Pozantı	Afyon-Sandıklı	Ankara-Beyazır	Antalya-Elmalı	Antalya-Gündoğmuş	Antalya-Termessos	<i>J. foetidissima</i>	Aydın-Efeler	Burdur-Bucak	Denizli-Acıpayam	Denizli-Beyazır	Popülasyonlar
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Adana-Pozantı
0.028	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Afyon-Sandıklı
0.059	0.030	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Ankara-Beyazır
0.057	0.061	0.054	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Elmalı
0.024	0.023	0.057	0.060	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Gündoğmuş
0.030	0.030	0.049	0.032	0.017	****	****	****	****	****	****	Antalya-Termessos
0.029	0.036	0.058	0.058	0.046	0.043	****	****	****	****	****	<i>J. foetidissima</i>
0.031	0.023	0.028	0.044	0.041	0.034	0.026	****	****	****	****	Aydın-Efeler
0.047	0.024	0.024	0.046	0.044	0.034	0.047	0.022	****	****	****	Burdur-Bucak
0.037	0.027	0.070	0.094	0.026	0.042	0.054	0.045	0.053	****	****	Denizli-Acıpayam
0.037	0.028	0.049	0.072	0.033	0.036	0.047	0.033	0.030	0.019	****	Denizli-Beyazır
0.028	0.012	0.017	0.049	0.031	0.032	0.032	0.014	0.017	0.037	0.029	Eskişehir-Mihalççık
0.031	0.014	0.028	0.041	0.021	0.018	0.034	0.015	0.020	0.031	0.027	Eskişehir-Seyitgazi
0.041	0.036	0.066	0.087	0.047	0.057	0.027	0.035	0.057	0.044	0.048	<i>J. polycarpus</i>
0.086	0.068	0.037	0.042	0.079	0.051	0.087	0.052	0.027	0.107	0.069	Isparta-Senirkent
0.032	0.025	0.023	0.034	0.035	0.025	0.039	0.018	0.022	0.059	0.038	Karabük-Eskipazar
0.023	0.026	0.066	0.085	0.033	0.042	0.049	0.045	0.059	0.022	0.036	Konya-Hadim
0.020	0.025	0.048	0.048	0.031	0.028	0.033	0.023	0.042	0.039	0.032	Mersin-Mut
0.011	0.026	0.053	0.052	0.021	0.024	0.032	0.029	0.040	0.041	0.038	Mersin-Tarsus
0.027	0.026	0.036	0.029	0.020	0.010	0.035	0.025	0.032	0.045	0.036	Muğla-Seydikemer
0.051	0.047	0.029	0.031	0.062	0.039	0.047	0.021	0.029	0.087	0.061	Sinop-Boyabat

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.13'ün devamı

Eskişehir-Mihalççık	Eskişehir-Seyitgazi	<i>J. polycarpus</i>	Isparta-Senirkent	Karabük-Eskipazar	Konya-Hadim	Mersin-Mut	Mersin-Tarsus	Muğla-Seydikemer	Sinop-Boyabat	Popülasyonlar
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Adana-Pozantı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Afyon-Sandıklı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Ankara-Beypazarı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Elmalı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Gündoğmuş
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Termessos
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	<i>J. foetidissima</i>
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Aydın-Efeler
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Burdur-Bucak
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Denizli-Acıpayam
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Denizli-Beyağaç
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Eskişehir-Mihalççık
0.017	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Eskişehir-Seyitgazi
0.035	0.042	****	****	****	****	****	****	****	****	<i>J. polycarpus</i>
0.050	0.048	0.109	****	****	****	****	****	****	****	Isparta-Senirkent
0.015	0.020	0.056	0.035	****	****	****	****	****	****	Karabük-Eskipazar
0.037	0.039	0.041	0.110	0.054	****	****	****	****	****	Konya-Hadim
0.028	0.023	0.043	0.072	0.026	0.030	****	****	****	****	Mersin-Mut
0.025	0.024	0.046	0.078	0.025	0.035	0.019	****	****	****	Mersin-Tarsus
0.022	0.019	0.049	0.049	0.018	0.040	0.028	0.027	****	****	Muğla-Seydikemer
0.030	0.030	0.021	0.030	0.013	0.081	0.039	0.044	0.032	****	Sinop-Boyabat

Çizelge 4.14. ITAP verilerinden hesaplanmış Pair-wise Fsr değerlerine göre popülasyonların ikili karşılaştırılmaları

Adana-Pozantı	Afyon-Sandıklı	Ankara-Beypazarı	Antalya-Elmalı	Antalya-Gündoğmuş	Antalya-Termessos	<i>J. foetidissima</i>	Aydın-Efeler	Burdur-Bucak	Denizli-Acıpayam	Denizli-Beyağaç	Popülasyonlar
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Adana-Pozantı
0.207	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Afyon-Sandıklı
0.351	0.234	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Ankara-Beypazarı
0.412	0.364	0.270	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Elmalı
0.198	0.155	0.321	0.349	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Gündoğmuş
0.216	0.205	0.249	0.167	0.106	****	****	****	****	****	****	Antalya-Termessos
0.167	0.217	0.272	0.396	0.248	0.232	****	****	****	****	****	<i>J. foetidissima</i>
0.254	0.190	0.214	0.323	0.287	0.225	0.241	****	****	****	****	Aydın-Efeler
0.331	0.199	0.123	0.275	0.295	0.223	0.317	0.192	****	****	****	Burdur-Bucak
0.317	0.199	0.446	0.561	0.275	0.368	0.407	0.424	0.421	****	****	Denizli-Acıpayam
0.227	0.164	0.250	0.379	0.214	0.214	0.243	0.223	0.169	0.212	****	Denizli-Beyağaç
0.226	0.093	0.115	0.245	0.202	0.169	0.190	0.096	0.158	0.320	0.158	Eskişehir-Mihalıççık
0.223	0.098	0.164	0.213	0.166	0.116	0.187	0.121	0.144	0.325	0.183	Eskişehir-Seyitgazi
0.284	0.252	0.330	0.499	0.312	0.327	0.164	0.304	0.366	0.371	0.268	<i>J. polycarpus</i>
0.473	0.374	0.149	0.297	0.415	0.298	0.471	0.325	0.122	0.582	0.331	Isparta-Senirkent
0.270	0.194	0.168	0.234	0.236	0.148	0.252	0.132	0.154	0.443	0.242	Karabük-Eskipazar
0.210	0.289	0.428	0.535	0.296	0.355	0.362	0.424	0.422	0.291	0.277	Konya-Hadim
0.119	0.176	0.289	0.324	0.174	0.143	0.177	0.185	0.283	0.364	0.226	Mersin-Mut
0.090	0.201	0.313	0.356	0.164	0.170	0.172	0.226	0.291	0.367	0.232	Mersin-Tarsus
0.233	0.199	0.197	0.155	0.143	0.025	0.231	0.176	0.195	0.399	0.220	Muğla-Seydikemer
0.351	0.286	0.155	0.233	0.339	0.214	0.312	0.184	0.171	0.508	0.306	Sinop-Boyabat

(Devamı Arkada)

Çizelge 4.14'ün devamı

Eskişehir-Mihalççık	Eskişehir-Seyitgazi	<i>J. polycarpus</i>	Isparta-Senirkent	Karabük-Eskipazar	Konya-Hadim	Mersin-Mut	Mersin-Tarsus	Muğla-Seydikemer	Sinop-Boyabat	Popülasyonlar
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Adana-Pozantı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Afyon-Sandıklı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Ankara-Beyazarı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Elmalı
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Gündoğmuş
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Antalya-Termessos
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	<i>J. foetidissima</i>
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Aydın-Efeler
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Burdur-Bucak
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Denizli-Acıpayam
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Denizli-Beyağaç
****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Eskişehir-Mihalççık
0.098	****	****	****	****	****	****	****	****	****	Eskişehir-Seyitgazi
0.239	0.279	****	****	****	****	****	****	****	****	<i>J. polycarpus</i>
0.230	0.250	0.519	****	****	****	****	****	****	****	Isparta-Senirkent
0.091	0.105	0.358	0.200	****	****	****	****	****	****	Karabük-Eskipazar
0.337	0.350	0.350	0.553	0.422	****	****	****	****	****	Konya-Hadim
0.168	0.126	0.289	0.408	0.183	0.326	****	****	****	****	Mersin-Mut
0.189	0.186	0.300	0.420	0.198	0.311	0.091	****	****	****	Mersin-Tarsus
0.127	0.096	0.331	0.275	0.120	0.379	0.175	0.206	****	****	Muğla-Seydikemer
0.150	0.153	0.416	0.164	0.044	0.486	0.263	0.292	0.177	****	Sinop-Boyabat

4.4. Moleküler (Genetik) Varyans Analizleri (AMOVA)

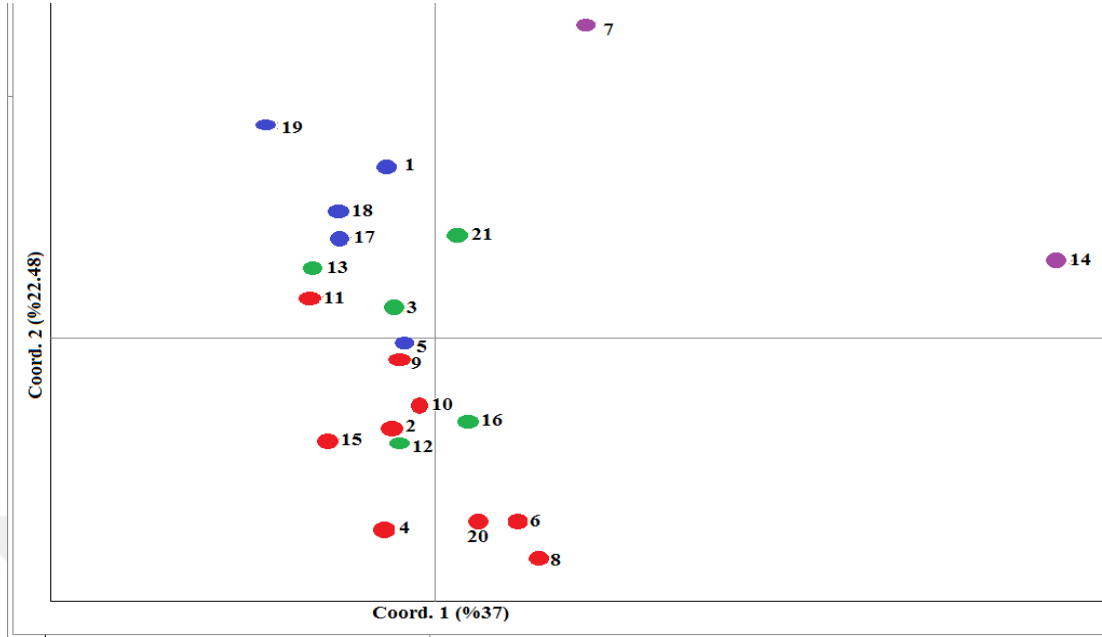
SSR ve ITAP lokuslarından elde edilen verilere göre yapılan AMOVA analizlerinden elde edilen bulgular; genetik çeşitliliğin (varyansın) kaynakları, serbestlik dereceleri, kareler toplamı, kareler ortalaması ve varyansın sayısal ve yüzde olarak dağılımlarını göstermektedir (Çizelge 4.15). Bu çizelgeye göre genetik varyansın büyük ölçüde popülasyon içinden (bireyler arasından) kaynaklandığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.15. SSR ve ITAP verilerine göre yapılan AMOVA sonuçları

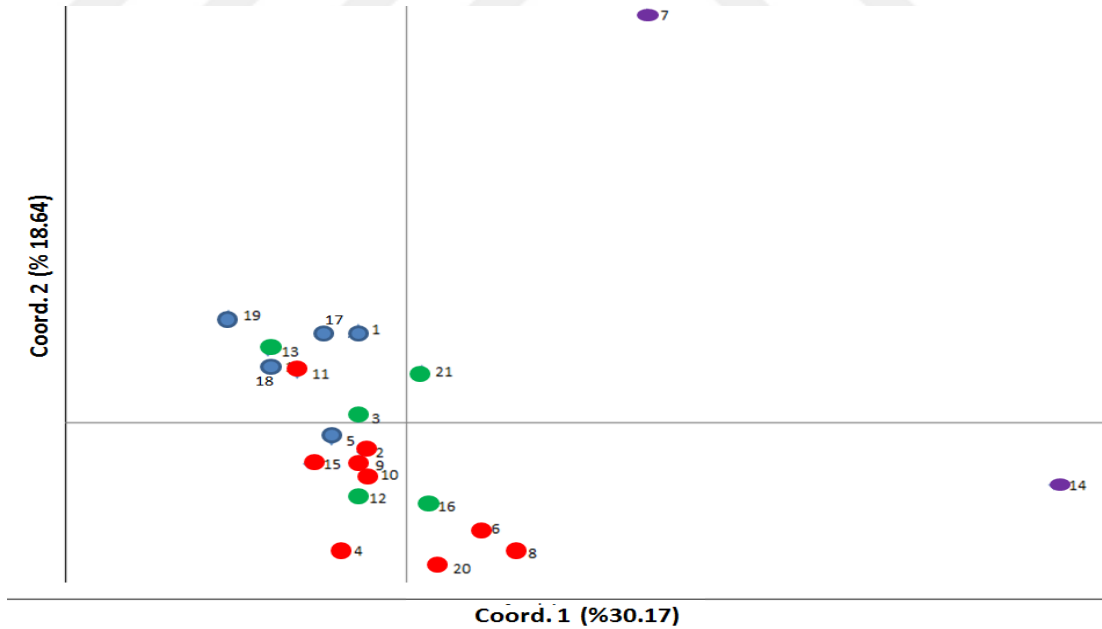
Belirteç	Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Varyans Değeri	Varyans yüzdesi
SSR	Bölgeler Arası	2	16,245	8,122	0,013	1%
	Popülasyonlar Arası	16	70,648	4,415	0,041	2%
	Popülasyon İçi-Bireyler Arası	437	1069,708	2,448	0,341	15%
	Popülasyon İçi-Bireyler İçi	456	805,000	1,765	1,765	82%
ITAP	Bölgeler Arası	2	317,427	158,713	0,676	5%
	Popülasyonlar Arası	16	968,317	60,520	2,099	16%
	Popülasyon İçi	437	4432,000	10,142	10,142	79%

4.5. PCoA (Principal Coordinates Analyses) Analizleri

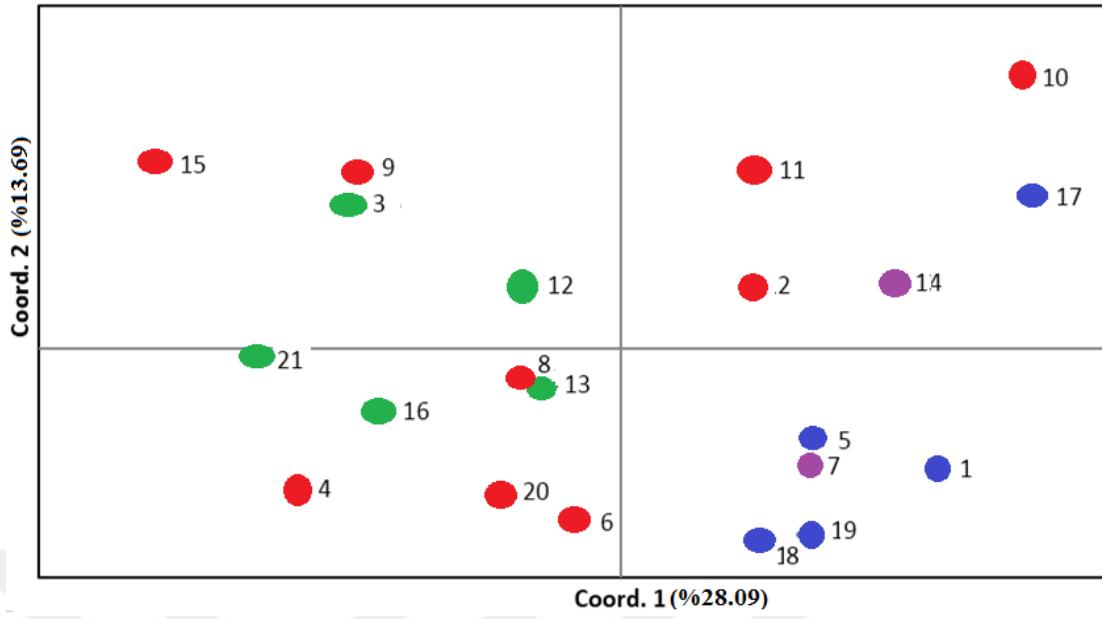
SSR ve ITAP verileri kullanılarak yapılan PCoA analizlerinin görsel bulguları Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de verilmiştir. Bu şekillerde doğu popülasyonları mavi renkte (1, 5, 17, 18 ve 19 nolu popülasyonlar), batı popülasyonları kırmızı renkte (2, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 15 ve 20 nolu popülasyonlar), kuzey popülasyonları yeşil renkte (3,12, 13, 16 ve 21 nolu popülasyonlar) ve dış gruplar da mor renkte (7; *J. foetidissima* ve 14; *J. polycarpus*) gösterilmiştir. Şekil 4.5'te girdi olarak SSR verileri ile hesaplanan Pairwise-Fst, Şekil 4.6'da SSR verileri ile hesaplanan Nei (1972) genetik uzaklık değerleri, Şekil 4.7'de ITAP verileri ile hesaplanan Pairwise-Fst ve Şekil 4.8'de de ITAP verileri ile hesaplanan Nei (1972) genetik uzaklık değerleri kullanılmıştır.



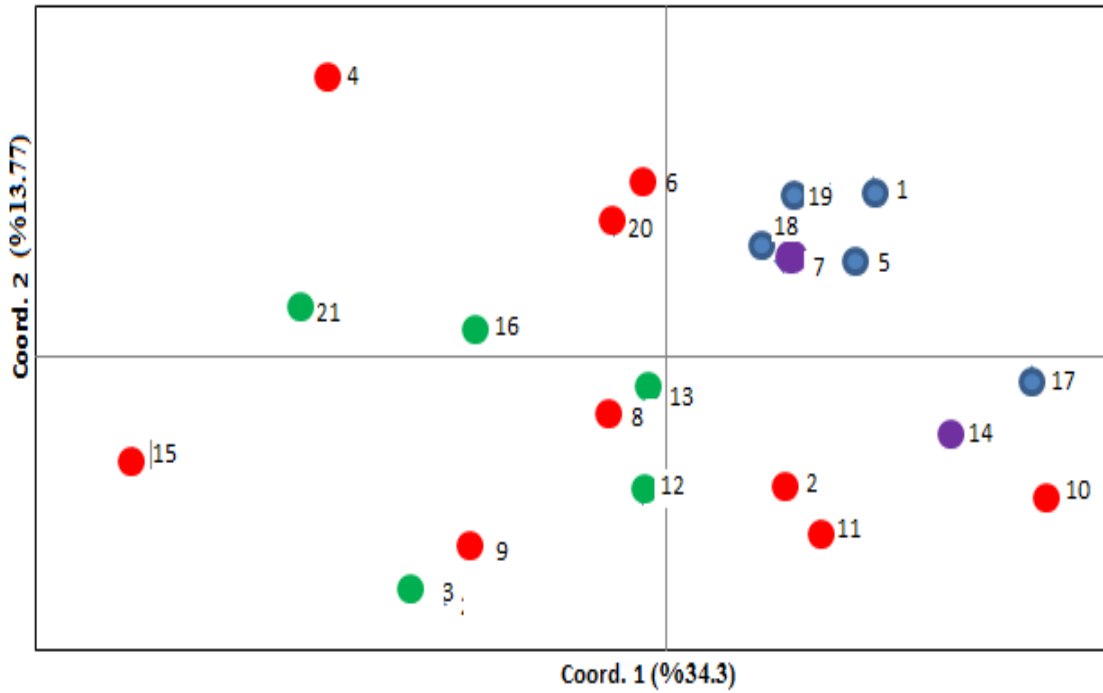
Şekil 4.5. SSR'ların Pair-wise F_{st} değerleri kullanılarak yapılan PCoA sonucu (1. Adana-Pozantı, 2. Afyon-Sandıklı, 3. Ankara-Beypazarı, 4. Antalya-Elmalı, 5. Antalya-Gündoğmuş, 6. Antalya-Termessos, 7. *J. foetidissima*, 8. Aydın-Efeler, 9. Burdur-Bucak, 10. Denizli-Acıpayam, 11. Denizli-Beyağaç, 12. Eskişehir-Mihalıççık, 13. Eskişehir-Seyitgazi, 14. *J. polycarpus*, 15. Isparta-Senirkent, 16. Karabük-Eskipazar, 17. Konya-Hadim, 18. Mersin-Mut, 19. Mersin-Tarsus, 20. Muğla-Seydikemer, 21. Sinop-Boyabat)



Şekil 4.6. SSR'ların Nei (1972)'ye göre hesaplanmış genetik uzaklık değerleri kullanılarak yapılan PCoA sonucu (1. Adana-Pozantı, 2. Afyon-Sandıklı, 3. Ankara-Beypazarı, 4. Antalya-Elmalı, 5. Antalya-Gündoğmuş, 6. Antalya-Termessos 7. *J. foetidissima*, 8. Aydın-Efeler, 9. Burdur-Bucak, 10. Denizli-Acıpayam, 11. Denizli-Beyağaç, 12. Eskişehir-Mihalıççık, 13. Eskişehir-Seyitgazi, 14. *J. polycarpus*, 15. Isparta-Senirkent, 16. Karabük-Eskipazar, 17. Konya-Hadim, 18. Mersin-Mut, 19. Mersin-Tarsus, 20. Muğla-Seydikemer, 21. Sinop-Boyabat)



Şekil 4.7. ITAP'ların Pair-wise Fst değerleri kullanılarak yapılan PCoA sonucu (1. Adana-Pozantı, 2. Afyon-Sandıklı, 3. Ankara-Beypazarı, 4. Antalya-Elmalı, 5. Antalya-Gündoğmuş, 6. Antalya-Termessos 7. *J. foetidissima*, 8. Aydın-Efeler, 9. Burdur-Bucak, 10. Denizli-Acıpayam, 11. Denizli-Beyağaç, 12. Eskişehir-Mihalıççık, 13. Eskişehir-Seyitgazi, 14. *J. polycarpus*, 15. Isparta-Senirkent, 16. Karabük-Eskipazar, 17. Konya-Hadim, 18. Mersin-Mut, 19. Mersin-Tarsus, 20. Muğla-Seydikemer, 21. Sinop-Boyabat)



Şekil 4.8. ITAP'ların Nei (1972)'ye göre hesaplanmış genetik uzaklık değerleri kullanılarak yapılan PCoA sonucu (1. Adana-Pozantı, 2. Afyon-Sandıklı, 3. Ankara-Beypazarı, 4. Antalya-Elmalı, 5. Antalya-Gündoğmuş, 6. Antalya-Termessos 7. *J. foetidissima*, 8. Aydın-Efeler, 9. Burdur-Bucak, 10. Denizli-Acıpayam, 11. Denizli-Beyağaç, 12. Eskişehir-Mihalıççık, 13. Eskişehir-Seyitgazi, 14. *J. polycarpus*, 15. Isparta-Senirkent, 16. Karabük-Eskipazar, 17. Konya-Hadim, 18. Mersin-Mut, 19. Mersin-Tarsus, 20. Muğla-Seydikemer, 21. Sinop-Boyabat)

Dört farklı veri setiyle yapılan PCoA analizlerinin hepsinde de batı popülasyonları ile doğu popülasyonlarının birbirinden ayrık bir şekilde kümeleşme eğiliminde olduğu görülmektedir. Kuzey popülasyonları hem SSR'ların hem de ITAP'ların PCoA analiz sonuçlarına göre batı popülasyonları ile kümeleşme eğilimi göstermiştir. Ancak; kuzey grubundan 13 nolu popülasyon (Eskişehir-Seyitgazi) ve batı grubundan da 11 nolu popülasyon (Denizli-Beyağaç) doğu popülasyonları ile kümeleşmiştir. Aynı şekilde doğu grubundan da 5 nolu popülasyon da (Antalya-Gündoğmuş) batı grubu ile kümeleşme eğiliminde olmuştur (Şekil 4.5 ve 4.6). Dış gruplar (*J. polycarpus* ve *J. foetidissima*) Şekil 4.5 ve Şekil 4.6 da hiçbir bölge ile kümeleşme eğilimi göstermemişken, Şekil 4.7'de ve Şekil 4.8'de ise daha çok doğu popülasyonları ile kümeleşme eğiliminde olmuşlardır. Ayrıca, dört farklı veri setiyle yapılan PCoA analizlerinin görsel bulguları yanında ilk üç eksenin, gözlenen varyasyonu açıklama yüzdeleri ve EigenValue değerleri de Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Çizelge 4.16. PCoA Analiz türlerine göre ilk üç eksen de açıklanan varyasyon yüzdeleri

PCoA Analiz Türü	Açıklanan Varyasyon Yüzdeleri/EigenValue Değerleri			Toplam Açıklanan Varyasyon Yüzdesi
	1. Eksen	2. Eksen	3. Eksen	
SSR'ların Pair-wise Fst Değerleri	37.00/0.036	22.48/0.022	14.00/0.014	73.48
SSR'ların Nei (1972) Genetik Uzaklıkları	30.17/531	18.64/328	12.13/213	60.94
ITAP'ların Pair-wise Fst Değerleri	28.09/0.162	13.69/0.079	11.12/0.064	52.98
ITAP'ların Nei (1972) Genetik Uzaklıkları	34.30/301	13.77/121	12.45/109	60.52

4.6. Mantel-Testi Analizleri

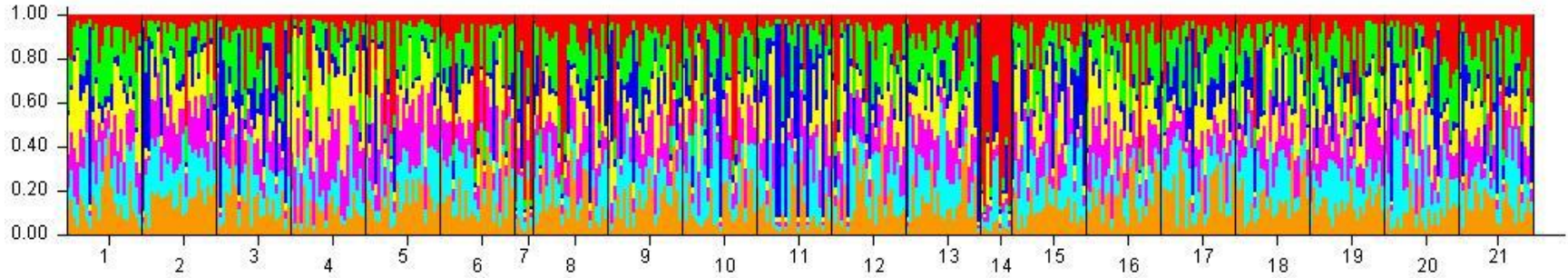
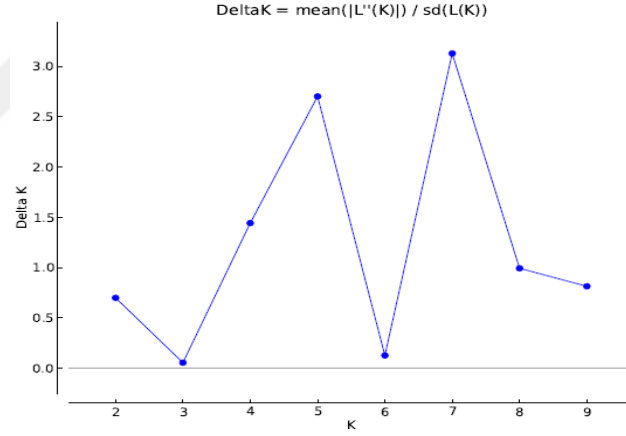
Popülasyonlar arasındaki kilometre biriminden uzaklığın (X eksen) popülasyonlar arasındaki genetik izolasyona ne ölçüde katkıda bulunduğunu anlayabilmek amacıyla, 19 *J. excelsa* popülasyonunun (dış gruplar hesaba katılmaksızın) hem SSR hem de ITAP verileri kullanılarak (Y eksen) Mantel Testleri 99 permutasyonlu olarak yapılmış ve analiz sonuçları Çizelge 4.17'de verilmiştir. Mantel Testi sonuçlarına göre popülasyonlar arasındaki kilometre cinsinden uzaklık ile genetik izolasyon arasında pozitif, ama zayıf bir ilişki bulunmuştur. Ancak, bu zayıf pozitif ilişkinin %5'lik istatistiksel önemlilik düzeyinde anlamlı bir fark teşkil etmediği görülmüştür.

Çizelge 4.17. *J. excelsa* popülasyonlarının Mantel-Testi sonuçları

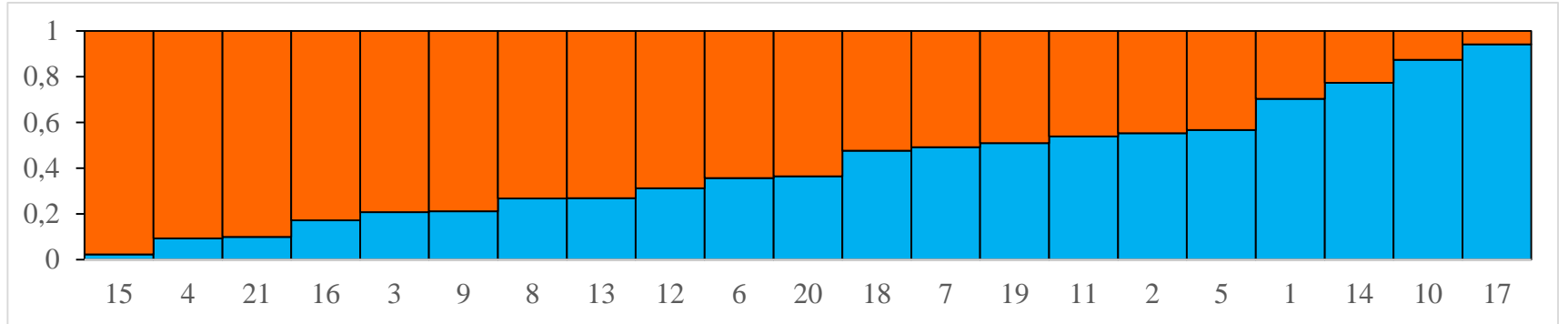
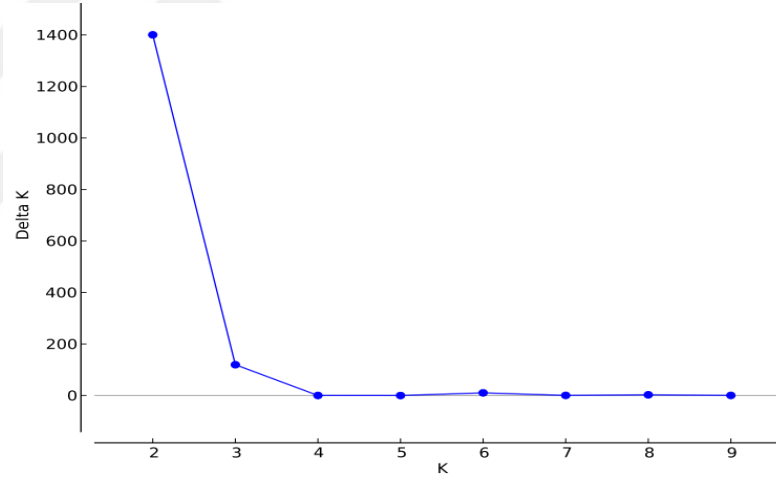
Parametreler	Rxy	R ²	P Değeri
SSR'ların Pair-wise Fst Değerleri	0.179	0.03	0.12
SSR'ların Nei (1972) Genetik Uzaklıkları	0.233	0.05	0.08
ITAP'ların Pair-wise Fst Değerleri	0.074	0.005	0.170
ITAP'ların Nei (1972) Genetik Uzaklıkları	0.063	0.004	0.33

4.7. Popülasyonlarda Genetik Yapı (Structure) Analizleri

Popülasyonlarda özgün yapılar olup olmadığını belirlemek için “Structure” programında; toplamda 21 popülasyondaki 472 bireye ait sekiz adet SSR ve 134 ITAP lokus verisi kullanılarak, grup sayısı sırasıyla “1, 2, 3, 4,...10” olacak şekilde analiz edilmiştir (“50000 replikasyon”, “5000 burn-in period” ve “10” iteration). Yapılan analizler sonucu çizilen K-Delta grafiklerinden en uygun K değerinin SSR lokusları için 7 ve ITAP lokusları için ise 2 olduğu görülmüştür. SSR lokusları için yedi grup varsayıldığında elde edilen sonuç Şekil 4.9’da ve ITAP lokusları için iki grup varsayıldığında da elde edilen sonuç Şekil 4.10’da verilmiştir. Buna göre hiçbir popülasyonun diğerinden ayırt edici özgül bir yapıya sahip olmadığı görülmüştür. Yani, tüm popülasyonlar değişik oranlarda bir karışımdan meydana gelmektedir (Şekil 4.9 ve 4.10). Ancak, ITAP-Structure analizinin sonucuna göre Konya-Hadim ve Denizli Acıpayam popülasyonlarında 1. grup baskın durumda iken (mavi renkli, >%87), Antalya-Elmalı, Isparta-Senirkent ve Sinop-Boyabat popülasyonlarında ise 2. grup (turuncu renkli, >%87) hakimdir (Şekil 4.10).



Şekil 4.9. Uygun K değerinin belirlendiği K-Delta grafiği (üstte); K=7'ye göre SSR lokus verilerinin “Structure” analizi sonucu ortaya çıkan popülasyon yapı örüntüleri (altta) (1. Adana-Pozanti, 2. Afyon-Sandıklı, 3. Ankara-Bey pazarı, 4. Antalya-Elmalı, 5. Antalya-Gündoğmuş, 6. Antalya-Termessos, 7. *J. foetidissima*, 8. Aydın-Efeler, 9. Burdur-Bucak, 10. Denizli-Acıpayam, 11. Denizli-Beyağaç, 12. Eskişehir-Mihalıççık, 13. Eskişehir-Seyitgazi, 14. *J. polycarpus*, 15. Isparta-Senirkent, 16. Karabük-Eskipazar, 17. Konya-Hadim, 18. Mersin-Mut, 19. Mersin-Tarsus, 20. Muğla-Seydikemer, 21. Sinop-Boyabat)



Şekil 4.10. Uygun K değerinin belirlendiği K-Delta grafiği (üstte); K=2'ye göre ITAP lokus verilerinin “Structure” analizi sonucu ortaya çıkan popülasyon yapı örüntüleri (altta) (1. Adana-Pozantı, 2. Afyon-Sandıklı, 3. Ankara-Beyazır, 4. Antalya-Elmalı, 5. Antalya-Gündoğmuş, 6. Antalya-Termessos, 7. *J. foetidissima*, 8. Aydın-Efeler, 9. Burdur-Bucak, 10. Denizli-Acıpayam, 11. Denizli-Beyağaç, 12. Eskişehir-Mihalıççık, 13. Eskişehir-Seyitgazi, 14. *J. polycarpus*, 15. Isparta-Senirkent, 16. Karabük-Eskipazar, 17. Konya-Hadim, 18. Mersin-Mut, 19. Mersin-Tarsus, 20. Muğla-Seydikemer, 21. Sinop-Boyabat)

5. TARTIŞMA

5.1. Toprak Analizlerinin Değerlendirilmesi

SSR ve ITAP belirteçleri ile genetik çeşitlilik düzeyleri incelenen popülasyonlardan alınan toprak örnekleri analiz edilmiş ve elde edilen bulguların değerlendirilmesinde Orman Genel Müdürlüğü'nün "Toprak Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi" başlıklı yayını ile Çevre ve Şehircilik Bakanlığı'nın ilgili mevzuatı esas alınmıştır (OGM 2012; ÇŞB 2017). Buna göre, toprak örneklerindeki ölçülen pH değeri 7.0-8.0 aralığında olup, örnekler pH bakımından nötrden hafif-orta alkali arasında bir özelliğe sahiptir. Elektriksel iletkenlik değerlerinin toprak örneklerinden ikisi dışındaki geriye kalan tüm toprak örneklerinde çok yüksek olmadığı belirlenmiş olup, bundan hareketle tuzluluk oranlarının da yüksek olmadığı ve bu toprak örneklerinin tuzsuz toprak kategorisine girdiği sonucuna ulaşılmıştır (<2 mS/cm). Ankara-Beypazarı'ndan alınmış toprak örneğinde EC değeri 2.2 mS/cm ve Karabük-Eskipazar'dan alınmış toprak örneğinde ise bu değer 4.64 mS/cm olarak ölçülmüştür. Buna göre, Ankara-Beypazarı'nın az tuzlu (2-4 mS/cm) ve Karabük-Eskipazar'ın da orta derecede tuzlu (4-8 mS/cm) toprak kategorisine girdiği görülmüştür. Kireç (CaCO₃) miktarı bakımından toprak örneklerinin çok değişken olduğu görülmüştür (%0.5 ile 60.8). Buna göre örnek topraklarının içerdikleri kireç yönünden özellikleri pek az kireçliden (<1), zengin kireçli (>5) ve marn toprağı (>35) özelliğine kadar değişkenlik göstermektedir. Toprak bünyesi olarak Aydın-Efeler ve Sinop-Boyabat hariç geriye kalan tüm toprak örneklerinde kum yüzdesinin mil ve kil yüzdesinden daha yüksek olduğu görülmüştür (>%40). Yalnızca, Aydın-Efeler'de kum yüzdesi 35 iken mil yüzdesi 50 ve Sinop Boyabat'ta da kum yüzdesi 42 iken mil yüzdesi 44 'tür. Kil yüzdesi ise hiçbir örnekte %25'i geçmemiştir. Organik madde yüzdesi de örnek topraklarında oldukça değişkenlik göstermiştir (%0.5-10.2). Dolayısıyla, örnek toprakları organik madde yönünden fakir ile çok zengin arasındaki sınıflara girmektedir. Değişilebilir katyonlar bakımından (Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, K⁺) örnek topraklarının zengin olduğu (>10 ppm) tespit edilmiştir. Fosfor bakımından da örnek topraklarının orta veya yüksek miktarda fosforlu olduğu görülmektedir. Çinko ve bakır bitki beslenmesinde çok az miktarlarda da olsa gereklidir. Ancak, ağır metal sınıfına giren çinko ve bakırın (ÇŞB 2017) toprakta belli bir miktarın üzerinde bulunması durumunda canlılar için zararlı olduklarından, bunların her zaman belli bir değer altında olması gerekmektedir. Bundan hareketle, çinko ve bakır miktarı örnek topraklarında ölçülmüş ve sırası ile 0.1-5 ppm ile 0.4-4.2 ppm değerleri arasında değişmekte olduğu görülmüştür. Bu da mevzuatta pH değeri 7 ve üzerinde olan kurutulmuş topraklarda çinko (200 mg/kg) ve bakır (100 mg/kg) için belirlenmiş olan üst sınırların altındadır (ÇŞB 2017).

Örnekleme yapılan alanlardaki toprağın değişilebilir katyon ve fosfor miktarları bakımından orta-zengin bir yapıda olması besin öğeleri açısından fakir olmadığını göstermiştir. Ağır metal miktarının (çinko ve bakır) kabul edilen üst sınırların altında olması da popülasyonların bu bakımından herhangi bir ekolojik strese maruz kalmadığına işaret etmektedir. Ama yine de, *J. excelsa* popülasyonlarından alınan toprak örnekleri, genel olarak değerlendirildiğinde bu topraklardaki kum ve kireç oranlarının (Afyon-Sandıklı, Antalya-Elmalı, Denizli-Acıpayam, Konya-Hadim ve Muğla-Seydikemer dışında) ortalama bir topraktan yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca, arazide bu türün yetiştiği toprakların yine genel olarak taşlık-kayalık nitelikte ve arazi eğimlerinin de pek çok bölgede fazla olduğu (≥30°) da gözlemlenmiştir. Böyle ekolojik koşulların var olduğu

topraklarda suyun tutulma miktarı hem oldukça azdır hem de var olan suyun bitkiler tarafından kullanılması çok güçtür (Taiz ve Zeiger 2008; Özdemir ve Kahraman 2018; Şişaneci ve Terzi 2018). Bütün bunlar *J. excelsa* popülasyonlarının büyük çoğunluğunun, çoğu bitkinin kolayca uyum sağlayamayacağı, tarımsal etkinliklere pek elverişli olmayan ekstrem toprak koşullarına uyum sağlayarak varlığını sürdürdüğü sonucunu ortaya koymaktadır. Bu yönüyle ekstrem toprak koşullarının bulunduğu bu tür alanlarda, sahip oldukları yaygın kök sistemleriyle, toprağın erozyondan korunması için ardıç popülasyonlarının korunmasına ve bu tür ekstrem fiziksel özelliklere sahip toprakların ağaçlandırma stratejisinde ardıç türlerinden yararlanılmasına son yıllarda sıklıkla başvurulmaktadır (Gülcü ve Gültekin 2005). Bunun yanında, coğrafik konumu belli bir yerde, bir yaşama birliği oluşturan canlılar ile, bir yetiştirme ortamı oluşturan çevre koşulları arasında karşılıklı ve dinamik ilişkilerin bulunduğu çok önemli ekolojik bir birim olarak tanımlanan ekosistemin (Çelik 2013) bu tür arazilerde sürekliliğinin sağlanmasında ardıç türlerinin çok büyük bir önemi vardır.

Literatürde boylu arduçların toprak özelliklerinin ele alındığı başka çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin Şenol vd. (2018)'in çalışmasında Göller Yöresi (Antalya, Burdur ve Isparta) içerisinde boylu ardıç popülasyonlarının bulunduğu 40 farklı alandan örneklenen toprakların bünye, tuzluluk, organik ve mineral madde analizleri yapılmıştır. İlgili çalışmada ortalama kil yüzdesi yaklaşık %27 olarak bulunmuştur. Bu tez çalışmasının bulgularından farklı olarak toprak bünyelerinde mil (silt) yüzdelerinin kum yüzdelerinden fazla olduğu bulunmuştur (kum %33, mil %40, kil %27). Bu tez çalışmasında ise, yalnızca Aydın Efeler ve Sinop Boyabat'ta mil oranı kum oranına göre daha yüksek iken; diğer popülasyonların hepsinde kum oranları (en az %42 olmak üzere), mil oranlarından daha yüksektir (Bkz. Çizelge 4.1). Ancak organik madde, kireç yüzdesi ve pH değerleri her iki çalışmada da (Şenol vd. 2018) ve bu tez çalışması benzerdir. Elektriksel iletkenlik değerleri büyük ölçüde benzer olsa da bu tez çalışmasında analiz edilen bazı popülasyonlarda daha yüksek değerler de bulunmaktadır. Ayrıca her iki çalışmada da değişilebilir katyon (Mg^{++} , Ca^{++} , K^{+}) miktarları yüksektir.

Van-Gevaş-Altınbaş Köyü'nde bulunan *J. excelsa* popülasyonunun yedi farklı yerinden alınan toprak özelliklerinin incelendiği Gülser vd. (2012)'nin çalışmasında pH değerlerinin 7.8-8.2 arasında olduğu, kireç yüzdesinin oldukça değişken ve organik madde yüzdesinin 0.17 ile 5.14 arasında değişmekte olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, bu tez çalışmasında analiz edilen topraklardaki değerlerle benzerlik göstermektedir. Tuzluluk miktarının da aynı şekilde bu tez çalışmasında analiz edilen topraklarda olduğu gibi oldukça düşük olduğu görülmüştür. Bunun yanında, bu tez çalışmasındaki fosfor, potasyum, magnezyum, kalsiyum, demir, manganez, çinko ve bakır miktarları ile Gülser vd. (2012) değerleri bir dereceye kadar benzerlik gösterse de popülasyon bazında önemli farklılıklar olduğu görülmektedir. Bunun yanında, Gülser vd. (2012)'de analiz edilen toprak bünyelerinin tınlı ve killi-tınlı olduğu görülmüştür. Oğuz (2008)'de, tınlı toprağın kum, kil ve mil oranlarının birbirine yakın olduğunun belirtildiği göz önüne alındığında, Gülser vd. (2012)'de analiz edilen toprakların bu tanıma uyduğu; ama bu tez çalışmasında ele alınan toprakların ise bu tanıma büyük ölçüde uymadığı görülmektedir.

İran'ın güneydoğusunda bulunan *J. excelsa* popülasyonlarından seçilen dokuz belirli alandan alınan topraklar, pH, elektriksel iletkenlik, kalsiyum karbonat ve bünye gibi parametrelere göre analiz edilmiştir. Buna göre, seçilmiş bu dokuz alandaki toprakların; pH değerleri 7.5-8.0, elektriksel iletkenlik 441-851 $\mu S/cm$, kalsiyum

karbonat yüzdesi 23-35, kil yüzdesi 9-19, mil (silt) yüzdesi 28-36 ve kum yüzdesi 50.5-61 arasında değişmektedir (Zangiabadi vd. 2012). Bu değerler bu tez çalışmasında elde edilen değerlere, her ne kadar bazı istisnaları olsa da, büyük benzerlikler göstermektedir. Aynı benzerlik Sarangzai vd. (2012)'nin çalışmasında da görülmektedir. İlgili çalışmada, Belucistan'da yer alan *J. excelsa* ormanlarının toprak özellikleri incelenmiştir. Toprak analizinde kullanılan parametrelerden, topraklardaki organik madde yüzdesinin 1.1-3.3, pH değerlerinin 6.9-8.0, elektriksel iletkenliğin 0.92-2.76 ds/cm ve kalsiyum karbonat yüzdesinin de 10-15 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Genel olarak bu tez çalışmasında, toprak analizleri bakımından popülasyonlar arasında bir farklılaşma olmadığını söylemek mümkündür. Bunun yanında, farklı fiziksel özelliklere sahip topraklarda yetişen popülasyonlar göz önüne alındığında, bunların herhangi bir genetik farklılaşma eğilimi de gözlenmemiştir. Bu tez çalışmasında yapılmış olan toprak analizlerinin sonuçları; literatürdeki diğer çalışmaların sonuçları ile önemli benzerlikler göstermiştir. Bu da *J. excelsa* türünün yayılış gösterdiği alanlardaki toprağın ele alınan parametreler yönünden özellikleri, çok geniş bir coğrafyada üniform olmaya yakın bir örüntü sergilemekte ve bu türün yetişebilmesi için gerekli edafik gereksinimlerin genel bir resmini çizmektedir.

5.2. Popülasyonların Genetik Çeşitlilikleri ve Genetik Farklılaşmaları

Biyçeşitliliğin, biyolojik yapıların bütün düzeylerinde görülen canlı çeşitliliği olduğu göz önüne alındığında, genetik çeşitlilik biyolojik çeşitliliğin en önemli bileşenlerinden birisidir (Saeed ve Barozai 2012). Genetik çeşitlilik, popülasyonların uyum gücünü (bireylerin hayatta kalabilme ve üreyebilme yeteneği) analiz etmede yaygın olarak kullanılan önemli bir ölçüttür. Çünkü gen havuzunda bulunan allel çeşitliliği ne kadar çoksa, değişen çevre koşullarına karşı popülasyonların o kadar evrimleşerek uyum sağlama ve varlığını sürdürme şansı da yüksek olabilmektedir (Reed ve Frankham 2003).

Biyçeşitlilikteki, özellikle de genetik çeşitlilikteki azalma kısa ve uzun vadede bazı türlerin soylarının tükenmesi tehlikesini doğurmaktadır (Krauss vd. 2010). Habitat parçalanması bugünün dünyasında insan faaliyetleri nedeniyle ortaya çıkan yaygın bir sorundur. Habitat parçalanması sorunu, popülasyonların yayılış alanının insan faaliyetleri nedeniyle parçalanması ve popülasyonun yayılış alanının küçük parçalara ayrılarak bütünlüğünü kaybetmesi ile ortaya çıkar (Wilson vd. 2016). İnsan baskısı nedeniyle geçmişten günümüze kadar süren bu sorun, türlerdeki genetik çeşitliliği ve dolayısıyla biyçeşitliliği azaltıcı bir etkide bulunmaktadır. Küçülen ve yaşam alanları parçalanmış popülasyonlarda gen akışının kesintiye uğradığı, soy içi üreme yoluyla homozigotlaşma (heterozigotluğun kaybı) ve genetik sürüklenme eğilimleri arttığından genetik çeşitlilik ve dolayısıyla da uyum gücü kaybı olasılığı ortaya çıkmaktadır (Aguilar vd. 2008; Krauss vd. 2010). Bazı türlerde ise habitat parçalanmasının sonuçları daha yumuşaktır. Genetik çeşitlilikte az miktar bir azalma ile popülasyonlar arasındaki gen akışı kesintisinden kaynaklanan genetik farklılaşma miktarlarının artması, habitat parçalanması sonucu ortaya çıkan uyum gücünde azalma ve soy tükenmesi tehlikesine göre daha hafif sonuçlardır (Leonardi vd. 2012).

Ardıç popülasyonlarının da yaşam alanlarının parçalanarak küçülmesi sorunu Dünya'nın pek çok yerinde geçmişten bugüne dek süregelen olumsuz bir durumdur. Örneğin; *J. communis* türünün Avrupa popülasyonlarındaki habitat parçalanması sorunu,

önemli bir doktora çalışması olan Michalczyk (2008)'de ayrıntılı olarak tüm sonuçlarıyla ele alınmıştır. Habitat parçalanması-daralması sorunu yalnızca *J. communis* türüne özgü değildir; başka pek çok ardıç türü için de geçerli bir durumdur. Bunlara; İspanya'da *J. thurifera*, Hindistan'da *J. polycarpus* ile *J. indica* ve Kuzey Amerika'da da *J. osteosperma* türleri örnek olarak verilebilir (Santos ve Telleria 1994; Rawat ve Everson 2012; Prochazka vd. 2017). İnsan etkisinden kaynaklanan habitat parçalanmasına başka bir örnek de Afrika ardıcınının (*J. procera*) Etiyopya popülasyonlarıdır. AFLP belirteçlerine dayanan moleküler bir çalışmada popülasyonların yüksek düzeyde genetik çeşitliliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Polimorfik lokus yüzdelerinin yüksek olması (%49-93) ve AMOVA sonuçlarına göre %94 gibi çok yüksek bir popülasyon içi çeşitlilik bulunmasına karşın, Fst ve Mantel-testi bulguları ise popülasyonlar arasında istatistiksel olarak önemli bir coğrafik farklılaşmaya ($P < 0.05$) işaret etmiştir. Bununla birlikte, ilgili çalışmada bu türün popülasyonları üzerindeki insan baskısı vurgulanmış ve popülasyonlar arasında önemli genetik farklılaşma eğilimleri olduğu belirtilmiş olmasına karşın, popülasyonlar arasındaki gen akışının yüksek olduğu da vurgulanmıştır (Sertse vd. 2011).

J. excelsa türü popülasyonları da yaşam alanlarının parçalanması ve küçülmesi sorunları ile tarihten bu yana karşı karşıya kalmıştır. Bu tür ile ilgili genetik çeşitliliğin ele alındığı çalışmalar sınırlı olsa da bu husus ile ilgili genel resmin anlaşılması bakımından önemlidir. Douaihy vd. (2011)'in çalışmasında Kırım, Türkiye (İlgaz-Tosya ve Eğirdir), Yunanistan, Güney Kıbrıs ve Lübnan'dan toplanmış *J. excelsa* türüne ait 12 popülasyondan toplam 320 örnek, üç mikrosatellit lokusu (Jc031, Jc037 ve Jc166) ile bakımından analiz edilmiştir. Çalışılan popülasyonlar içerisinde, genetik olarak en farklılaşmış popülasyonların Lübnan'ın dağ popülasyonları olduğu bulunmuştur. Ortalama allel sayısı 8.78 ve Fst değeri 0.07 olarak hesaplanmış ve popülasyonlarda orta derecede genetik farklılaşma olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, beklenen heterozigotluk (H_e) 0.76, gözlenen heterozigotluk (H_o) 0.44, gözlenen homozigotluk 0.56 ve soy içi üreme katsayısı (Fis) 0.27 olarak bulunmuştur. Bu bulgulara göre, popülasyonlardaki soy içi üreme katsayısının (Fis) Hardy-Weinberg Dengesi'nden önemli bir sapma gösterdiği ve önemli ölçüde homozigot fazlalığı/heterozigot eksikliği olduğu sonucuna varılmıştır. Öte yandan, Yücedağ ve Gailing (2013)'in çalışması, Türkiye'deki Göller Yöresi ve çevresindeki altı *J. excelsa* popülasyonu (Beşşehir, Sütçüler, Gölhisar, Bucak, Eğirdir ve Aksu) üzerinde yapılmış olup, Douaihy vd. (2011) ile benzer bir çalışmadır. Yücedağ ve Gailing (2013)'in çalışmasında, altı farklı popülasyondan 30'ar örnek üzerinde dört SSR lokusu (Jc031, Jc032, Jc037 ve Jc166) çalışılmıştır. Yücedağ ve Gailing (2013)'te lokus başına elde edilen ortalama allel sayısı 4.5 olmuştur. Ayrıca hesaplanan Fis değeri -0.014 ve Fst değeri de 0.028 olarak bulunmuştur. Bu bulgulara göre popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın düşük olduğu ve popülasyonların Hardy-Weinberg Dengesi'nden önemli bir sapma göstermediği sonucuna varılmıştır. Null alleller çıkartıldıktan sonra gözlenen ve beklenen heterozigotluk değerleri sırası ile 0.573 ve 0.584 olarak hesaplanmıştır ve coğrafik uzaklıklar ile genetik uzaklıklar arasında ise önemli bir korelasyon bulunamamıştır.

Bu tez çalışmasının kapsamı, Yücedağ ve Gailing (2013)'ün çalışmasının kapsamına göre Türkiye bazında çok daha geniş bir alandan ve çok daha fazla popülasyondan örneklemeyi içermesinden ötürü çok daha geniştir. Douaihy vd. (2011) çalışması ile bu tez çalışması karşılaştırıldığında ise; bu tez çalışmasında örneklenen

popülasyon sayısının daha fazla olmasına karşın, Douaihy vd. (2011) çalışması bu tez çalışmasından farklı olarak *J. excelsa* türünün Türkiye dışı popülasyonlarından da örneklemeler içerdiğinden, Douaihy vd. (2011) çalışmasının örneklem alanı bu tez çalışmasına göre daha geniş olmuştur. Yukarıda sözü edilen iki çalışmanın bulguları ile bu tez çalışmasının bulguları karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1. *J. excelsa* popülasyonlarının farklı çalışmalardaki genetik çeşitlilik parametrelerinin karşılaştırılması

Parametreler	Douaihy vd. (2011)	Yücedağ ve Gailing (2013)	Bu tez çalışması
Çalışılan belirteçler ve sayısı	3 SSR lokusu	4 SSR lokusu	8 SSR lokusu
Gözlenen ortalama allel sayısı	8.78	4.5	11.13
Beklenen heterozigotluk	0.76	0.58	0.54
Gözlenen heterozigotluk	0.44	0.57	0.45
Popülasyonlar arası farklılaşma (Fst)	0.07	0.028	0.043
Soy içi üreme katsayısı (Fis)	0.27	-0.014	0.124

Douaihy vd. (2011), Yücedağ ve Gailing (2013) ve bu tez çalışmasının Çizelge 5.1'de gösterilen parametreler bakımından karşılaştırılması yapıldığında, bu tez çalışmasında ele alınan SSR lokus ve gözlenen ortalama allel sayısının en çok olduğu görülmektedir. Beklenen ve gözlenen heterozigotluk değerleri arasındaki fark Yücedağ ve Gailing (2013)'te neredeyse yok denecek kadar az iken, Douaihy vd. (2011)'in çalışmasında bu fark çok daha fazladır. Bu tez çalışmasında ise gözlenen heterozigotluk ile beklenen heterozigotluk arasındaki fark Douaihy vd. (2011)'in çalışmasına göre daha azdır. Aynı durum Fis değeri için de geçerlidir. Fst değeri ise en çok Douaihy vd. (2011)'in çalışmasında, en düşük Yücedağ ve Gailing (2013)'te olduğu görülmüş olup bu tez çalışmasındaki Fis değeri ise bu iki çalışmadaki değerlerin arasındadır (Çizelge 5.1). Yücedağ ve Gailing (2013)'in çalışmasında Fst ve Fis değerlerinin düşük çıkmasının nedeni örnekleme alanının dar ve çalışılan altı popülasyonun birbirine çok yakın olmasından dolayı aralarındaki gen akışının daha kolay gerçekleşebilmesine bağlanabilir. Örnekleme alanı genişledikçe, özellikle birbirinden uzak popülasyonlar arasında gen akışı azalacağından Fst değerinin de artması beklenir. Bu üç çalışmanın bulguları da bu beklentiyi doğrular niteliktedir.

Soy içi üreme katsayısı (Fis) değeri, Douaihy vd. (2011)'in çalışmasında 0.27 gibi yüksek sayılabilecek bir değerdedir. Ayrıca gözlenen heterozigotluk değeri (H_o) de beklenenden (H_e) çok daha düşük bulunmuştur (Bkz. Çizelge 5.1). Bunun yanında, en düşük Fis değeri ve en yüksek H_o değeri Yücedağ ve Gailing (2013)'te gözlenmiştir. Üç çalışmanın da Çizelge 5.1'deki bulgularından hareketle, gözlenen heterozigotluk beklenenden ne kadar düşükse, soy içi üreme katsayısının da o denli yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca soy içi üreme katsayısı arttıkça popülasyonlar arasında genetik farklılaşma (bunun sonucu olarak da popülasyonlar arası genetik izolasyon) eğiliminde

de bir artma söz konusu olmuştur Soy içi üreme katsayısı (Fis) değeri popülasyon içinde, sıklıkla soy içi üremeden kaynaklanan Hardy-Weinberg Dengesi'nden sapmanın oransal değeridir (Anonymous 1). Dolayısıyla, Fis değeri ne kadar yüksekse popülasyonların içinde (yakın akrabalarla eşleşmekten kaynaklanan) Hardy-Weinberg Dengesi'nden sapma da o denli yüksektir. Bu teorik bilgiye göre Douaihy vd. (2011)'in çalışmasında analiz edilen popülasyonlarda soy içi üreme baskısından söz edilebilir. Ancak, bu tez çalışmasında hesaplanan Fis değerinin 0.124 olduğu göz önüne alınırsa, analiz edilen popülasyonlarda soy içi üreme baskısının daha düşük bir düzeyde olduğu sonucuna varılmaktadır.

Tüm bunların dışında bu tez çalışmasında analiz edilen lokus sayısı ve gözlenen ortalama allel sayısı diğer iki çalışmaya göre daha yüksektir (Bkz. Çizelge 5.1). Ancak, diğer iki çalışmada analiz edilen Jc031 ve Jc032 lokusları bu tez çalışmasında analiz edilememiştir. Yücedağ ve Gailing (2013)'te Jc031 lokusunda gözlenen allel sayısı üç iken, Douaihy vd. (2011)'de bu sayı 12 olarak bulunmuştur. Bu iki çalışmanın örnekleme alanları karşılaştırıldığında bu durum beklenen bir sonuçtur. Çünkü daha geniş örnekleme alanı ile gen havuzundaki allellerin gerçek sayı ve sıklığına daha yakın sonuçlar elde edilebilir. Her üç çalışmada ortak olarak analiz edilen lokus Jc037'dir. Bu lokustaki allel sayısı Yücedağ ve Gailing (2013)'te 17, Douaihy vd. (2011)'de 16 olarak bulunmuşken bu tez çalışmasında 26 olarak bulunmuştur. Jc166 lokusunda bulunan allel sayısı ise bu tez çalışması ve Douaihy vd. (2011)'de eşittir (11 allel). Bu bulgulara göre; *J. excelsa* türü popülasyonlarının alansal olarak en çok Türkiye toprakları üzerinde yayılış gösterdiği de göz önüne alındığında, Türkiye'nin bu tür için genetik bir rezerv olduğu büyük bir olasılıkla söylenebilir.

Bu tez çalışmasının SSR belirteçleri ile elde edilen bulgularında göze çarpan durum; lokus bazında beklendiği şekilde, analiz edilen lokuslardaki allel sayısı arttıkça, etkili allel sayısı (n_e) ve Shannon bilgi indeksi (I) değerlerinde de artış olduğudur. Ayrıca, lokus bazında hesaplanmış gen akışı değerleri (N_m) ile F_{st} değerleri arasındaki ters orantı açık bir şekilde görülmektedir (Bkz. Çizelge 4.8). Bunun yanında, bu tez çalışmasında lokus bazında hesaplanmış gözlenen heterozigotluk (H_o) beklenenden (H_e) ne kadar düşükse Fis değerleri o kadar yüksek çıkmıştır (Bkz. Çizelge 4.7 ve 4.8). Douaihy vd. (2011) ve Yücedağ ve Gailing (2013) ve bu tez çalışmasının bulgularının karşılaştırıldığı Çizelge 5.1'de de bu sözü edilen ilişki açık bir şekilde görülmektedir.

Genetik çeşitlilik ve gözlenen/beklenen heterozigotluk değerlerine göre popülasyonlar karşılaştırılmıştır. Popülasyonlardan yapılan örnekleme (popülasyon büyüklüğü) ne kadar çok olursa genetik çeşitlilik de o kadar popülasyonun gerçek çeşitliliğine yakın çıkabilir (Gaudeul vd. 2000). Bu gerçeği göz önünde bulundurarak, örnekleme aşamasında her popülasyondan eşit ve yeterli sayıda (24'er örnek) birey analiz edilmiştir. Bu şekilde popülasyonlardaki örnek sayısının farklılığından kaynaklanabilecek hatanın en aza indirilmesi hedeflenmiştir. Bütün popülasyonlarda gözlenen heterozigotluk beklenenden düşük çıkmıştır (Bkz. Çizelge 4.6). Bunun nedeni iki şekilde açıklanabilir. Birinci neden, popülasyonları oluşturan tüm ağaçların yalnızca küçük bir yüzdesi örneklenmiş olduğundan toplanmış örneklerin popülasyonların gerçek gen havuzu profilini yansıtamamasıdır. Diğer bir deyişle, popülasyonlardan çok daha fazla sayıda bireyden örnekleme yapılabildiğinde beklenen ile gözlenen heterozigotluk arasındaki farkın istatistiksel önem arz etmeyecek kadar azalması söz konusu olabilecektir. İkinci neden olarak da popülasyonlardaki genetik çeşitliliğin azalmış olması

olabilir. Ancak, az allelli olan lokuslarda (JT02, JT37 ve JT38) gözlenen heterozigotlukla beklenen arasında istatistiksel olarak böyle bir sapma gözlenmemesi birinci nedeni desteklemektedir. Tam tersine, JT37 lokusundaki heterozigot fazlalığı istatistiksel olarak önemli olup ($P<0.01$), JT38 lokusunda ise her ne kadar istatistiksel açıdan bir önemi olmasa da bir heterozigot fazlalığı söz konusudur ($P=0.068$). JT02 lokusunda ise tam bir eşitlik söz konusudur ($H_o=H_e=0.034$). JT40 lokusu ise az sayıda allel içermesine karşın gözlenen heterozigotluk değeri beklenenden istatistiksel olarak önemli derecede düşüktür; ancak, diğer çok allelli Jc037, JT33 ve Jc166 lokusları kadar büyük bir fark söz konusu değildir (Bkz. Çizelge 4.7). Bunun yanında, SSR belirteçlerinin kodominant doğası gereği, SSR lokus verilerine göre yapılan AMOVA analizinde popülasyon içinden kaynaklanan varyans, bireyler arası ve bireyler içi olmak üzere iki alt bileşene ayrılmaktadır. Bu tez çalışmasında bireyler içinden kaynaklanan varyansın, toplam varyans içinde %82'lık bir kısmı teşkil ettiği görülmektedir. Bu da heterozigot bireylerden kaynaklanan çeşitliliğin çokluğunu göstermektedir. Ayrıca ortalama Fis değeri (0.124) de yüksek düzeyde değildir. Bu bulgulara göre *J. excelsa*'nın Türkiye popülasyonlarında genel anlamda genetik çeşitlilik kaybının yüksek olmadığı yönünde bir sonuca varılabilir.

Gerek *J. excelsa*'da gerekse de diğer ardıç türlerinde yapılan SSR analizlerinin genelinde ortaya çıkan sonuç, gözlenen heterozigotluk değerlerinin beklenenlerden daha düşük olduğudur (Michalczyk vd. 2006; Zhang vd. 2008; Li vd. 2013; Rumeu vd. 2013; Bettencourt vd. 2015; Geng vd. 2016). Bunun nedenlerinin arasında örnekleme sayılarının sınırlı olmasının yanında, genel olarak habitat parçalanması ve buna bağlı olarak genetik çeşitlilikte azalma durumlarının da söz konusu olabileceği göz önüne alınmalıdır. Bunun yanında, bazı adalarda izole olarak küçük popülasyonlar halinde yetişen endemik türler (*J. cedrus*-Kanarya Adaları ve *J. brevifolia*-Azor Adaları) ile anakaralarda da olsa sınırlı yayılış alanlarına sahip türlerde (*J. thurifera*-İspanya ve Fas) genetik çeşitliliğin az olması durumu da göze çarpmaktadır (Bettencourt vd. 2015; Teixeira vd. 2014).

Literatürde gözlenen ve beklenen heterozigotluk oranlarının yanı sıra Shannon bilgi indeksi (I) de SSR belirteçlerine dayalı olarak genetik çeşitliliği analiz etmede kullanılan başka bir parametredir. Bu tez çalışmasındaki SSR lokus verilerinden elde edilen bulgulara göre, *J. excelsa* türünün her popülasyonunda bu değer 1.000'den büyük olmak üzere 1.046 ile 1.279 arasında değişmektedir. Azor Adaları'nın endemik ardıç türü olan *J. brevifolia* popülasyonları için "I" değeri 0.366 ile 0.913, İspanya ve Fas'ta yayılış gösteren *J. thurifera* popülasyonları için ise bu değer 0.181 ile 0.225 arasındadır (Bettencourt vd. 2015; Teixeira vd. 2014). Dolayısıyla, *J. excelsa* türü popülasyonlarındaki genetik çeşitliliğin *J. brevifolia* ve *J. thurifera* popülasyonlarındaki genetik çeşitliliğe göre yüksek olduğu görülmektedir.

Bu tez çalışmasında ITAP lokusları ile SSR lokuslarına ait bulgular arasında pek çok örtüşme söz konusudur. ITAP lokuslarına ait bulgular da *J. excelsa* popülasyonları arasında genetik farklılaşmanın yüksek olmadığını bir dereceye kadar desteklemiştir. Bunun birinci işareti, ITAP lokus verilerine göre toplam genetik çeşitlilik (Ht) değerinin 0.137, toplam popülasyon içi genetik çeşitliliğin ise 0.104 olarak bulunmasıdır. Bu da SSR lokuslarında olduğu gibi ITAP lokuslarında da genetik çeşitliliğin çoğunlukla popülasyon içinden kaynaklandığını göstermektedir. Ayrıca, bu tez çalışmasında olduğu gibi başka ardıç türlerinde yapılan izoenzim ve dominant belirteçlere dayalı

çalışmalardaki Ht, Hs ve Gst bulguları Çizelge 5.2’de karşılaştırılmıştır. Bu çizelgedeki verilere göre farklı ardıç türlerinde de genetik çeşitliliğin popülasyonların içinden kaynaklandığı görülmüştür. Ancak Gst değerleri çalışmadan çalışmaya önemli farklılıklar göstermektedir.

Çizelge 5.2. Farklı ardıç türlerinde dominant belirteçlerin analizi ile hesaplanmış Ht, Hs ve Gst değerlerinin karşılaştırılması

Çalışmalar	Tür	Belirteç	Ht	Hs	Gst
Bu tez çalışması	<i>J. excelsa</i>	ITAP	0.137	0.104	0.225
Meloni vd. (2011)	<i>J. phoenicea</i>	ISSR	0.148	0.130	0.12
Dzialuk vd. (2011)	<i>J. phoenicea</i>	RAPD	0.184	0.173	0.06
Huh ve Huh (2000)	<i>J. rigida</i>	İzoenzim	0.307	0.257	0.174
Silva vd. (2011)	<i>J. brevifolia</i>	RAPD ve ISSR	Verilmemiş		0.44

Popülasyonlar arası genetik farklılaşmanın ölçüleri olan ve ITAP lokus verilerinden elde edilen Gst değeri (0.225), SSR lokus verilerinden elde edilen Fst değerine (0.043) göre daha yüksektir. Bu bulgularla paralel olarak Gst’den hesaplanan gen akışı değeri (1.728), Fst’den hesaplanan gen akışı değerine (5.513) göre daha düşük çıkmıştır. Buna göre ITAP lokus verilerine göre popülasyonların birbirinden genetik olarak farklılaşma eğilimleri SSR lokus verilerine göre daha yüksektir. Bu durum, SSR ve ITAP belirteçlerinin genomun farklı bölümleri hakkında bilgi vermesiyle ilgili olabilir. Genomda farklı bölgelerin analizinden elde edilen sonuçlar arasında bunun gibi farklılıklar görülebilmektedir. Şöyle ki, dominant nitelikteki ITAP belirteçleri genomun intron bölgelerindeki, kodominant nitelikteki SSR belirteçleri ise genomdaki belli bir mikrosatellit lokusundaki polimorfizmler (intron ve ekzon bölgelerinde olabilir) hususunda bilgi vericidir.

ITAP belirteçlerinin çok yakın bir tarihte (2013 yılında) geliştirildiği göz önüne alınırsa, literatürde bu belirteçler ile yapılan çalışmaların son zamanlarda arttığı gözlenmektedir. ITAP belirteçleriyle yapılan ilk çalışma, Xiong vd. (2013)’ün sekiz muz (*Musa spp.*), 10 ejderha/keci gözü (*Dimocarpus longan*) ve 16 yerfıstığı (*Arachis hypogaea*) olmak üzere üç bitki türüne ait 34 kültür varyetesi üzerinedir. Primer çifti başına düşen bant sayısı 3-11 arasında değişmiştir. Muz, ejderha/keci gözü ve yerfıstığında polimorfik lokus oranları sırasıyla; %80, %79.25 ve %45.3 olarak bulunmuştur. Bu tez çalışması da literatürdeki ITAP belirteçlerine dayanan öncü çalışmalardandır. Bunun yanında, eldeki literatür bilgisine göre bu tez çalışması orman ağaçları üzerine ITAP belirteçlerine dayalı olarak yapılan ilk çalışma olma niteliğindedir. Sekiz primer çifti ile elde edilen 134 ITAP lokusundan %98.5’inin (132 lokus) polimorfik olduğu görülmüştür. Bu değer Xiong vd. (2013)’te çalışılan kültür varyetelerinin polimorfizm yüzdelerinden daha yüksektir. Xiong vd. (2013) çalışmasından başka tritikale adı verilen buğday-çavdar melezi olan bir yem bitkisi üzerine yapılmış başka bir ITAP belirteçlerine dayalı çalışma daha vardır. İlgili çalışmada da popülasyonlardaki polimorfik lokus yüzdeleri %58-93 arasında olup, ortalamaları %78.2’dir (Szucko ve

Rogalska 2015). Ayrıca, primer çifti başına düşen lokus sayısı 13, polimorfik lokus sayısı ise 10.4'tür. Ancak bu tez çalışmasında, popülasyon bazında gözlenen polimorfik lokus yüzdesi 31.34 ile 55.97 arasında değişmektedir. Bu değerler ise, Xiong vd. (2013) ile Szucko ve Rogalska (2015) değerlerine göre daha düşüktür.

ITAP gibi başka dominant belirteçlerle, başka ardıç türlerinin analiz edildiği pek çok çalışma vardır. Meloni vd. (2006)'nın çalışmasında, *J. phoenicea* popülasyonları ISSR belirteçleriyle analiz edilmiş ve bu tez çalışmasına benzer şekilde polimorfik lokus yüzdesinin 24.4 ile 62.2 arasında olduğu bulunmuştur. AFLP belirteçleri ile *J. communis* popülasyonlarının analiz edildiği başka bir çalışmada, popülasyonlardaki polimorfik lokus yüzdesinin 16.6 ile 49.3 arasında olduğu görülmüştür (Michalczyk vd. 2010). Ancak, bunun yanında popülasyonlardaki polimorfik lokus yüzdesinin bu tez çalışmasının bulgularından daha yüksek olduğu çalışmalar da söz konusudur. *J. phoenicea* popülasyonlarının RAPD belirteçleriyle analiz edildiği bir çalışmada gözlenen polimorfizm yüzdeleri 26.6 ile 93.3 arasında bulunmuştur (Dzialuk vd. 2011). Başka bir çalışmada ise, *J. brevifolia* popülasyonlarının ISSR belirteçleriyle analiz edilmesiyle bulunan polimorfizm yüzdeleri 48 ile 83 arasında olmuştur (Silva vd. 2011).

Bu tez çalışmasında, ITAP belirteçlerinde gözlenen çeşitlilik değerleri SSR belirteçlerinden elde edilenlere göre daha düşük bulunmuştur. ITAP belirteçleri dominant nitelik taşıdığından, kodominant olan SSR belirteçlerine göre daha düşük genetik çeşitlilik göstermesi beklenen bir durumdur. ITAP, ISSR, RAPD, AFLP ve SRAP gibi yöntemlerde homozigot dominant ve heterozigot lokuslar "1", homozigot resesif lokuslar ise "0" olarak kodlanır. Bu kodlama şekli dominant belirteçlerin homozigot ve heterozigot karakterleri birbirinden ayırt edememesinden kaynaklanır. Dolayısıyla, heterozigotluktan kaynaklanan genetik çeşitlilik gizli kalır. Kodominant belirteçler ise heterozigot karakterlerin ayırt edilebilmesini sağladığından, heterozigotluktan kaynaklanan çeşitlilik görülebilir. Bu nedenle de, popülasyonlardaki gerçek genetik çeşitliliği yansıtmakta kodominant (RFLP, SSR, SNP vb.) nitelikteki belirteçlere göre dominant belirteçler (RAPD, AFLP, ISSR, ITAP vb.) daha az başarılıdır. Buna göre bu tez çalışmasında, SSR belirteçlerinde genetik çeşitliliğin yüksek olması durumu heterozigot karakterlerin belirlenebilmesinden kaynaklanıyor olabilir.

Bettencourt vd. (2015)'in çalışmasında ITAP belirteçleri gibi dominant bir belirteç olan ISSR ve kodominant SSR belirteçleri birlikte kullanılmıştır. Bettencourt vd. (2015)'in bu çalışması, dominant ve kodominant belirteçler arasındaki genetik çeşitlilik değerlerinde ortaya çıkan farklılığa güzel bir örnektir. Bettencourt vd. (2015)'in çalışmasında analiz edilen *J. brevifolia* türünde, ISSR belirteçleri ile elde edilen genetik çeşitlilik değerleri olan Nei'nin genetik çeşitliliği (h) ve Shannon bilgi indeksinin (I), SSR belirteçleri ile elde edilenlere göre daha düşük olduğu görülmüştür (h değeri ISSR için 0.253 ve SSR için 0.415; I değeri, ISSR için 0.390 ve SSR için 0.838). Başka bir örnek olarak kivi bitkisinin RAPD ve SSR belirteçleri kullanılarak analiz edildiği bir çalışma verilebilir (Palombi ve Damiano 2002). Palombi ve Damiano (2002)'nin çalışmasında SSR belirteçlerinde daha yüksek genetik çeşitlilik olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir. İlgili çalışmada toplam polimorfizm oranı, RAPD için %55 ve SSR için %86; primer çifti başına düşen polimorfizm düzeylerinin de RAPD için 3.06 ve SSR içinse 4.36 olduğu hesaplanmıştır. Bir diğer örnek de, Pecina-Quintero vd. (2012)'nin çalışmasıdır. Pecina-Quintero vd. (2012)'de bir darı türü olan *Sorghum bicolor*'ın Meksika popülasyonları AFLP ve SSR belirteçlerine dayalı olarak analiz edilmiştir. Genetik

çeşitlilik parametreleri olarak hem polimorfik bilgi indeksi (PIC) hem de çeşitlilik indeksi (DI) hesaplanmış ve SSR lokuslarındaki bu değerlerin AFLP lokuslarına göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (PIC, SSR için 0.639 ve AFLP için 0.294; DI, SSR için 0.800 ve AFLP için 0.690). Son bir örnek olarak ise Elibol ve Bilgen (2017)'nin çalışması verilebilir. İlgili çalışmada *Pancretium maritimum* türünün Türkiye'deki dört popülasyonu RAPD ve nSSR beliteçleri kullanılarak moleküler analize tabi tutulmuştur. Genetik çeşitlilik parametreleri olarak Shannon bilgi indeksi (I) ve gözlenen/beklenen heterozigotluk (H_o/H_e) değerleri hesaplanmıştır. RAPD lokuslarındaki genetik çeşitlilik ortalaması, nSSR lokuslarındaki genetik çeşitlilik ortalamasına göre daha düşük bulunmuştur (I değeri, SSR için 0.728 ve RAPD için 0.385; H_e değeri, SSR 0.396 için ve RAPD için 0.255; H_o değeri, SSR için 0.449)

SSR lokus verilerinden hesaplanmış olan Nei (1972) genetik uzaklıkları ve Pair-wise Fst değerleri kullanılarak yapılmış Mantel-Testi analizlerinde popülasyonlar arasında coğrafik uzaklığa bağlı olarak istatistiksel anlamda önemli bir genetik izolasyon bulgusuna rastlanmamıştır (Bkz Çizelge 4.17). Bu da popülasyonlar arasındaki gen akışının güçlü olduğunu göstermektedir. Gen akışı, popülasyonların gen havuzları arasındaki bağlantıları teşkil eden ve onların birbirinden genetik olarak farklılaşma eğilimlerini azaltan bir olgudur. Habitat parçalanmasının popülasyonlar arasında gen akışını önemli ölçüde keserek popülasyonların genetik farklılaşmasını artırıcı bir rolü olmasına karşın, *J. excelsa* popülasyonlarında böyle bir etkinin ipuçlarına rastlanmamıştır. Bunun yanında, aynı durum Douaihy vd. (2011)'in ve Yücedağ ve Gailing (2013)'in çalışmalarında da gözlenmektedir. Her üç çalışmada da Fst değerlerinin yüksek olmamasının, bu tez çalışmasının Mantel-testi bulgularıyla uyumlu olduğu görülmektedir. SSR lokus verilerinden elde edilen Fst değerleri ile Mantel-testi analizlerinin sonuçlarına göre *J. excelsa* popülasyonları arasında genetik izolasyonun düşük düzeyde olduğu sonucuna ulaşılmaktadır. ITAP lokus verilerinden hesaplanan genetik uzaklık ve Pair-wise Fst verilerine göre yapılmış Mantel-Testi analizleri bulguları da SSR'larınki ile uyumlu olup bu sonucu desteklemektedir. Bu tez çalışmasının sonuçlarının bu yönüyle Douaihy vd. (2011) ve Yücedağ ve Gailing (2013)'ün çalışmaları ile ulaşılan sonuçları destekleyici ve tamamlayıcı nitelikte olduğu söylenebilir.

SSR lokus verilerine göre varyasyonun %97'si popülasyon içinden kaynaklanmaktadır (Bkz. Çizelge 4.15). Popülasyonlar ve bölgeler arasından kaynaklanan varyasyon ise toplamda %3'tür. Bu durum var olan genetik çeşitliliğin çok büyük bir yüzdesinin popülasyon içinden kaynaklandığını göstermektedir. Bu bulgular da Fst ve Mantel-testi bulgularına paralel olarak popülasyonlar ve bölgeler arasındaki genetik izolasyonun oldukça düşük olduğu savını destekler niteliktedir. Başka bir ardıç türü olan *J. thurifera*'da SSR lokus verilerine göre yapılan AMOVA ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre varyansın %90'ı popülasyon içinden, %4'ü popülasyonlar arasından ve %6'sı da bölgeler arasından kaynaklanmıştır (Teixeira vd. 2014).

ITAP lokus verilerine göre yapılan AMOVA analizinde de varyansın %79 oranında aynı popülasyondaki bireyler arasından, %16 oranında aynı bölgedeki popülasyonlar arasından ve %5 oranında da bölgeler arasından kaynaklandığı görülmüştür. Bu bulgu SSR lokus verilerine göre yapılan AMOVA analizi sonucu ile uyumludur (Bkz. Çizelge 4.15). ITAP lokus verilerinden hesaplanmış Nei (1972) genetik uzaklıkları ve Pair-wise Fst değerlerine göre yapılan Mantel-testi analizlerinde de popülasyonlar arasındaki coğrafik uzaklığın genetik izolasyona olan katkısının

istatistiksel anlamda önemli olmadığı bulunmuştur. Bu bulgu SSR lokus verilerinden elde edilen genetik uzaklık ve Pair-wise Fst değerleri ile yapılan Mantel-testi analizi sonuçlarıyla da uyumludur (Bkz. Çizelge 4.17). Her ne kadar Mantel-testi analizi sonuçları, *J. excelsa* popülasyonları arasındaki coğrafik uzaklıkla genetik izolasyon arasında önemli bir ilişkiye işaret etmese de, SSR ve ITAP lokus verilerinin PCoA analizi sonuçlarına göre kuzey popülasyonları, batı popülasyonları ile birlikte eğiliminde iken; doğu popülasyonları da bu iki gruptan ayrık bir kümeleşme eğilimindedir (Bkz. Şekil 4.5-4.8). Dolayısıyla, bu bulgulara göre batı ve kuzey popülasyonlarının doğu popülasyonlarından düşük de farklılaştığının ipuçları elde edilmiştir.

SSR verilerine göre çizilen dendrogram incelendiğinde, coğrafik olarak birbirine yakın popülasyonların birlikte gruplanma eğilimlerinin az olduğu görülmektedir. Yalnızca coğrafik olarak birbirine yakın olan Adana-Pozantı ile Mersin-Tarsus popülasyonları birlikte gruplanmış olsa da diğer popülasyonlar coğrafik olarak birbirine yakın popülasyonlardan çok birbirine daha uzak olan popülasyonlarla gruplaşmıştır (Bkz. Şekil 4.2). Tüm bu bulgular SSR verilerinden elde edilen bulgulara göre popülasyonlar arasında genetik izolasyonun düşük olduğunu göstermektedir. ITAP lokus verileri kullanılarak Nei (1972) genetik uzaklık verilerine göre oluşturulan dendrogram incelendiğinde ise SSR dendrogramından farklı olarak birbirlerine coğrafik uzaklık bakımından yakın olan popülasyonların genel olarak birlikte gruplaştıkları görülmektedir (Bkz. Şekil 4.4). DNA'nın farklı bölgelerindeki varyasyonları açığa çıkaran iki farklı belirteç verilerinin analizlerinde böyle bir sonucun ortaya çıkmasının olası üç nedeni vardır. Birincisi, SSR lokuslarındaki mutasyon hızının, DNA polimerazların bu bölgeleri eşlerken daha çok hata yapma eğiliminden dolayı, ITAP lokuslarına göre daha fazla olmasıdır. Bu durumda yeni mutasyonlarla birlikte, çok miktarda geriye mutasyonların da ortaya çıkması kaçınılmaz olur. Bu olgu, mutasyon doygunluğunun ortaya çıkmasına neden olabilir. Bu yüzden, aslında genetik olarak yakın popülasyonların birbirine olduğundan daha uzak, uzak olan popülasyonların da olduğundan daha yakın görünmeleri olasılık dahilindedir. İkinci neden, bu tez çalışmasında ele alınan *J. excelsa* türünde diploit kromozom sayısının 22 olduğu göz önüne alındığında, yalnızca sekiz SSR lokusunun incelenmesinin *J. excelsa* genomunun genel olarak analiz edilmesinde yeterli olmaması olabilir. Üçüncü olası neden ise SSR belirteçlerinin kodominant nitelikte olması diğer RAPD, AFLP gibi dominant belirteçlere göre daha yüksek polimorfizm gösterme eğiliminde olmasıdır (Yan 2008).

Ardıçların tozlaşması rüzgar ile, tohumlarının yayılması da kuşlar aracılığıyla gerçekleşmektedir. Rüzgarla taşınan polenlerin büyük bir yüzdesi birkaç kilometre uzaklığa kadar taşınabilir. Ancak, polenlerin çok küçük bir yüzdesi çok daha uzak bölgelere taşınabilir. Aynı şekilde kuşlar aracılığıyla da tohumlar, ait oldukları ağaçtan uzak mesafelere taşınabilir (Adams 2014). Ardıçlardaki bu şekilde gerçekleşen polen yayılması ve tohum dağılması, özellikle farklı popülasyonlar arasındaki gen akışının sürdürülmesinde önemli bir rol oynar. *J. excelsa* popülasyonları arasındaki genetik farklılaşmanın az olması ve coğrafik uzaklıkların genetik izolasyona katkısının istatistiksel olarak önemli düzeyde olmamasında yukarıda sayılan bu etmenlerin de katkısı göz ardı edilmemelidir.

Popülasyonların yapısına yönelik analizlerde popülasyonların yapı olarak birbirlerine benzeme eğilimleri söz konusudur. *J. excelsa* popülasyonları "Structure 2.3.4" ile yapısal olarak hem bu tez çalışmasında hem de önceki iki çalışmada analiz

edilmiştir (Douaihy vd. 2011; Yücedağ ve Gailing 2013). Yücedağ ve Gailing (2013)'in çalışmasında popülasyonların birbirinden farklı özgün yapıları olduğuna dair bir bulgu elde edilmemiştir. Douaihy vd. (2011) çalışmasında ise grup sayısı üç olarak ele alındığında popülasyonlarda bölgesel olarak bazı özgün yapılar gözlemlenebilmiştir. Bu gruplar, Türkiye'den iki popülasyon, Yunanistan ve Kıbrıs popülasyonları (grup 3), Lübnan'dan farklı iki popülasyon (grup 1) ve Lübnan'dan diğer farklı dört popülasyon ile Kırım popülasyonları (grup 2) şeklindedir. Bu tez çalışmasında K-Delta grafiğine göre en uygun K değeri SSR lokusları için 7, ITAP lokusları için ise 2 olarak bulunmuştur. Ancak hem SSR hem de ITAP lokus verilerinden yararlanılarak analiz yapıldığında popülasyonların belirgin özgün yapılar göstermediği görülmüştür. SSR-Structure bulgularında tüm popülasyonlara hakim olan yapı yedi grubun belli oranlarda karışımıdır (admixture). Elde edilen sonuç bu yönüyle Yücedağ ve Gailing (2013)'in çalışması ile örtüşmektedir. Douaihy vd. (2011)'in çalışmasındaki sonuçlara bakıldığında ise Türkiye, Yunanistan ve Kıbrıs popülasyonlarının benzer yapıda olduğu görülmektedir. Dolayısıyla, her üç çalışmada da Türkiye popülasyonlarının yapı olarak birbirine benzediği sonucuna ulaşılmaktadır. Ayrıca, Türkiye popülasyonları için Fst değerlerinin düşük olması (0.043) ve AMOVA sonuçlarının da çok yüksek oranda popülasyon içi genetik çeşitliliğe işaret etmesi de bu sonucu destekleyen bulgulardır. ITAP-Structure bulgularında da popülasyonlar büyük ölçüde iki grubun karışımı olacak şekilde bir örüntüye sahip olsa da beş popülasyonda özgün yapı görülmüştür. Bunlar Konya-Hadim ile Denizli-Acıpayam (grup 1 baskın) ve Sinop-Boyabat, Antalya-Elmalı ve Isparta-Senirkent (grup 2 hakim) popülasyonlarıdır.

ITAP lokus verileri kullanılarak yapılan analizlerde, dış gruplar olan *J. polycarpus* ve *J. foetidissima*'nın *J. excelsa* popülasyonlarından genetik olarak farklılıkları SSR verileri kullanılarak yapılan analizlerdeki kadar açık değildir. Örneğin dış gruplar ITAP dendrogramında *J. excelsa* türünün 17 popülasyonundan ayrı bir şekilde, birlikte gruplanırken, *J. excelsa*'nın iki popülasyonu (Antalya-Elmalı ve Isparta-Senirkent) dendrogramın en dış kısmında yer almıştır (Bkz. Şekil 4.4). Bu iki popülasyona ait toprak örneklerinin analiz sonuçları incelendiğinde, analizde ele alınan parametreler bakımından diğer popülasyonların toprak örneklerinden belirgin bir sapma göstermedikleri görülmüştür. Genel olarak değerlendirildiğinde; örneklenen popülasyonların yetiştiği toprakların bu tez çalışmasında ele alınan parametreler bakımından sahip oldukları özelliklerinin, popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmaya herhangi bir katkısının olduğuna dair bir işarete rastlanmamıştır.

J. foetidissima türünün kozalaklarında *J. excelsa*'ya göre daha az sayıda tohum bulunması ve taze sürgünlerinin dört köşeli olması gibi morfolojik özellikleri ile *J. excelsa*'dan belirgin bir şekilde ayırt edilmesi kolay olmaktadır. *J. polycarpus* ise, yakın bir geçmişe kadar *J. excelsa*'nın bir alt türü (*J. excelsa* subsp. *polycarpus*) olarak sınıflandırılmaktaydı. Ancak, moleküler verilere göre yakın zamanda yeni bir tür olarak sınıflandırılmış olup, morfolojik olarak *J. excelsa*'dan farkları *J. foetidissima*'da olduğu gibi belirgin değildir. Bu türün de tıpkı *J. excelsa* gibi kozalakları çok tohumludur (her bir kozalakta 3-9 tohum). Genç sürgünleri tıpkı *J. excelsa* gibi yuvarlaktır. Adams (2014)'te yer alan tayin anahtarına göre, *J. excelsa*'nın en uç sürgünleri 0.7-1 mm eninde, pulsu yapraklar 0.6-1.1 mm boyunda ve kozalak çapları 6-11 mm aralığındadır. *J. polycarpus*'ta ise en uç sürgünlerin genişliği 1-1.3 mm, pulsu yaprakların boyları 1.2-1.6 mm ve kozalak çapları da 8-14 mm'dir. Ancak, *J. excelsa* türünde de pulsu yaprakların

boyları 1.5 mm'ye kadar varabilmektedir (Coode ve Cullen 1982). Bunun yanında kozalak çap ölçüleri önemli ölçüde çakışmaktadır. Genç sürgünlerin çapları arasındaki fark da çok az olup (yaklaşık 0.3 mm) gözle ayırt edilemeyecek düzeydedir ve bu türlerdeki bazı örneklerin gösterebilecekleri morfometrik sapmalar ile kolayca çakışabilir (Coode ve Cullen 1982; Adams 2014). Ayrıca, bu tez çalışmasındaki ITAP verilerine göre çizilen dendrograma göre dış grupların tüm *J. excelsa* popülasyonlarından farklı bir şekilde gruplaşmadığı göz önüne alındığında, *J. polycarpus*'un farklı bir tür olduğu SSR bulgularına göre desteklense de ITAP bulgularına göre desteklenmemiştir. Ancak, geçmişte yapılmış olan moleküler belirteçlere dayalı filogenetik analizlerin sonuçlarına dayanılarak *J. excelsa* ve *J. polycarpus* farklı türler olarak ele alınmıştır (Adams 2001; Mao vd. 2010; Adams ve Schwarzbach 2012b). *J. excelsa* ile *J. polycarpus* arasındaki bu türleşmenin birbirinden keskin hatlarla ayrılan morfolojik karakterlere dayanan kanıtlarından daha çok moleküler verilerden elde edilen kanıtlara dayandığı görülmektedir. Bu yönüyle sözü edilen bu türleşmenin, kriptik (gizli) bir türleşme süreci olarak değerlendirilmesi gerektiği sonucuna ulaşılmaktadır.

Yukarıda özetlendiği gibi, *J. polycarpus*'un morfolojik olarak *J. excelsa*'dan ayırt edilmesi güç olsa da bu durum *J. foetidissima* için geçerli değildir. Ancak; bu türün belirgin morfolojik farklılıklarına karşın, moleküler analizlerin sonucunda *J. excelsa* türüne genetik olarak beklendiği kadar uzak olmadığı görülmüştür. Bitkiler aleminde türler arası melezleşmenin çok yaygın bir olgu olmasından (Seehausen 2004; Nolte ve Tautz 2010) hareketle, bu iki tür arasında melezleşmeler olabileceği güçlü bir olasılık olarak ortaya çıkmaktadır. Nitekim, R. P. Adams'ın pek çok çalışmasında ardıç türleri arasında da doğal melezleşme (hibridizasyon) gerçekleştiği gösterilmiştir (Adams 2013a; Adams 2013b; Adams 2015a; Adams 2015b). Antalya-Termessos popülasyonunda da *J. excelsa* ve *J. foetidissima* türleri iç içe bulunmaktadır. Bu tez çalışmasındaki *J. foetidissima* örnekleri de *J. excelsa* ile karışık halde bulunan Antalya-Termessos popülasyonuna aittir. Bu türün aynı yayılış alanını paylaştığı *J. excelsa* türü ile melezleşme olasılığı söz konusudur. Çünkü, bu tez çalışmasında *J. foetidissima* hem SSR hem de ITAP bulgularına göre genetik uzaklık bakımından *J. excelsa* popülasyonlarına *J. polycarpus*'a göre daha yakındır. *J. polycarpus* ise coğrafik olarak diğer popülasyonlara oldukça uzak olup gen akışı bakımından izole bir konumdadır. Bunun yanında, *J. foetidissima* kozalaklarında bulunan tohum sayısı genellikle bir olmak üzere, bazen 2-3 adede kadar çıkabilmektedir. Bu da, *J. excelsa* ile *J. foetidissima* arasında türler arası bir melezleşme olma olasılığı bulunduğunun morfolojik kanıtıdır.

5.3. Türkiye'deki Ardıç Ormanlarının Korunma Stratejileri

Ardıç ormanlarının koruma stratejilerinde en önemli unsurlar kaçak ağaç kesimlerini, aşırı otlatmayı, yangınları, yanlış arazi kullanımını engellemek kadar; var olan ormanların gençleştirilmesi, iyileştirilmesi ve kapladığı alanların arttırılmasıdır. Bu amaçla Balkan ülkelerinde yapılan koruma çalışmalara örnek olarak; Arnavutluk, Makedonya ve Yunanistan kesişiminde yer alan Prespa Gölü'nün kıyılarında ve her üç ülkenin de sınırları içerisinde bulunan *J. excelsa* ormanlarının korunması hususunda hazırlanan bir eylem planı verilebilir (Foatidis vd. 2012). Foatidis vd. (2012)'ye göre her ne kadar Makedonya'da olmasa da Arnavutluk ve Yunanistan'da *J. excelsa* ormanlarının korunması hususunda yasal düzenlemeler vardır. Bu eylem planında aşırı kesim ve otlatmaların, yapılaşmaların, arkeolojik kazıların ve ağaç zararlılarının denetim altına alınması, yangınların önlenmesi, bu türün ekolojik yararları hususunda bilgilendirme ve

eğitim çalışmalarının yapılması gibi hedefler bulunmaktadır (Foatidis vd. 2012). Bu gibi örneklerin yanında, Türkiye’de de ardıç ormanlarının korunması, gençleştirilmesi ve alansal olarak artırılmasına yönelik önemli çalışmalar yapılmaktadır.

Popülasyonların kendi yerinde korunmasına in-situ koruma, kendi yayılış alanlarının dışında korunmasına ise ex-situ koruma adı verilir. Ex-situ koruma; türlerin deneme alanlarında yeni yapay popülasyonları oluşturularak veya botanik bahçelerinde yetiştirilerek yapılabilir. Ayrıca; ex-situ koruma; gen, tohum veya klon bankaları aracılığıyla da gerçekleştirilebilmektedir (Şıklar 2001). Türkiye’de ardıç ormanlarının in-situ korunması, popülasyonların çeşitli yasal statüler içerisine alınması ile gerçekleştirilmektedir. Bunlar, milli parklar, gen koruma ormanları veya tohum meşcereleri olarak sıralanabilir. Örneğin, 2015 verilerine göre *J. excelsa* türüne ait toplam 3866 hektarlık bir alanı kaplayan 11 adet gen koruma ormanı bulunmaktadır (OGM 2015). Ex-situ koruma amacı ile de farklı orijinlerden getirilen ardıç fidelerinin pek çok yerde deneme alanlarına dikilerek buralarda yetiştirilmesi ve yapay popülasyonların oluşturulmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Ex-situ koruma alanlarına örnek olarak Isparta-Davraz (Yücadağ ve Gailing 2013) ve Antalya-Elmalı’daki deneme alanları verilebilir. Bu alanlar, *J. excelsa* türünün orijin olarak farklı bölgelerden getirilen belli sayıda fidelerinin dikilerek oluşturulduğu yapay popülasyonlardır.

Ardıç ormanlarının korunması kadar önemli bir diğer husus da bu ormanların gençleştirilmesidir. Türkiye ardıç ormanlarının gençleştirilmesi amacıyla da Orman Genel Müdürlüğü bünyesinde yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Orman Genel Müdürlüğü tarafından hazırlanmış olan “Ardıç Ormanlarının Rehabilitasyonu Eylem Planı 2006-2015” başlıklı yayında ardıç ormanlarının gençleştirilmesi ve geliştirilmesi için uygulanan üç önemli yöntem bulunmaktadır. Birinci yöntem, tohum ekim yöntemidir. Ağaçlandırılmak istenen alanlara sonbahar ve kış aylarında tohum ekimleri gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemle çimlenen ve bir yaşına gelebilen tohum yüzdesi türlere ve ekim yapılan arazinin yapısına göre değişmekle birlikte % 6-19 aralığındadır. Bir yaşından sonra fidanların hayatta kalabilme oranları genel olarak yüksektir (%80-90). Örneğin, *J. excelsa* türü için Isparta-Eğirdir’de yapılan ekimlerde bu oran kuzey bakısı için % 16, güney bakısı için % 19 olmuştur. Ekilecek tohumlar için kasım-aralık aylarında kozalaklar toplanır, kurutulur ve tohumlar kozalaklarından ayrılıp çeşitli işlemlerden geçirilerek sonbahar aylarında ekim yapılır. İkinci yöntem, yapay gençleştirmedir. Bu yöntemde ardıç fidanları kullanılır. Ağaçlandırılmak istenen sahaya fidan dikimi yapılmadan önce toprak işlenir ve mikoriza aşılması yapılır. Fidan dikimi yöntemi, en hızlı sonuç veren ve en başarılı yöntem olarak değerlendirilmektedir. Dikilecek fidanların ormanlardan sonbahar sonlarında hasat edilen tohumların yapay olarak çimlendirilmesi veya çeliklemeye başvurulacaksa çeliklerin köklendirilmesi ve fidan dikimlerinin yapılacağı güne kadar özel bahçelerde yetiştirilmesi gerekmektedir. Üçüncü yöntem ise doğal gençleştirmedir. Bu yöntem, bozuk ormanların rehabilitasyonu için uygun bir yöntemdir. Bu yöntem ile kuşların ardıç kozalaklarını yemesi ve dışkılması hedeflenir. Bu yöntemde kuşların tüneyebilmesi için direkler dikilir ve su ihtiyaçlarının karşılanması için havuzlar yapılır. Tüm bu yöntemlerde fidanların zarar görmemesi için tavşan, keçi, koyun ve büyükbaş hayvanlara karşı ağaçlandırma alanının korunması ve alanda gerekli seyreltme ve budama gibi genel bakım işlemlerinin takip edilmesi gerekmektedir.

Yukarıda sayılan yöntemler dışında, ardıçların çelikle üretilmeleri de mümkündür. Çelik alınacak ağaçların taze sürgünleri çelikleme için kullanılır. Çelikle

üretimde başarı şansı yüksektir. Çeliklerin köklenmesi için hormon ve fungusit takviyesi yapıldığında bu başarı daha da artmaktadır (Jones 1991). Dolayısıyla ardıç ormanlarının rehabilitasyonu ve gençleştirilmesinde çelikle çoğaltma yöntemi verimle kullanılabilen bir yöntem olarak görünmektedir. Tohumla üretim yöntemlerinde ise, tohumların canlılık oranlarının düşük olması verimi azaltan en önemli etmendir. Örneğin, Khajjak vd. (2012)'de Belucistan'daki üç farklı bölgeden toplanan *J. excelsa* tohumlarının canlılığı "Tetrazolium Testi" ile analiz edilmiştir. Bu analizin sonuçlarına göre, tohumlardaki canlılık oranının ortalama %10 dolaylarında olduğu bulunmuştur.

Ardıçlarda vejetatif yolla üretim yöntemlerinden, çelikleme dışındaki bir diğer yöntem ile bitki doku kültürleri üzerinden işleyen mikro-üretimdir. Zaidi vd. (2012)'nin çalışmasında genç sürgünlerin uçlarından alınan örnekler, eksplant olarak kullanılmak amacıyla steril edilip küçük parçalara bölünerek besiyerlerine kallus, sürgün ve kök oluşturmaları için yerleştirilmiştir. Besiyerlerindeki hormonların çeşidi ve derişimine göre farklı üç ardıç türü (*J. chinensis*, *J. excelsa* ve *J. horizontalis*) explantlarından kallus oluşum başarıları analiz edilmiştir. Bu üç türün explantlarında kullanılan hormon türlerine göre değişkenlik göstermek üzere %50-90 arasında değişen oranlarda kallus ve sürgün oluşumu gerçekleşmiştir. Kallus oluşumundan sonra sürgün oluşumları ve sürgünlerin oluşumlarından daha sonraki süreçte de köklenme gözlenmiştir. İki aylık deney süresi sonunda sürgün ve kök oluşturanlar, ek olarak iki ay süresince seralarda yetiştirilmiştir. İki aylık serada yetiştirme süreci sonunda ise hayatta kalma yüzdeleri *J. excelsa* için 42, *J. horizontalis* için 68 ve *J. chinensis* için ise 87 olarak bulunmuştur.

Ardıç tohumlarındaki çimlenme engellerinin aşılması üzerine değişik çalışmalar bulunmaktadır. Ardıç tohumları kullanılarak yapılacak gençleştirmelerde pek çok güçlük bulunmaktadır. Tohumların büyük bir yüzdesinin boş, ölü ve böcek yeniği olması, kozalaklarında reçine, blastokolin gibi maddelerin tohumlardaki dormansinin sürmesine neden olması bunların en önemli olanlarıdır. Ardıç türlerinde tohumların çimlendirilmesi ve tohumdan yetiştirme başarılarının artırılmasına yönelik bazı çalışmalar vardır. Örneğin Gülcü ve Gültekin (2005)'in boylu ardıç tohumlarının çimlendirilmesi üzerine yapılan çalışmasında, deney öncesi tohumlardaki çimlenme engelini kaldırılması amacıyla tohumları çeşitli işlemlere (küllü suda, NaCl ve sitrik asit çözeltilerinde bekletme, katlama yapma vb.) tabi tutulmuştur. Ön işlem sonrasındaki aşamalarda humus ve perlitlerin içinde tohumların farklı derinliklere (2, 4, 6, 8, 12 ve 16 mm) ekimleri gerçekleştirilmiştir. Her bir derinlikte kontrollerin yanında dört farklı koşulda (malçlanmış, malçlanmamış ve siperlenmiş, malçlanmamış, siperlenmiş ve periyodik olarak sulanmış) tohumların çimlenme ve sürgün verme yüzdeleri analiz edilmiştir. En yüksek çimlenme 2 ve 4 mm derinliğinde olmuştur. Bu derinlikte de en yüksek sürgün gelişimi (%60-62) malçlama, siperleme ve periyodik sulamanın birlikte uygulandığı tohumlarda gerçekleşmiştir.

Bir doktora çalışması olan Jones (1991)'de Eritre'de *J. excelsa* türüne ait ve aralarında 800'er metre uzaklık bulunan altı ağacın olgun kozalakları toplanmıştır. Tohumlar çıkartıldıktan sonra suda yüzdürülmüş ve dipte toplanan tohumlar sekiz hafta oda sıcaklığında bekletilerek tohumlardaki parazit yaban arılarının erginleşerek uzaklaşması sağlanmıştır. Sonra %1'lik sodyum hipoklorit ile yüzey sterilizasyonu yapılmış ve distile su ile durulanmıştır. Tohumlar, karanlık, nemli ve soğuk ortamda bekletildikten sonra derişik sülfürik asit çözeltilerinde bekletilmiş ve ardından durulanmıştır. Çimlenmeye hazırlık için ıslak pamuk içerisine alınan tohumların oda

sıcaklığında su emerek şişmesi sağlanmıştır. Ardından tohumlar 1-2 mm derinlikte ve kum, perlit ve humus karışımından oluşan ortamlara ekilmiştir. Ekilmiş tohumlar, sabit nem, fotoperiyot ve sıcaklıklardaki seralar ve büyüme odalarına konulmuştur. Kurulmuş 12 farklı deney düzeneğinde sonuç olarak, tohumlarda %7 ile %63 oranları arasında değişen çimlenme başarısı elde edilmiştir.

Literatürdeki çalışmalardan başka, Türkiye’de de ardıç türlerinin tohumla üretilmeleri konusunda çok büyük atılımlar gerçekleştirilmiş ve seri üretime geçilerek yılda 500,000 tohumdan ardıç fidesi geliştirilebilecek kapasiteye gelinmiştir (Yavuz 2014). 2003 yılında Eğirdir Orman Fidanlık Müdürlüğü bünyesinde ardıç fidanı üretimi çalışmalarına başlanmıştır. Yapılan bu çalışmalarla çok önemli başarılar elde edilmiş ve ardıç fidanlarının seri olarak üretimleri mümkün olmuştur. Antalya ve Konya’daki fidanlıklarda da aynı yöntemle üretim yapılmakta olup, üretilen fidanlar ağaçlandırma ve peyzaj düzenlemesinde kullanılmaktadır. Ayrıca, Lübnan’a da ardıç fidanları ihraç edilmiş ve aynı yöntemle Lübnan’da da ardıç fide üretimi yapılabilmesi için girişimde bulunulmuştur (Yavuz 2014). Bu yöntem; hasat edilmiş olgun ardıç kozalaklarının kurutulması, kırma makinesinde kırılması, patoz makinesi ile tohumların ayrılması, yıkanması, suyun dibinde kalan tohumların alınarak küllü-tuzlu suda bekletilmesi (Su yüzeyine çıkanlar boş tohumlardır) ve ardından bunların limonlu-sirkeli suda bekletilmesi şeklinde özetlenebilir. Son aşamada ise bu tohumlar, yıkanarak kurutulmakta ve soğuk hava depolarına kaldırılmaktadır (Yavuz 2014). Bu yöntem sayesinde çok değişik popülasyonlardan toplanan ardıç tohumları çimlendirilerek fidan haline getirilebilmektedir. Fidanlar, ağaçlandırma ve peyzaj amacıyla gerek görülen yerlere dikilebilmekte veya anaç bir ağaca aşılama yapılabilir. Bu yöntem ile ardıç tohumlarının çimlendirilerek fide elde edilmesindeki engeller büyük ölçüde ortadan kalkmış görünmektedir. Böylece, bozulmuş ardıç ormanları daha kolay gençleştirilebilecek ve yeni ormanlar oluşturulabilecektir.

Gerek bu tez çalışması ve gerekse de daha önce yapılmış diğer moleküler çalışmalar *J. excelsa* ve diğer ardıç türlerinin genetik çeşitliliklerini ve yapılarını ortaya koymuştur. Böylece, ardıç türlerinin farklı bölgelerdeki özgün gen kaynaklarının tespiti ve gen havuzlarının güncel durumlarının değerlendirilmesi de mümkün olmaktadır. Elde edilen sonuçlar ışığında, *J. excelsa* türü başta olmak üzere tüm ardıç türlerinin koruma stratejilerinde öncelikler belirlenebilmektedir. Örneğin; bu tez çalışmasındaki ITAP-Structure analizi sonuçlarına göre en özgün popülasyon yapısına sahip olduğu belirlenen popülasyonların (Konya-Hadim, Denizli-Acıpayam, Sinop-Boyabat, Isparta-Senirkent ve Antalya-Elmalı) korumasına öncelik verilebilir. Bunun yanında, genetik çeşitliliği yüksek popülasyonlardan alınan tohum veya çeliklerin önemli ölçüde tahrip olmuş veya soy-içi üreme baskısının yüksek olduğu düşünülen popülasyonlardaki birey sayısını arttırmak için kullanılması uygun olabilir. Sonuçta, genetik çeşitlilik ve özgün yapılar açısından zengin popülasyonların belirlenmesi, gen kaynaklarının korunmasında doğru ve etkili bir planlama yapılması bakımından önemlidir. Bu popülasyonlar in-situ koruma alanlarının seçimi ve ex-situ koruma alanlarının oluşturulmasında potansiyel bir kaynak olarak kullanılabilir.

6. SONUÇ

J. excelsa türünün bu tez çalışmasında Türkiye'deki popülasyonlarından geniş bir örnekleme yapılmış ve tür içi genetik çeşitlilik, popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşma ve izolasyon eğilimlerinin ne ölçüde olduğu SSR ve ITAP belirteçleri kullanılarak araştırılmıştır.

Literatürde başta *J. communis* olmak üzere çok sayıda ardıç türüyle ilgili genetik çalışma vardır. Ancak *J. excelsa* türü ile ilgili çalışmalar genellikle filogenetik ve moleküler sistematik alanlarındaki çalışmalardır. Popülasyonların genetik çeşitliliğin araştırıldığı çalışmaların sayısı sınırlıdır. Mevcut olanların da kapsamı dar olduğundan ve Türkiye'den yeterli sayıda popülasyon ele alınmadığından dolayı bu tez çalışmasının yapılması gerekliliği doğmuştur.

Bu tez çalışmasına, Türkiye genelinde geniş bir örnekleme yapılmasının yanı sıra toprak analizleri dahil edilerek ekolojik bir boyut da kazandırılmıştır. *J. excelsa* türünün yetiştiği toprakların genellikle kum ve kireç oranı yüksek ve derinliği az olan bir nitelikte olduğundan, bu türün ekstrem toprak koşullarında rahatlıkla yetişebildiği ve popülasyonlar oluşturabildiği görülmüştür.

Genetik çeşitlilik analizlerinde, önceki çalışmaların da bulgularına paralel olarak, bu tez çalışmasında saptanan genetik çeşitlilik düzeylerinin hem SSR hem de ITAP belirteçleri bakımından önemli derecede yüksek olduğu yönünde bulgular elde edilmiştir. *J. excelsa* türünün popülasyonları büyük ölçüde Türkiye'de yayılış gösterdiğinden bu tez çalışmasının bulguları, *J. excelsa* popülasyonlarının genetik darboğaz sorunu ile karşı karşıya olmadığını göstermektedir. Popülasyonların birbiri ile önemli ölçüde genetik farklılaşma eğilimlerinin olmadığı ve aralarında gen akışının devam sonucuna varılmıştır.

Habitat parçalanmasının *J. excelsa* türünün genetik yapısında önemli bir bozulmaya, genetik çeşitlilik kaybına ve genetik bir darboğaza neden olduğuna ilişkin bir sonuca ulaşılmamıştır. Hem bu tez çalışmasının hem de literatürdeki benzer çalışmaların bulguları *J. communis* ve *J. excelsa* gibi geniş bir coğrafyada yayılış gösteren ardıç türlerinin ekstrem ekolojik koşullara dayanıklı olduğu gibi, habitat parçalanması ve bundan kaynaklanan genetik bozulmaya henüz çok fazla maruz kalmadıkları sonucuna ulaşılmaktadır.

Bu tez çalışmasının tüm bulguları göz önüne alındığında, *J. excelsa* popülasyonlarının uyum güçlerinde dikkate değer bir azalmayı gösteren bir işarete rastlanmamıştır. Buradan da popülasyonların genetik açıdan sağlıklı olduğu ve popülasyonlarının gençleştirilmesi ve geliştirilmesi hususunda avantajlı bir konumda bulunduğu sonucuna ulaşılmaktadır. Ayrıca, ardıç tohumlarının doğru yöntemler kullanılarak çimlendirilmesindeki güçlüklerin aşılmasıyla başta *J. excelsa* türü olmak üzere Türkiye'de yetişen tüm ardıç türlerine ait popülasyonların korunması ve geliştirilmesinin önündeki zorlukların önemli ölçüde aşıldığı görülmektedir.

Yukarıda bu tez çalışmasının amaçları ve bu çalışma ile ulaşılan sonuçlar belirtilmiştir. Bunun yanında, vurgulanması gereken dört husus daha vardır. Birincisi başta *J. excelsa* olmak üzere diğer ardıç türlerinin (*J. communis*, *J. sabina*, *J. deltoides*, *J. macrocarpa*, *J. phoenicea*) Türkiye'deki popülasyonları moleküler yöntemlerle yeteri

kadar analiz edilmemiştir. Onun için son yılların gelişmiş, güvenilir yöntemleri olan ITS ve cpDNA gibi moleküler belirteçlerine dayanan, bu tez çalışması da dahil olmak üzere önceki çalışmaların sonuçlarını destekleyecek daha çok sayıda filogenetik, ve biyocoğrafik çalışmaya gereksinim vardır. İkincisi, *J. foetidissima*, *J. excelsa* ile aynı coğrafik bölgelerde yayılış gösterse de çok daha nadir bulunmaktadır. Bu tez çalışmasının benzeri başka moleküler çalışmalar ile bu türün koruma stratejilerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi açısından analiz edilmesi önemlidir. Üçüncüsü, özellikle Kuzey Amerika'da ardıç türleri arasında doğal melezleşme olduğunu gösteren çalışmalar bulunmakta ve bu bağlamda, *J. excelsa* ile *J. foetidissima* arasında da melezleşme ve gen katımı (introgresyon) olasılığı bulunmaktadır. Çünkü bu türlerin yayılış alanları bir arada ve iç içedir. Nitekim bu tez çalışmasında da *J. foetidissima*'nın, *J. excelsa* popülasyonlarına *J. polycarpus* türüne göre genetik olarak daha yakın olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu türlerin melezleşme eğilimlerinin analiz edileceği yeni bir çalışmanın planlanması uygun olacaktır. Dördüncüsü ise, Türkiye'den *J. excelsa* ve *J. polycarpus* popülasyonlarına ait örnekler ile İran-Azerbaycan coğrafyalarındaki aynı türlere ait popülasyonların karşılaştırıldığı başka filogenetik ve biyocoğrafik çalışmaların planlanması uygun olacaktır. Bunun nedenleri; *J. polycarpus*'un farklı bir tür olarak tanımlanmasının terpenoid bileşik örüntüsü ile RAPD gibi eski ve güvenilirliği az olan belirteçlerine dayanması ve ayrıca, Bayesian yaklaşımına göre yapılan filogenilerde *J. polycarpus*'un, *J. excelsa*'ya en yakın tür olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu nedenlerden ötürü, *J. polycarpus* ile *J. excelsa* arasındaki türleşme sürecinin; her iki türden de farklı ülkelerde yayılış gösteren çok sayıda popülasyonun dahil edilerek, özellikle ITS ve cpDNA belirteçlerine dayalı olarak analiz edileceği yeni çalışmaların planlanmasına ve önceki çalışmaların sonuçlarının desteklenmesine gereksinim vardır.

7. KAYNAKLAR

- Adams, R.P. 1999. Systematics of multi-seeded eastern hemisphere *Juniperus* based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27(7): 709-725.
- Adams, R.P. 2000a. Systematics of *Juniperus* section *Juniperus* based on leaf essential oils and random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(6): 515-528.
- Adams, R.P. 2000b. Systematics of smooth leaf margin *Juniperus* of the western hemisphere based on leaf essential oils and RAPD DNA fingerprinting. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(2): 149-162.
- Adams, R.P. 2000c. Systematics of the one seeded *Juniperus* of the eastern hemisphere based on leaf essential oils and random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(6): 529-543.
- Adams, R.P. 2000d. The serrate leaf margined *Juniperus* (Section *Sabina*) of the western hemisphere: systematics and evolution based on leaf essential oils and Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs). *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(10): 975-989.
- Adams, R.P. 2001. Geographic variation in leaf essential oils and RAPDs of *Juniperus polycarpos* K. Koch in central Asia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(6): 609-619.
- Adams, R.P. 2013a. Hybridization between *Juniperus grandis*, *J. occidentalis* and *J. osteosperma* in northwest Nevada I: Terpenes, Leviathan Mine, Nevada. *Phytologia*, 95(1): 58-69.
- Adams, R.P. 2013b. Hybridization between *Juniperus grandis*, *J. occidentalis* and *J. osteosperma* in northwest Nevada II: Terpenes, Buffalo Hills, Northwestern Nevada. *Phytologia*, 95(1): 107-114.
- Adams, R.P. 2014. *Junipers of the World: The Genus Juniperus*. Trafford Publishing, USA, 415 p.
- Adams, R.P. 2015a. Allopatric hybridization and introgression between *Juniperus maritima* R. P. Adams and *J. scopulorum* Sarg.: Evidence from nuclear and cpDNA and leaf terpenoids. *Phytologia*, 97(1): 55-66.
- Adams, R.P. 2015b. Allopatric hybridization and introgression between *Juniperus maritima* R. P. Adams and *J. scopulorum* Sarg. II. Additional Evidence from nuclear and cpDNA genes in Montana, Wyoming, Idaho and Utah. *Phytologia*, 97(3): 187-198.
- Adams, R.P. and Demeke, T 1993. Systematic Relationships in *Juniperus* based on Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs). *Taxon*, 42(3): 553-571.
- Adams, R.P. and Pandey, R.N. 2003. Analysis of *Juniperus communis* and its varieties based on DNA fingerprinting. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(11): 1271-1278.

- Adams, R.P. and Schwarzbach, A.E., 2012a. Taxonomy of *Juniperus*, section *Juniperus*: Sequence analysis of nrDNA and five cpDNA regions. *Phytologia*, 94(2): 280-297.
- Adams, R.P. and Schwarzbach, A.E., 2012b. Taxonomy of the multi-seeded, entire leaf taxa of *Juniperus*, section *Sabina*: SEQUENCE analysis of nrDNA and four cpDNA regions. *Phytologia*, 94(3): 350-366.
- Adams, R.P. and Schwarzbach, A.E., 2013a. Phylogeny of *Juniperus* using nrDNA and four cpDNA regions. *Phytologia*, 95(2): 179-187.
- Adams, R.P. and Schwarzbach, A.E., 2013b. Taxonomy of the turbinate shaped seed cone taxa of *Juniperus*, section *Sabina*: Revisited. *Phytologia*, 95(2): 122-124.
- Adams, R.P., Hsieh, C., Murata, J. and Pandey, R.N. 2002. Systematics of *Juniperus* from eastern Asia based on Random Amplified Polymorphic DNAs (RAPDs). *Biochemical Systematics and Ecology*, 30(3): 231-241.
- Adams, R.P., Morris, J.A., Pandey, R.N. and Schwarzbach A.E. 2005. Cryptic speciation between *Juniperus deltoides* and *Juniperus oxycedrus* (Cupressaceae) in the Mediterranean. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33(8): 771-787.
- Adams, R.P., Pandey, R.N., Leverenz J.W., Dignard, D., Hoegh, K. and Thorfinnsson, T. 2003. Pan-Arctic variation in *Juniperus communis*: historical biogeography based on DNA fingerprinting. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31(2): 181-192.
- Adams, R.P., Schwarzbach, A.E., Nyugen, S., Morris, J.A. and Liu J.Q. 2007. Geographic variation in *Juniperus sabina* L., *J. sabina* var. *arenaria* (E. H. Willson) Farjon, *J. sabina* var. *davurica* (Pall.) Farjon and *J. sabina* var. *mongolensis* R. P. Adams. *Phytologia*, 89(2): 153-166.
- Aguilar, R., Quesada, M., Ashworth, L., Herrerias-Diego, Y. and Lobo, J. 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology*. 17: 5177–5188.
- Allender, C. and King, G. 2004. Microsatellite information exchange for *Brassica*. <http://www.brassica.info/resource/markers/ssr-exchange.php> [Son erişim tarihi: 04.01.2018].
- Anonymus 1: http://bio.classes.ucsc.edu/bio107/Class%20pdfs/W05_lecture9.pdf[Son erişim tarihi: 04.01.2018].
- Axelrod, D.I. 1987. The late Oligocene Creede flora, Colorado. University of California, Publications in Geological Sciences, 130: 1–235, California.
- Axelrod, D.I. 1991. The early Miocene Buffalo canyon flora of Western Nevada. University of California, Publications in Geological Sciences 135: 1–76, California.
- Ayan, S., Küçük, M., Ulu, F., Gerçek, V., Şahin, A., ve Sivacıoğlu, A. 2004. Doğal bazı ardıç (*Juniperus* L.) türlerinin çelikle üretim olanakları. Gazi Üniversitesi, *Orman Fakültesi Dergisi-Kastamonu*, 4(1): 1-12.
- Bettencourt, S.X., Medonça, D., Lopes, M.S., Rocha, S., Monjardino, P., Monteiro, L., and Machado, A.C. 2015. Genetic diversity and population structure of the

- endemic Azorean juniper, *Juniperus brevifolia* (Seub.) Antoine, inferred from SSRs and ISSR markers. *Biochemical Systematics and Ecology*, 59: 314-324.
- Bilgen, B.B. and Kaya, N. 2017. Genetic diversity among *Pinus sylvestris* L. populations and its implications for genetic conservation: Comparison of nuclear and chloroplast microsatellite markers. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26: 6873-6881.
- Boratynsky, A., Lewandrowski A., Boratynska, K., Montserrat J.M. and Romo, A. 2009. High level of genetic differentiation of *Juniperus phoenicea* (Cupressaceae) in the Mediterranean region: geographic implications. *Plant Syst Evol*, 277: 163–172.
- Boratynski, A., Wachowiak, W., Dering, M., Boratynska, K., Sekiewicz, K., Sobierajska, K., Jasinska, A.K., Klimko, M., Montserrat, J.M., Romo, A, Ok, T. and Didukh, D. 2014. The biogeography and genetic relationships of *Juniperus oxycedrus* and related taxa from the Mediterranean and Macaronesian regions. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 174: 637-653.
- Coode, M.J.E. and Cullen J. 1982. *Juniperus* L. In: Davis, P.H. (Ed.). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburg Univ. Press., pp. 78-84, Edinburg.
- Collard, B.C.Y., Jahufer, M.Z.Z., Brouwer, J.B. and Pang, E.C.K. 2005. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica*, 142: 169-196.
- Cosson, P., Decroocq, V. and Revers, F. 2014. Development and characterization of 96 microsatellite markers suitable for QTL mapping and accession control in an Arabidopsis core collection. *Plant Methods*, 10:2.
- Çelik, N. 2013. Orman Yetiştirme Ortamı Etüdünün Önemi ve Genel Prensipleri. TÜRKİYE CUMHURİYETİ Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Orman Toprak ve Ekoloji Araştırmaları Enstitüsü Müdürlüğü Yayını, Ankara, 46 s. (<https://ekoloji.ogm.gov.tr/Lists/Haberler/Attachments/13/Dr.Nejat%20%20C3%87EL%C4%B0K,%20Mersin%20Sunumu.pdf>) [Son erişim tarihi: 20.02.2018].
- ÇŞB 2017. Topraktaki Ağır Metal Sınır Değerleri. Çevre ve Şehircilik Bakanlığı Mevzuatı, Ankara, 6 s. (http://sgb.csb.gov.tr/mevzuat/dosyalar/r_20131001003814507_7542c1f8-141f-4e9d-bc2f-3c94f17f0c62.pdf) [Son erişim tarihi: 04.01.2018].
- Dağdaş, S. ve Bilge, S. 2015. Türkiye Cumhuriyeti'nin orman alanlarını gösteren ilk haritası ve orman varlığımız üzerine-1926. *Orman Mühendisliği Dergisi*, 52(1-2-3): 28-32.
- Dellaporta, S.L., Wood, J. and Hicks, J.B. 1983. A Plant DNA Minipreparation: Version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1:19-21.
- Demirci, A. ve Avşar, M.D. 2000. Kahramanmaraş-Tekir orman Fidanlığı'nda boylu ardiç (*Juniperus excelsa* Bieb.) fidanı üretim çalışmaları ve değerlendirilmesi. *Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3(1): 84-89.
- Diwan, N. and Cregan, P.B. 1997. Automated sizing of fluorescent-labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 95(5-6): 723-733.

- Dizkırırcı, A., Güren, H.E., Önde, S., Temel, F., Akar, T., Budak, H. and Kaya, Z. 2008. Microsatellite (SSR) variation in barley germplasm and its potential use for marker assisted selection in scald resistance breeding, *International Journal of Integrative Biology*, 4(1): 9-15.
- Douaihy, B., Vendramin, G.G., Boratyński, A., Machon, N. and Dagher-Kharrat, M.B. 2011. High genetic diversity with moderate differentiation in *Juniperus excelsa* from Lebanon and the eastern Mediterranean region. *AoB Plants*, plr003: 1-14.
- Dzialuk, A., Mazur, M., Boratynska, K., Montserrat, J.M., Romo, A and Boratynski, A. 2011. Population genetic structure of *Juniperus phoenicea* (Cupressaceae) in the western Mediterranean Basin: gradient of diversity on a broad geographical scale. *Annals of Forest Science*, 68: 1341-1350.
- Earl, D.A. and vonHoldt, B.M. 2012. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4(2): 359-361.
- Eler, Ü. 2000. Ardıç Ormanlarımız. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, A(1): 87-96.
- Elibol, C. and Bilgen, B.B. 2017. Genetic diversity and molecular characterization of natural *Panocratium maritimum* L. populations by DNA markers. *Turkish Journal of Botany*, 41: 569-578.
- Evanno, G., Regnaut, S. and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611 – 2620.
- Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1: 47-50.
- Farjon, A. and Filer, D. 2013. An atlas of the World's Conifers. BRILL Publishers, Boston, 524 p.
- Farjon, A. 2013. *Juniperus excelsa*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013: e.T42232A2964786. <http://www.iucnredlist.org/details/42232/0> [Son erişim tarihi: 05.01.2018].
- Forster, P., Hohoff, C., Dunkelmann, D., Schürenkampp M., Pfeiffer, H., Neuhuber, F. and Brinkmann B. 2015. Elevated germline mutation rate in teenage fathers. *Proc. Biol. Sci.*, 282(1803): 20142898.
- Fotiadis, G., Angelova, N., Nikolov, N. Melovski, L., Karadelev, M., Avukatov, V. and Nikolov, L. 2012. Conservation Action Plan for Grecian Juniper Forests in the Praspas Lakes Watershed (Final Report). Global Environment Facility-Lawrence Jones Walters, ECNC, Netherlands, 55 p.
- Gaudeul, M., Taberlet, P. and Till-Bottraud, I. 2000. Genetic diversity in an endangered alpine plant, *Eryngium alpinum* L. (Apiaceae), inferred from amplified fragment length polymorphism markers. *Molecular Ecology*, 9: 1625–1637.
- Geng, Q., Qing, H., Ling, Z., Leelani, N., Yang, J., Yoshikawa, Y., Miki N.H., Wang, Z. and Lian, C. 2016. Characterization of polymorphic microsatellite markers for a

- coniferous shrub *Juniperus sabina* (Cupressaceae). *Plant Species Biology*, 32(3): 252-255.
- Gruwez, R., Leroux., O., Frenne, D., Tack, W., Viane, R. and Verheyen, K. 2011. Critical phases in the seed development of common juniper (*Juniperus communis*). *Plant Biology*, 15: 210-219.
- Guo, Y-P., Zhang, R., Chen, C-R., Zhou, D-W. and Liu J-Q. 2010. Allopatric divergence and regional range expansion of *Juniperus sabina* in China. *Journal of Systematics and Evolution*, 48(3): 153–160.
- Gupta, M., Chyi, Y.S., Severson, R. and Owen, J.L., 1994. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple sequence repeats. *Theor. Appl. Genet.*, 89(7-8): 998-1006,
- Gülcü, S. ve Gültekin, C. 2005. Boylu ardıç (*Juniperus excelsa* Bieb.) ve küçük kozalaklı katran ardıcı'nda (*Juniperus oxycedrus* L.) uygun ekim yöntemlerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, A(1): 37-48.
- Gülşen, O. ve Mutlu, N., 2005. Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. *Alatarım*, 4 (2): 27-37.
- Gülser, F., Çığ, A. ve Türkoğlu, N. 2012. Van'da doğal olarak yetişen ardıç (*Juniperus excelsa* Bieb.) bitkisinin meyvelerinin besin elementi içerikleri ile yetişme ortamının toprak özelliklerinin belirlenmesi. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.*, 2(2): 93-98.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., ve Babaç, M.T. 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul, 1290s.
- Hantemirova, E.V., Berkutenko, A.N. and Semerikov. V.L. 2012. Systematics and Gene Geography of *Juniperus communis* L. Inferred from Isoenzyme Data. *Russian Journal of Genetics*, 48(9), 920-926
- Hu, J., Pan, L., Liu, H., Wang, S., Wu, Z, Ke, W. and Ding, Y. 2011. Comparative analysis of genetic diversity in sacred lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) using AFLP and SSR markers. *Molecular Biology Reports*, 39(4): 3637-3647.
- Huh, M.K. and Huh, H.W. 2000. Genetic diversity and population structure of *Juniperus rigida* (Cupressaceae) and *Juniperus coreana*. *Evolutionary Ecology*, 14: 87-98.
- Jakobsson M. and Rosenberg N.A. 2007. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics*, 23(14): 1801-1806.
- Jones, P:S. 1991. Restoration of *Juniperus excelsa* Bieb. and *Olea europaea* L. subsp. *africana* (Mill.) p. S. Green woodlands in Eritrea. Ph. D. Thesis, University of Stirling, Department of Biological and Molecular Sciences, FK9 4LA, Scotland, 304 p.
- Juan, A., Fay, M.F., Pastor, J., Juan, R., Fernandez, I., and Crespo M.B. 2012. Genetic structure and phylogeography in *Juniperus oxycedrus* subsp. *macrocarpa* around the Mediterranean and Atlantic coasts of the Iberian Peninsula, based on AFLP and plastid markers. *European Journal of Forest Research*, 131: 845–856.

- Khantemirova, E.V. and Semerikov, V.J. 2010. Genetic variation of some varieties of common juniper *Juniperus communis* L. inferred from analysis of allozyme loci. *Russian Journal of Genetics*, 46(5): 546–554.
- Khajjak, M.H.1 Raza, A.M., Luqman, M., Yousafzai, A., Naudhani, S., Ali, G.M. and Saeed, M. 2016. Evaluation of seed viability of *Juniperus excelsa* (M. Bieb.) found in Balochistan by tetrazolium assay. *J. Appl. Emerg. Sci.*, 6(1): 31-35.
- Kimura, M. and Crow, J.F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49(4): 725-738..
- Klitschar, M., Dauber, E-M., Ricci, U., Cerri, N., Immel, U-D., Kleiber, M. and Mayr, W.R. 2004. Haplotype studies support slippage as the mechanism of germline mutations in short tandem repeats. *Electrophoresis*, 25(20): 3344,3348.
- Klug, W.S. and Cummings, M.R. 1999. Concept of Genetics. Prentice Hall, New Jersey-USA, 816 p. Öner, C. (Ed.) 2003. Genetik Kavramlar. Palme Yayıncılık, Ankara, 816 s.
- Koç, M., Karagöz, G., Demirci, M., ve Özbağcı, N. 2012. Türkiye Orman Varlığı-2012. Orman İdaresi ve Planlama Dairesi Başkanlığı Yayınları, Ankara, 27 s.
- Krauss, J., Bommarco, R., Guardiola, M., Heikkinen, R.K., Helm, A., Kuussaari, M., Lindborg, R., Öckinger, E., Pärtel, M., Pino, J., Pöyry, J., Raatikainen, K.M., Sang, A., Stefanescu, C., Teder, T., Zobel, M. and Steffan-Dewenter, I. 2010. Habitat fragmentation causes immediate and time-delayed biodiversity loss at different trophic levels. *Ecol Lett.*, 13(5): 597–605.
- Kurt, Y. 2011. Antalya-Düzlerçamı ortak bahçe deneme alanındaki altı farklı kızılçam (*Pinus brutia* Ten.) popülasyonunda cpSSR belirteçleri ile genetik çeşitliliğin belirlenmesi. Doktora Tezi, Akdeniz. Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, 115 s.
- Kvacek, Z. 2002. A new juniper from the Palaeogene of Central Europe. *Feddes Repertorium*, 113: 492–502.
- Leonardi, S., Piovani, P., Scalfi M., Piotti, A., Giannini, R. and Menozzi P. 2012. Effect of habitat fragmentation on the denetic diversity and structure of peripheral populations of beech in central Italy. *Journal of Heredity*, 103(3): 408–417.
- Levene, H. 1949. On a matching problem arising in genetics. *The Annals of Mathematical Statistics*, 20(1): 91-94.
- Lewontin, R.C. 1972. The apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology*, 6: 381-398.
- Li, G. and Quiros, C.F. 2001. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theoretical and applied genetics*, 103: 455-461.
- Li, Z-H., Liu, Z-L. Wang, Y-J., Fang, M-F., Wang, M-L., Li, Z-X. and Zhao G-F. 2013. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in Ping's juniper *Juniperus pingii*. *Conservation Genetic. Resources*, 5: 683–685.
- Little, D.P. 2006. Evolution and circumscription of the True cypresses (Cupressaceae: *Cupressus*). *Systematic Botany*, 31: 461–480.

- Mamıkoğlu, N.G. 2010. Türkiye'nin Ağaçları ve Çalıkları. Ntv Yayınları, İstanbul, 727 s.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.*, 27: 209–220.
- Mao, K., Hao, G., Liu, J., Adams, R.P. and Milne, R.I. 2010. Diversification and biogeography of *Juniperus* (Cupressaceae): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals. *New Phytologist*, 188: 254–272.
- McDermott, J.M. and McDonald, B.A. 1993. Gene flow in plant pathosystems. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 31:353–373.
- Meksem, K. and Kahl, G. 2005. The Handbook of Plant Genome Mapping: Genetic and Physical Mapping (v.1). Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim-Germany, 402 p.
- Meloni, M., Perini, D., Filigheddu, R. and Binelli G. 2006. Genetic Variation in Five Mediterranean populations of *Juniperus phoenicea* as revealed by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *Annals of Botany*, 97: 299–304.
- Merwe, M.V.D., Winfield, M.O., Arnold, G.M. and Parker J.S. 2000. Spatial and temporal aspects of the genetic structure of *Juniperus communis* populations. *Molecular Ecology*, 9: 379–386.
- Mezquida, E. T. , Rodriguez-Garcia, E. and Olano J.M. 2016. Efficiency of pollination and satiation of predators determinereproductive output in Iberian *Juniperus thurifera* woodlands. *Plant Biology*, 18: 147–155.
- Michalczyk, I.M., Sebastiani, F., Buonamici, A., Cremer, E., Mengel, C., Ziegenhagen, B. and Vendramin, G.G. 2006. Characterization of highly polymorphic nuclear microsatellite loci in *Juniperus communis* L. *Molecular Ecology Notes*, 6:346–348.
- Michalczyk I.M. 2008. Application of DNA marker systems to test for genetic imprints of habitat fragmentation in *Juniperus communis* L. on different spatial and temporal scales-Integration of scientific knowledge into conservation measures. Ph. D. Thesis, Philipps-University of Marburg, Department of Conservation Biology,Marbug/Lahn, 111 p.
- Michalczyk, I.M., Opgenoorth, L., Luecke, Y., Huck, S. and Ziegenhagen, B. 2010. Genetic support for perglacial survival of *Juniperus communis* L. in Central Europe. *The Holocene*, 20(6): 887–894.
- Milios, E., Smiris, P., Pipinis, E. and Petrou, P. 2009. The growth ecology of *Juniperus excelsa* Bieb. trees in the central part of the Nestos valley (NE Greece) in the context of anthropogenic disturbances. *Journal of Biological Research-Thessaloniki*, 11: 83–94.
- Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am.Nat.*, 106: 283–292
- Nei, M. 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 70(12): 3321–3323.
- Nei, M. 1987. Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, USA, 512 p.

- Nolte, A.W. and Tautz D. 2010. Understanding the onset of hybrid speciation. *Trends Genet.*, 26(2): 54-58.
- OGM 2012. Toprak Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi. TÜRKİYE CUMHURİYETİ Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü Yayını, Ankara, 3 s. (<http://ekoloji.ogm.gov.tr/Dokumanlar/Toprak%20analizi%20sonu%C3%A7lar%C4%B1n%C4%B1n%20de%C4%9Ferlendirilmes%20i.pdf>) [Son erişim tarihi: 04.01.2018].
- OGM 2013. Orman Atlası. TÜRKİYE CUMHURİYETİ Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Bilgi Sistemleri Dairesi Başkanlığı, Coğrafi Bilgi Sistemleri Şube Müdürlüğü Yayını, Ankara, 107 s. (<https://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/Yayinlar/Orman%20Atlasi.pdf>) [Son erişim tarihi: 04.01.2018].
- OGM 2014. Ardıç Ormanlarının Rehabilitasyonu Eylem Planı. TÜRKİYE CUMHURİYETİ Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Silvikültür Daire Başkanlığı Yayını, Ankara, 22 s. (<https://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/Yayinlar/Ard%C4%B1%C3%A7%20Ormanlar%C4%B1n%C4%B1n%20Rehabilitasyonu%20Eylem%20Plan%C4%B1.pdf>) [Son erişim tarihi: 04.01.2018].
- OGM 2015. Gen Koruma Ormanları (Adedi-Toplam alan). . TÜRKİYE CUMHURİYETİ Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü Yayını, Ankara, 2 s. ([https://ortohum.ogm.gov.tr/SiteAssets/Sayfalar/Gen-Koruma-Ormanlari/Gen%20Koruma%20Ormanlari%20\(Adeti-Toplam%20Alan\).pdf](https://ortohum.ogm.gov.tr/SiteAssets/Sayfalar/Gen-Koruma-Ormanlari/Gen%20Koruma%20Ormanlari%20(Adeti-Toplam%20Alan).pdf)) [Son erişim tarihi: 23.02.2018].
- OGM 2017. Türkiye Orman Varlığı 2015. TÜRKİYE CUMHURİYETİ Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü Yayını, Ankara, 32 s. (<https://www.ogm.gov.tr/ekutuphane/Yayinlar/T%C3%BCrkiye%20Orman%20Varl%C4%B1%C4%9F%C4%B1-2016-2017.pdf>) [Son erişim tarihi: 04.01.2018].
- Oğuz, H. 2008. Toprak Bilgisi Ders Notu. <http://gmyo.gumushane.edu.tr/media/uploads/gmyo-bitkisel/files/toprak-dersi-notlar.pdf> [Son erişim tarihi: 20.02.2018].
- Opgenoorth, L. 2009. Identification and characterization of microsatellite marker in the tetraploid *Juniperus tibetica* Kom. using next generation sequencing. *Conservation Genetic Resources*, 1(1): 253-255.
- Özdemir, A. ve Kahraman S. 2018. Toprak bilgisi ve bitki besleme. <http://www.kitapark.com/pdf/toprak-bilgisi-ve-bitki-besleme.pdf> [Son erişim tarihi: 19.01.2018]
- Palma-Otal, M., Moore W.S., Adams R.P. and Joswiak G.R. 1983. Morphological, chemical, and biogeographical analyses of a hybrid zone involving *Juniperus virginiana* and *J. horizontalis* in Wisconsin. *Canadian Journal of Botany*, 61(10): 2733-2746.

- Palombi, M. and Damiano, C. 2002. Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev). *Plant Cell Reports*, 20(11): 1061–1066.
- Peakall, R. and Smouse, P. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, 6(1): 288–295.
- Pecina-Quintero, V., Anaya-Lopez, J.L., Zamarripa-Colmenero, A., Montes-Garcia, N., Nunez-Colin, C., Solis-Bonilla, J.L. Aguilar-Rangel, M.R. and Prom, L. 2012. Genetic diversity of sweet sorghum germplasm in Mexico using AFLP and SSR markers. *Pesq. agropec. bras.*, 47(8): 1095-1102.
- Prochazka, B.G., Coates, P.S., Ricca, M.A., Casazza, M.L., Gustafson K.B. and Hull J.M. 2017. Encounters with Pinyon-Juniper influence riskier movements in greater Sage-Grouse across the great basin. *Rangeland Ecology & Management*, 70: 39–49.
- Pritchard J.K, Stephens M and Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics Society of America*, 155: 945–959.
- Rambaut, A. 2016. FigTree, Tree Figure Drawing Tool v. 1.4.3. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/> [Son erişim tarihi: 06.02.2018].
- Rawat, Y.S. and Everson, C.S. 2012. Ecological status and uses of juniper species in the cold desert environment of the Lahaul Valley, north-western Himalaya, India. *J. Mt. Sci.*, 9: 676-686.
- Raymond, M. and Rousset, F. 1995. GENEPOP Version 1.2: population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, 86: 248-249.
- Reed, D.H. and Frankham, R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, 17(1): 230-237.
- Rousset, F. 2008. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8: 103-106.
- Richard, G-F., Kerrest, A. and Dujon, B. 2008. Comparative genomics and molecular dynamics of DNA repeats in eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 72(4): 686–727.
- Roach, J. 2004. Source of Half Earth's Oxygen Gets Little Credit. https://news.nationalgeographic.com/news/2004/06/0607_040607_phytoplankton.html [Son erişim tarihi: 05.01.2018].
- Rumeu, B., Sosa, P.A., Nogales, M. and Gonzalez-Perez M.A. 2013. Development and characterization of 13 SSR markers for an endangered insular juniper (*Juniperus cedrus* Webb & Berth.). *Conservation Genetic Resources*, 5(2): 457-459.
- Rumeu, B., Vargas, P., Laen-Molina R., Nogales, M. and Caujape-Castells, J. 2014. Phylogeography and genetic structure of the threatened Canarian *Juniperus cedrus* (Cupressaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 175: 376–394.
- Ryther, J.H. 1970. Biological Sciences: Is the World's Oxygen Supply Threatened. *Nature*, 227: 374–375.

- Saeed, S. and Barozai M.Y.K. 2012. A review on genetic diversity of wild plants by using different genetic markers. *Pure Appl. Bio.*, 1(3): 68-71.
- Santos, T. and Telleria, J.L. 1994. Influence of forest fragmentation on seed consumption and dispersal of Spanish Juniper: *Juniperus thurifera*. *Biological Conservation*, 70: 129-134.
- Sarangzai, A.M., Ahmed, M., Ahmed, A., Tareen, L. and Jan, S.U. 2012. The ecology and dynamics of *Juniperus excelsa* forest in Balochistan-Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 44(5): 1617-1625.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L. ve Leblebici, E. 2004. Tohumlu Bitkiler Sistematigi, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 394 s.
- Seehausen O. 2004. Hybridization and adaptive radiation. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 19(4): 198-206.
- Sertse, D., Gailing, O., Eliades, N-G. and Finkeldey, R. 2011. Anthropogenic and natural causes influencing population genetic structure of *Juniperus procera* Hochst. ex Endl. in the Ethiopian highlands. *Genet. Resour. Crop Evol.*, 58: 849–859.
- Silva, L., Elias, R.B., Moura, M., Meimberg, H. and Dias E., 2011. Genetic variability and differentiation among populations of the Azorean endemic gymnosperm *Juniperus brevifolia*: Baseline information for a conservation and restoration perspective. *Biochem. Genet.* 49: 715–734.
- Smulders, M.J.M., Schoot, J.V.D., Arens, P. and Vosman, B. 2001. Trinucleotide repeat microsatellite markers for black poplar (*Populus nigra* L.). *Molecular Ecology Resources*, 1(3): 188–190.
- Sokal, R.R. 1979. Testing statistical significance of geographic variation patterns. *Syst. Zool.*, 28:227–232.
- Staub, J.E., Serquen, F.C. and Gupta, M. 1996. Genetic markers map construction and their application in plant breeding. *Hort. Science*, 31(5): 729-741.
- Szucko, I. and Rogalska, S.M. 2015. Application of ISSR-PCR, IRAP-PCR, REMAP-PCR, and ITAP-PCR in the assessment of genomic changes in the early generation of triticale. *Biologia Plantarum*, 59(4): 708–714.
- Şenol, Ş., Alaboz, P., Gülsoy, S. ve Özkan, G. 2018. Boylu ardıç (*Juniperus excelsa* Bieb.) ormanları altındaki toprakların fizikokimyasal özellikleri. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 19(1): 1-10.
- Şıklar, A. 2001. Orman ağaçlarında genetik çeşitlilik, gen koruma ve ülkemizdeki uygulamalar. *Orman Ağaçları ve Tohumları İslah Araştırma Müdürlüğü Dergisi*, 2: 95-104.
- Şişaneci, R. ve Terzi, M. 2018. Toprakta pH, tuzluluk, kireç ve bitkiler için önemi. <http://slideplayer.biz.tr/slide/1947497/> [Son erişim tarihi: 19.01.2018].
- Taiz, L. ve Zeiger, E. 2002. Plant physiology. Sinauer Associates, Massachusetts-USA, 690 p. Somyürek, H.İ. ve Türkan, İ. (Eds.) 2008. Bitki Fizyolojisi. Palme Yayıncılık, Ankara, 690 s.
- Tautz, D. and Schlötterer, C. 1994. Simple sequences. *Current Opinion in Genetics & Development*, 4(6): 832-837.

- Teixeira, H., Rodriguez-Echeverria S. and Nabais C. 2014. Genetic diversity and differentiation of *Juniperus thurifera* in Spain and Morocco as determined by SSR, *Plos One*, 9(2): e88996 (1-7).
- The World Bank 2015. Forest area (% of land area). <https://data.worldbank.org/indicator/AG.LND.FRST.ZS> [Son erişim tarihi: 04.01.2018].
- Tomitani, A., Knoll, A.H., Cavanaugh, C.V., and Ohno, T. 2006. The evolutionary diversification of cyanobacteria: Molecular–phylogenetic and paleontological perspectives. *Proceeding of National Academy of Science of USA*, 103(14): 5442–5447.
- Vemireddy, L.R., Archak, S. and Nagaraju, J. 2007. Capillary electrophoresis is essential for microsatellite marker based detection and quantification of adulteration of Basmati Rice (*Oryza sativa*). *J. Agric. Food Chem.*, 55: 8112–8117.
- Weir, B.S. and Cockerham, C.C. 1984. Estimating *F*-STATISTICS for the analysis of population structure. *Evolution*, 38(6): 1358–1370.
- Weller, P., Jeffreys, A.J., Wilson, V. and Blancheto, A.T. 1984. Organization of the human myoglobin gene. *EMBO J.*, 3: 439–446.
- Willson, C.J., Manos, P.S., and Jackson, R.B. 2008. Hydraulic traits are Influenced by phylogenetic history in the drought-resistant, invasive genus *Juniperus* (Cupressaceae), *American Journal of Botany*, 95(3): 299-314.
- Wilson, M.C., Chen, X-Y., Corlett, R.T., Didham, R.K., Ding, P., Holt, R.D., Holyoak, M., Hu, G., Hughes, A.C., Jiang, L., Laurance, W.F., Liu, J., Pimm, S.L., Robinson, S.K., Russo, S.E., Si, X., Wilcove, D.S., Wu, J. and Yu, M. 2016. Habitat fragmentation and biodiversity conservation: key findings and future challenges. *Landscape Ecol.*, 31: 219–227.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.*, 15(4): 323-54.
- Xiong, F., Liu, J., Zhong, R., Jiang, J., Han, Z., He, L., Li, Z., Tang, X. and Tang, R. 2013. Intron targeted amplified polymorphism (ITAP), a new sequence related amplified polymorphism-based technique for generating molecular markers in higher plant species. *Plant Omics Journal*, 6(2): 128-134.
- Yan, H. 2008. Genetic markers for jathorpha biodiversity evaluation and breeding. <http://slideplayer.com/slide/8168202/> [Son erişim tarihi 30.01.2018].
- Yang, H.X., Luo, R., Zhao, F.C., Liu, T.Y., Liu, C.X. and Huang, S.W. 2013. Constructing genetic linkage maps for *Pinus elliottii* var. *elliottii* and *Pinus caribaea* var. *hondurensis* using SRAP, SSR, EST and ISSR markers. *Trees*, 27: 1429-1442.
- Yavuz, Y. 2014. Türk mühendislerinden devrim gibi buluş. <https://odatv.com/turk-muhendislerinden-devrim-gibi-bulus-2907141200.html> [Son erişim tarihi: 20.02.2018].
- Yeh, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T. 1999. PopGen32 computer program (ver. 1.31) microsoft windows based freeware for population genetic analysis. <https://sites.ualberta.ca/~fyeh/popgene.pdf> [Son erişim tarihi: 05.01.2018].

- Yorgancılar, M., Yakışır, E. ve Erkoyuncu M.T. 2015. Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı,. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2): 1-12.
- Yücedağ, C. and Gailing, O. 2013. Genetic variation and differentiation in *Juniperus excelsa* M. Bieb. populations in Turkey. *Trees*, 27(3): 547-554.
- Zaidi, M.A., Khan, S., Jahan, N., Yousafzai, A. and Mansoor, A. 2012. Micropropagation and conservation of three *Juniperus* species (Cupressaceae). *Pak. J. Bot.*, 44: 301-304.
- Zangiabadi, S., Naseri, F. and Ahmadimoghadam, A. 2012. Investigation on silvicultural properties and soil characteristics of *Juniperus excelsa* M. Bieb in the southeast of Iran. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 12(3): 269-274.
- Zhang, Q., Chiang, Y., George, M., Liu, Q. and Abbott, R.J. 2005. Phylogeography of the Qinghai-Tibetan Plateau endemic *Juniperus przewalskii* (Cupressaceae) inferred from chloroplast DNA sequence variation. *Molecular Ecology*, 14: 3513–3524.
- Zhang, Q., Yang, Y-Z., Wu, G-L., Zhang, D-Y. and Liu, J-Q. 2008. Isolation and characterization of microsatellite DNA primers in *Juniperus przewalskii* Kom (Cupressaceae). *Conservation Genetics*, 9: 767–769.
- Zhou, Q., Luo, D., Ma, L., Xie, W., Wng, Y., Wang, Y. and Liu, Z. 2016. Development and cross-species transferability of EST-SSR markers in Siberian wild rye (*Elymus sibiricus* L.) using Illumina sequencing. *Scientific Reports*, 6: 20549 (1-10).

ÖZGEÇMİŞ

ÖZAY H. EVREN
ozayevren86@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2008-2012	Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (2011-2012) Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı (2008-2011)
Lisans 2003-2008	Gazi Üniversitesi, Gazi Eğitim Fakültesi, Biyoloji Öğretmenliği Bölümü

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırma Görevlisi 2011-2018	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Antalya
----------------------------------	---

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- Evren, Ö.H., Yüzbaşıoğlu, E. and Dadandı M.Y. 2015. Determination of intra-specific genetic variation of *Phlomis kurdica* and *Phlomis oppositiflora* and investigation for the hybridity of *P. x melitenense* (Lamiaceae) by means of molecular markers. *Biologia*, 70(9): 1159-1171.

2-Koç, S., Evren, Ö.H. and Çetin, H. 2016. Evaluation of some plant fruit extracts for the control of West Nile Virus vector *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *J Arthropod-Borne Dis.*, 10(4): 595–601.

Ulusal ve uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Evren, Ö.H., Yüzbaşıoğlu, E., Dadandı M.Y. and Sezer, G. 2012. Determination of intra-specific genetic variation of *Phlomis kurdica* and *Phlomis oppositiflora* and investigation for the hybridity of *P. x melitenense* (Lamiaceae) in terms of molecular markers. The Second International Symposium on the Biology of Rare and Endemic Plant Species (BIORARE-2012), Fethiye, Muğla, Turkey.

2- Sezer, G., Yüzbaşıoğlu, E., Dadandı M.Y. and Evren, Ö.H. 2012. Determination of intra- species genetic variation of the endemic species, *Phlomis physocalyx*, by using ISSR markers. The Second International Symposium on the Biology of Rare and Endemic Plant Species (BIORARE-2012), Fethiye, Muğla, Turkey.

3- Evren, Ö.H., Koç, S. ve Çetin, H. 2015. *Pyracantha coccinea* M. Roem. (Ateş dikeni, Rosaceae) meyve ekstraktının *Culex pipiens* larvaları üzerine toksik etkisi. İkinci Ulusal Botanik/Bitlimi Kongresi, Afyon-Türkiye.

