

**T.C.
ORMAN GENEL MÜDÜRLÜĞÜ**

**Yabani Sakız (*Pistacia lentiscus*) Popülasyonlarında ve Sakız Klon
Parkında Genetik Çeşitliliğin Moleküler Belirteçler Yardımı ile Tespiti**

**Identification of genetic diversity by molecular markers in natural
Pistacia lentiscus populations and mastic clone park**

PROJE NUMARASI: ANK 0421631/2015-2017

PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Dr. Gaye KANDEMİR,

**ARAŞTIRMACILAR: Dr. Yasemin TAYANÇ,
Dr. Burcu ÇENGEL,
Dr. Selim KAPLAN
Dr. Hikmet ÖZTÜRK**

**ORMAN AĞAÇLARI VE TOHUMLARI ISLAH ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRLÜĞÜ**

KASIM/2017

ANKARA-TÜRKİYE

ÖNSÖZ

Bu projede ekonomik olarak önemli bir tür olan sakız ağacının, sakız üreten ağaçlardan oluşturulan klon parkında ve yabani sakız popülasyonlarındaki genetik çeşitliliği incelenmiştir. Türün önemi Orman Genel Müdürlüğü tarafından 2014- 2019 yıllarını kapsayan “Sakız Eylem Planı” nda da belirtilmiştir. Proje sonunda elde edilen bulgular ülkemiz ormancılığında büyük bir eksiklik olan genetik çalışmaların boşluğunu bir nebze de olsa doldurabilecektir.

Bunlara ilaveten analizlerin yapımında katkıda bulunan Prof. Dr. İrfan KANDEMİR’e, popülasyonların dağılım haritasını yapan Murat ÇETİNER’e, klon parkının örneklerinin toplanmasında yardımcı olan Enver ÖZTEKEŞİN ve Burcu ÖZTÜRK’e, sakız klon parkı kurulumunu gerçekleştirenlerden Sayın Mahir Yücel KESKİN’e ve TEMA’ya teşekkür ederiz.

Dr. Gaye KANDEMİR
Dr. Yasemin TAYANÇ
Dr. Burcu ÇENGEL
Dr. Selim KAPLAN
Dr. Hikmet ÖZTÜRK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vi
ÖZ.....	vii
ABSTRACT.....	viii
GİRİŞ.....	1
LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
MATERYAL VE YÖNTEM	
2.1. Örneklenen Popölasyonlar.....	4
2.2. Örnekleme Yöntemi.....	4
2.3. DNA İzolasyonu	5
2.4. Elde Edilen DNA Miktarlarının Ölçölmesi ve Seyreltilmesi.....	6
2.5. PCR Optimizasyonu.....	6
2.6. Bantların Okunup Değerlendirilmesi.....	7
2.7. İstatistik Değerlendirme.....	7
BULGULAR	7
TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER.....	16
ÖZET	19
SUMMARY.....	19
KAYNAKÇA.....	19

KISALTMALAR

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

CTAB : Setiltrimetil Amonyum Bromür

SSR : Mikrosatellitler

PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu

dNTP : Deoksi Nükleotid Trifosfat

UPGMA: Filogenetik Analiz Kümeleme Yöntemi

(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)

He : Beklenen Heterozigotluk

Ho : Gözlenen heterozigotluk

Na : Gözlenen allel sayısı

Ne : Etkili allel sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.Pistacia lentiscus meyvesi ve yaprağı.	1
Şekil 2. Örneklenen popülasyonların harita üzerindeki konumları.....	5
Şekil 3. Moleküler varyans yüzdesi.....	10
Şekil 4.Faktöriyel karşılık gelme analizi.	11
Şekil 5. Popülasyonların yapısı (BAPS=Bayesian Analysis of Population Structure)...	12
Şekil 6. Popülasyonların yapısı (BAPS=Bayesian Analysis of Population Structure)...	13
Şekil 7.Nei genetic mesafe değerleri.	14
Şekil 8. Benzerlik olasılığı.....	15
Şekil 9. Klonlar arasında farklılaşma.....	16

Tablo 1. Örneklenen popülasyonlar ve özellikleri	4
Tablo 2. SSR primerleri dizileri	6
Tablo 3. PCR tepkime karışımı.....	7
Tablo 4. PCR döngüsü.....	7
Tablo 5. Genetik farklılaşma değerleri.....	8
Tablo 6. Popülasyonlarda beklenen ve gözlenen heterozigotluklar	8
Tablo 7. AMOVA.....	9
Tablo 8. Popülasyonlar arasındaki Nm değerleri	13
Tablo 9. Nei'nin genetik mesafe değerleri.....	14
Tablo 10. Klonlar arası benzeşme.....	15

ÖZ

Sakız ağacı (*Pistacia lentiscus*) Akdeniz maki örtüsünün önemli bir ağacıdır. Türkiye’de sakız ağacının *Pistacia lentiscus* ve *Pistacia lentiscus* var. *chia* olmak üzere iki taksonu bulunmaktadır. Her iki taksonda da ağacın gövdesinde oluşan yaralanmalar sonucu floemde yer alan reçine kanallarından akma olmakla birlikte, mastik adı verilen damla sakızı üretimi yalnız *P. lentiscus* var. *chia* dan yapılmaktadır. Ekonomik ve ekolojik açıdan oldukça önemli olan bu türün koruma altına alınması gelecekteki popülasyonların devamlılığı için gereklilik arz etmektedir. Ayrıca türün etkili korunması için genetik bilgi gereklidir.

Bu çalışmada, Orman Genel Müdürlüğü eylem planında da yer almakta olan sakız ağacının; klon parkı ve yabani sakız ağacı popülasyonlarının genetik çeşitliliklerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Bu gaye doğrultusunda kurulan sakız klon parkındaki 90 bireyin SSR primerleri ile yakınlıkları tespit edilmiştir. 5 klonun aynı bant yapısına sahip olduğu, 2 klonunda oldukça benzer yapıda olduğu bulunmuştur. Yine aynı primerler kullanılarak dağınık yayılış gösteren 3 popülasyondan İzmir- Çeşme, Muğla-Fethiye ve Muğla-Köyceğiz popülasyonlarından örneklenen 20 dişi 20 erkek olmak üzere her bir popülasyondan 40 birey kullanılarak popülasyonların genetik çeşitlilik bilgileri elde edilmiştir. Popülasyonlar arası farklılaşma ($G_{st}=0.0618$) oldukça düşük bulunmuştur. Ancak yabani popülasyonlarla klon parkı arasındaki varyasyon yüzdesi %16 dır. Popülasyonlar arası en yüksek varyasyon Çeşme erkek ($H_o=0.467$) popülasyonunda bulunmuştur. En düşük varyasyon klon parkında görülmüştür ($H_o=5.75$).

Anahtar kelimeler: *Pistacio lentiscus*, *Pistacio lentiscus* var. *Chia*, Yabani Sakız, Mikrosatellit, SSR.

ABSTRACT

Mastik tree (*Pistacia lentiscus*) is one of the important shrubs in Mediterranean scrub. In Turkey there are two taxons of mastics trees as *Pistacia lentiscus* and *Pistacia lentiscus* var. *chia*. Although, there is secretion of gum from both taxons by the injury of phloem channels of trees, mastic production has been get only from *P. lentiscus* var. *chia*. Which are very important economically and ecologically therefore the conservation of this species are essential for the sustainability of future populations. In addition, for the effective protection of species, there is the need of genetic knowledge.

Aim of this study is to examine the genetic diversity of natural populations and selected clones of mastic trees which is in the action plan of General Directorate of Forestry. According to this objective individuals sampled from three populations and from clone park will be screened with SSR markers.

In the line of this goal the relationship of 90 clones in clone park was determined by SSR primers. It has been found that 5 clones have the same band structure and 2 clones have a very similar structure. Using the same primers, genetic diversity information of populations was obtained by using 40 individuals from each population, 20 females and 20 males sampled from İzmir- Çeşme, Muğla-Fethiye and Muğla-Köyceğiz populations from 3 populations with scattered distribution. Population differentiation were found to be quite low ($G_{st} = 0.0618$). However, the variance between wild populations and Clone Park is 16%. The highest variation among the populations was found in the Çeşme male ($H_o = 0.467$) population. The lowest variation was found in the clone park ($H_o = 5.75$).

Key words: *Pistacio lentiscus*, *Pistacio lentiscus* var. *Chia*, mastik tree, microsatellit SSR

GİRİŞ

Pistacio lentiscus Anacardiaceae ailesine ait bir tür olup *Pistacia lentiscus* var. *chia* sakız üretimi yapılan varyetesi olup ilk olarak Sakız adasında kültüre alınmıştır (BROWICZ 1987; SAVIDIS, 2000; ZOGRAFOU ve ark. 2010'dan).

Özellikle Batı Ege ve Sakız Adası'nda yetişmekte olan sakız ağacı herdem yeşil olması, toprağı örtmesi nedeni ile erozyonu da önleyen maki ekosisteminin önemli bir türüdür. Kuraklığa da dayanıklı olduğu söylenen bu tür yabancı olarak Muğla, İzmir, Antalya, Mersin ve Hatay'da doğal yayılış göstermektedir.

Sakız ağacı yabanisi *Pistacia lentiscus* L. olarak bilinmekte sakız elde edilen varyetesi de *Pistacia lentiscus* var. *chia* olarak adlandırılmaktadır (Şekil 1). Sakız ağacı dioik (dioecious) yani dişi ve erkek bireylerin farklı ağaçlarda oluşu bir bitki olup sakız veren ağaçlar genellikle erkek bireylerdir.



Şekil 1. *Pistacia lentiscus*; meyvesi ve yaprağı

Sakız ağacı Akdeniz sahillerinde Suriye'den İspanya'ya kadar uzanan oldukça geniş bir yayılış göstermektedir ancak yalnızca Yunanistan'ın Sakız (Chios) Adasında, Türkiye'nin de Çeşme İlçesinde kültüre alınmış formu antik çağlardan buyana bulunmaktadır. Gerekli edafik (toprak ve onun bitki ve hayvan yaşamı üzerindeki etkisi) faktörler sağlanmadığında sakız ağaçlarından sakız üretimi yapılamamaktadır (ACAR 1988). Geçmişte Sakız Adasında bulunan miktar kadar ağacın Çeşme'de de bulunmasına rağmen son yıllarda sakız üretimi olumsuz etkilenmektedir. Bunların başında sakız üretimi yapan nüfusun azalması ve ağaçların kesilmesi gelmektedir. Günümüzde sakızın toptan kilogram satış fiyatı kaliteye bağlı olarak değişmekle birlikte 120-180 avro arasında değişmektedir (ANONIM 2014). Hâlihazırda sakız üretimi Sakız Adası'ndaki 20 kooperatifin elindedir ve yıllık sakız üretimi de 80-120 ton arasında değişmektedir (BAKMAZ ve BAKMAZ 2012). Türkiye'de ham sakız ithal eden ilk üç ülkenin içerisinde yer almaktadır. Ham sakızın ithalat değeri yaklaşık yılda ortalama 1 milyon doları bulmaktadır (TUIK ve TRADEMAP verileri; ANONIM 2014'den). Ülkemizde, İzmir Orman Bölge Müdürlüğü'nün ve sivil toplum örgütlerinin teşvikleri ve ağaçlandırma çalışmaları sonucunda sakız üretimi yapılmaktadır ancak henüz ticari üretim gerçekleştirilmemektedir (ANONIM 2014). Sakız ağacı yetiştiriciliği ve sakız üretiminin yörede bitme noktasına gelmiş olması, sakız ağacı üzerindeki olumsuz antropogenik etkinin artması, ekonomik açıdan çok büyük getirisi olan ve tehlike altındaki bu türün

varlığının sürdürülmesini elzem hale getirmektedir. Tehlike altında olan bu türün çoğaltılması, yöre ve ülke ekonomisine katkı sağlayacak hale getirilmesi, sakız üretim amaçlı ormanların oluşturulması ve yok olmakta olan üretim kültürünün yeniden canlandırılması maksadı ile Orman Genel Müdürlüğü 2014-2019 yıllarında sakız eylem planını başlatmıştır. Sakız Eylem Planındaki temel hedef sakız üreten ağaca odaklanılmasını içermektedir. Sakız Eylem Planına uyumlu olarak 2012 yılında başlanan ve TEMA Vakfıyla işbirliği ile oluşturulan klon parkı sakız veren ağaçlardan kurulmuştur. Sakız ağacından üretilen sakız birçok sektörde kullanılmaktadır. Sağlık, gıda ve kozmetik bunların başında gelmektedir (ANONİM 2014). Ayrıca ağacın diğer ürünleri olan yaprağından elde edilen yağlar da çeşitli etken maddeler içerir.

Sakız klon parkının kurulma amaçları şöyle özetlenebilir. Mevcut verimli sakız ağaçlarını, güvenli bir alanda koruma altına almak ve bu ağaçların gen havuzunu korumaktır. Böylece kitlesel sakız ağacı fidanı üretmek için soy kayıtları belli materyal alt yapısı oluşturulmaktadır. Buna ilaveten klon parkında yer alan materyalin periyodik olarak canlandırma kesimleri ile yeniden gençleşmeleri sağlanacak böylelikle vejetatif üretime engel olan yaşlılık sorunu kontrol altına alınacaktır. Ayrıca bu klon parkı ıslah çalışmalarına temel oluşturabilecektir. Ancak bu klon parkından ıslah ve koruma amaçlı istifade edebilmek ve kurulan klon parkının gelecek nesillere aktarabilmek için genetik tabanı hakkında bilgi edinilmesi gerekmektedir. Genetik çeşitliliğin yüksek olması bu nesillerin garantisidir.

Mikrosatellit ya da SSR (Simple Sequence Repeats) belirteçleri popülasyon genetiği çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Mikrosatellitler, genomda bulunan genelde 2-6 baz çiftlik kısa zincir/sıra tekrarlarıdır. Çeşitlilik ve geniş yayılım özellikleri nedeniyle popülasyon genetiğinde sıklıkla kullanılırlar. Yüksek polimorfizm göstermeleri, kodominant olmaları güvenilirlik ve tekrarlanabilir olmalarından dolayı popülasyon yapısının belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Mikrosatellit (SSR) markörler bitkilerde popülasyonlar arasındaki gen akışını ve genetik yapılarını belirlemek için kullanılmaktadır. Mikrosatellit bölgeleri her tür için bireysel tespit edilmektedir (ECHT ve ark. 1996). Bunun dışında bazen yakın türlerdeki mikrosatellit bölgeleri de örtüşmektedir. ALBALANDEJO ve arkadaşları (2008) *P. Lentiscus*'a özel 8 mikrosatellit markörü bulmuşlardır. ALBALANDEJO ve arkadaşları (2008) çalışmalarında daha önce AHMAD ve arkadaşlarının (2003) *P. vera* da izole ettikleri 14 farklı izoenzim markörünün amplifikasyonlarının zayıf olduğunu ve daha düşük polimorfizm gösterdiklerini söylemişlerdir.

Ekonomik olarak oldukça fazla gelir getiren sakız üretimi ülkemizde sınırlı sayıda ağaçtan yapılmaktadır. Üstelik bu ağaçların genetik yapıları bilinmemektedir. Sınırlı sayıdaki bu ağaçlar az sayıda klondan çoğaltılması durumunda genetik çeşitliliklerinin düşük olması nedeniyle şişe-boğazı (bottle-neck) etkisinde olup yok olma ihtimali oldukça yüksektir. Bu nedenle klon bankasındaki bireylerin genetik çeşitliliğinin bilinmesi önem arz etmektedir. Genetik çeşitliliğin olmadığı durumda sakız klon parkından sürdürülebilir sakız tarımı ve sakız ağacı üretimi oldukça güç olacaktır. Bundan dolayı doğal popülasyonlar çalışılmalıdır. Yabani sakız ağaçlarının genetik çeşitliliğinin bilinmesi ve yüksek genetik çeşitliliğe sahip sakız ağacı popülasyonlarının bulunması ile bu türün devamlılığı garanti altına alınacaktır.

Bu çalışmada Sakız ağacı klon parkının ve örneklenen yabani sakız popülasyonlarının genetik yapılarını tespit etmek ve klon parkında yer alan sakız ağaçlarının birbirleri ile olan akrabalık derecelerini ve yabani popülasyonlarla olan ilişkisini belirlemek amaçlanmaktadır.

LİTERATÜR ÖZETİ

Pistacia cinsi Akdeniz havzasında; *Pistacia vera*, *P. atlantica*, *P. khinjuk*, *P. terebinthus*, *P. eurycarpa*, *P. palaestina* ve *P. lentiscus*, olmak üzere yedi türle yayılış göstermektedir. Amerika kıtası uzak ve orta Asya'da da yayılış gösteren türler ile birlikte bu cinse ait toplam on bir tür olduğu bilinmektedir. Türkiye Florasında yazıldığına göre *P. lentiscus* İspanya, Portekiz ve İtalya'da bulunmaktadır. Türkiye'de İstanbul'dan İskenderun'a kadar geniş bir yayılış göstermektedir. Kayseri ve Ankara'dan da örnekler bulunduğu söylenmektedir (DAVIS 1982). Sakız (mastik) ağacı *Pistacia lentiscus* var. *chia* Anacardiaceae ailesinden olup Yunanistan'ın Sakız Adası güneyinde kültüre alınmış bir türdür (ZOHARY 1952; ZOHARY 1972; BROWICZ 1987). Sakız ağacı 3-4 m uzunluğunda, dioik (erkek ve dişi çiçeklerin farklı bireylerde oluşması), dişi çiçekleri rüzgârla tozlaşan ve tohum dağılımı kuşlar tarafından yapılan bir Akdeniz bitkisidir (HERRERA 1984; JORDANO 1988). SAVIDAS (2000)'ın Sakız Adasında bulunan fosiller ile yaptığı çalışmaya göre bu ağacın varlığının iki bin yıl öncesine vardığı anlaşılmaktadır. Sakız ağacı ile yapılan çalışmalar erkek genotiplerin sakız miktarı ve kalitesi bakımından farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (PARLAK ve ALBAYRAK 2011; CARUSO ve ark. 1998). Hem dişi hem de erkek ağaçlar sakız salgıladığı halde dişi ağaçların sakızının hem daha az hem de daha kalitesiz olduğu bilinmektedir (PARLAK ve ALBAYRAK 2011'dan). Bundan dolayı sakız üretimi erkek ağaçlardan yapılmaktadır. Sakız üretimi için Sakız ağacının yabani ırklarına varyete *chia*'dan aşı yapılmaktadır. Bu altlıklar *P. lentiscus* olmakla birlikte, PARLAK ve ALBAYRAK (2011) çalışması göstermiştir ki *P. atlantica* altlık olarak kullanıldığında daha iyi sonuç alınmıştır.

Sakız ağacı (*P. lentiscus* L.) Akdeniz maki ekosisteminde önemli bir yer almaktadır. Kuraklığa dayanıklı, yapraklarını dökmeyen bu tür, yangın sonrası ağaçlandırmalarda ve erozyon önleyici olarak eğimli arazide kullanılmaktadır (MULAS ve ark. 1998). Sakız ağacının sakız vermeye başlaması için altı yaşına ulaşması yeterlidir ancak üretime 12-15 yaşlarında başlanabilir. Ağacın tam verim elde edilecek yaşa gelmesi 40 -50 yılı bulmaktadır (PARLAK ve ALBAYRAK'dan 2011, ANONİM 2014).

DOĞAN ve ark. (2003) *P. lentiscus* un Batı Anadolu'da dağılım gösteren sakız ağaçlarında toprak mineral yapısıyla olan ilişkisini incelemiştir.

Sakızın besin katkı maddesi olarak kullanımının yanı sıra tıpta da kullanım alanları bulunmaktadır. Antik çağlardan beri sakız ağacından elde edilen çeşitli ürünler geleneksel olarak Akdeniz ülkelerinde eczacılıkta kullanılmaktadır. En geniş kullanım alanı meyvesinden izole edilen sabit yağlardır. Yapraklar; boğaz ağrılarını giderici ve mide ağrılarında aynı zamanda şeker ve tansiyon düşürücü olarak kullanılmaktadır (ABDELDJELIL ve ark. 2014). Tıbbi etkileri konusunda yapılan çalışmalar; içerisindeki perillyl alkol, tümör kemoterpentivleri, kemoterapatik ve angiogenik maddeler dolayısı ile sakız yağı tümör hücrelerinin büyümesini önleyici olarak kullanılmaktadır (LAUTRARI ve ark. 2006). Ayrıca Sakız salgısının kompozisyonu incelendiğinde altmış dokuz farklı bileşenden oluştuğu ve anti-bakteriyel ve anti-fungal etkisinin olduğu tespit edilmiştir (MAGIATIS ve ark. 1999).

ABUDILI ve arkadaşları (2016) Sakız Adası ve Çeşme yarımadasından örneklediği 12 dişi 12 erkek birey de yaptığı moleküler ve filogenetik çalışmada *P. lentiscus* Sakız Adası örneklerine yakın genotipler olduğunu göstermiştir.

Orman ağaçlarında klonal tanımlama geçmişte geleneksel olarak morfolojik ve fenolojik karakterlerle yapılmaktaydı. Morfolojik karakterler bitki ıslahında germplasm belirlemek için ilk step olması açısından önem taşımaktadır. Fakat fenolojik karakterler; çevre veya fizyolojik etkenlerden etkilenmelerinden dolayı, genetik çeşitliliği yükseltmekte ve güvenilirliği düşürmektedir. Bu yüzden Mendel açılımı gösteren bitki moleküler markörleri daha kesin sonuç verdiklerinden bitki genotiplerinin

teşhisinde kullanılmaktadır (ARAVANOPOULOS 2003).

YI ve arkadaşları (2008) *Pistacia* cinsinin filogenetik evrimsel ağ oluşumunu araştırmıştır. Bu çalışmada ITS ve NIA bölgelerinin dizi analizi yapılmış ve *P. saportae*'nin *P. lentiscus* (anne) ile *P. terebenticus* (baba)'un hibriti olduğu ortaya konmuştur.

Son 30 yılda moleküler belirteçlerin bitki genetiği çalışmalarında yaygınlaşmasıyla pek çok *Pistacia* türünde moleküler belirteçlerle genetik çeşitlilik çalışmaları yapılmıştır. Bunlar çoğunlukla ekonomik getirisi olan ve fıstık üretiminde kullanılan *P. vera* da yoğunlaşmıştır. *Pistacia* türleri içinde moleküler çalışmalar ülkemizde de en çok Antep fıstığının yabanisi olan *Pistacia vera* ile yapılmıştır. Daha önce 69 *Pistacia vera* çeşidinde RAPD, ISSR ve AFLP moleküler belirteçleri ile yapılan çalışma Akdeniz çeşitlerinin üç alt gruba ayrıldığını İran çeşitlerinin bundan daha farklı bir grup oluşturduğunu göstermiştir (KAFKAS ve ark. 2006). *Pistacia vera* da elde edilen bu bilgiler aynı cinse ait olan sakız ağacı içinde faydalı olacaktır. Buna ilaveten bazı *Pistacia* türlerinde mikrosatellit lokusları belirlenmiştir. *Pistacia weinmannifolia* da 14 (CHEN ve ark. 2011), *P. vera* da 14 (AHMAD ve ark. 2003) ve *P. lentiscus* da 8 (ALBALADEJO ve ark. 2008) primer bu mikrosatellit lokuslarının çoğaltılmasında kullanılmaktadır. Yine *P. vera* da HORMAZA ve ark. (1998) tarafından yapılan çalışmada genetik çeşitliliğe RAPD markörleri çalışılarak bakılmıştır. ZOGRAFOU ve ark.(2010)'nın 4 farklı *P. lentiscus* genotipinde RAPD ve ISSR kullanarak yaptıkları çalışmada dişi ve erkek sakız ağaçlarındaki genetik farklılığın ortaya konması dışında farklı bireylerdeki genetik çeşitlilik de bulunmuştur.

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Örneklenen Popülasyonlar

Örneklenen popülasyonlar Tablo 1 de yer almaktadır.

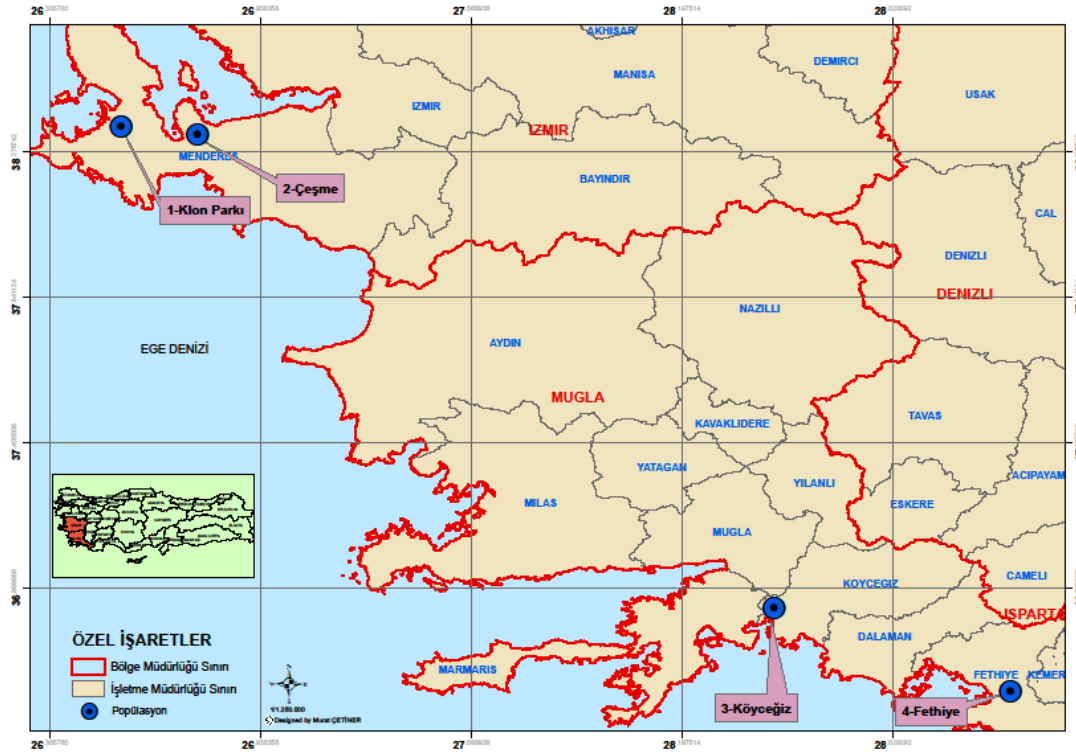
Tablo 1. Örneklenen popülasyonlar ve özellikleri

No	Bölge Md.	İşletme Md. ve Şefliği	Statüsü
1	İzmir	İzmir	Klon Parkı (90 klon)
2	İzmir	İzmir (Çeşme)	Dağınık yayılış gösteren meşcere
3	Muğla	Muğla(Fethiye)	Dağınık yayılış gösteren meşcere
4	Muğla	Muğla (Köyceğiz)	Dağınık yayılış gösteren meşcere

Örneklenen popülasyonların harita üzerindeki dağılımı Şekil 2’te gösterilmiştir.

2.2. Örnekleme Yöntemi

Her bir popülasyondan 20 dişi 20 erkek örneklenmiştir. Klon parkındaki tüm fidanlar örneklenmiş ancak çalışma fidanların tekerrürleri ile yapılmamış 90 klon analizlerde kullanılmıştır. Meşcerelerden örnekleme Ne: Etkili allel sayısı (KIMURA ve CROW 1964) yapılırken, aileler arasında en az 100 m mesafe olmasına, 300 m’den fazla yükselti farkı olmamasına dikkat edilmiştir. Her bir ağaçtan toplanan yapraklar ayrı ayrı silica jel içeren torbalara konarak, buzluklarla en kısa sürede Müdürlüğümüzün soğuk hava deposuna ulaştırılmıştır. Yaprak örnekleri DNA izolasyonu yapılmaya kadar -80°C’de saklanmıştır.



Şekil 2. Örneklenen popülasyonların harita üzerindeki konumları.

2.3. DNA İzolasyonu:

PCR analizlerine uygun saflıkta DNA elde edebilmek için hazır DNA izolasyon kiti denenmiştir. Ancak denenilen farklı DNA izolasyon kitlerinden hiçbiri istenilen verimlilikle sonuç vermemiştir (Şekil 3). Bu yüzden, çeşitli DNA izolasyon yöntemleri denenmiş ve bunlar arasında en iyi sonuç DOYLE ve DOYLE'nin (1990) CTAB (Cetryl Trimethyl Ammonium Bromide) protokolüyle elde edilmiştir. Sonuç olarak, sakız yapraklarından DNA izolasyonunda bazı değişiklikler yapılarak aşağıdaki protokolün kullanılmasına karar verilmiştir:

1. Yapraklar sıvı azotla beyazlayıncaya kadar ezilip 0.5 gram tartılarak tüplere konulur.
2. Üzerine önceden ısıtılmış, 15 ml CTAB özütlemeye tamponu eklenip, karıştırılır.
3. Tüpler su banyosunda (65°C) 1 saat bekletildikten sonra 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir.
4. Üst faz yeni tüplere alınır, üzerine 10 ml kloroform:oktanol (24:1) solüsyonu eklenip, karıştırıldıktan sonra 14000 rpm'de, 15 dakika santrifüjlenir.
5. Üst faz alınarak, daha önceden 10 ml soğuk isopropanol konulmuş tüplere aktarılır.
6. Ultra soğuk (-80°C) dolapta 1 saat bekletilir.
7. Yeniden 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir.
8. Üst faz dökülür. Çökelti 5 ml, 70 % etil alkolle iki kere yıkanır.
9. Tüpler ters çevrilerek kurumaya bırakılır.
10. Çökelti 200 µl TE tamponuyla çözülür.

Elde edilen DNA -20°C'de saklanmıştır.

2.4. Elde edilen DNA miktarlarının ölçülmesi ve seyreltilmesi:

Elde edilen tüm DNA örneklerinin konsantrasyonları UV Visible spektrofotometreyle (BioDrop μ LIMA) ölçülmüştür. Elde edilen DNA konsantrasyonları 40 μ g/ml - 1100 μ g/ml arasında değişmiştir. Sonuç olarak, PCR uygulamaları için tüm DNA örnekleri 50 ng/ml olacak şekilde seyreltilmiştir. Seyreltilmiş DNA örnekleri çalışma süresince +4°C’de saklanmıştır.

2.5. PCR optimizasyonu

PCR’da doğru sonuçlar elde edebilmek ve bant yapısının net olması için değişik primerler denenmiştir. Bu amaçla ALBALADEJO ve arkadaşlarının (2008) *Pistacio lentiscus* için karakterizasyon yaptığı sekiz SSR markörü kullanılmıştır (Tablo2). Aynı cinse ait farklı türlerin primerleri sonuç vermemiştir.

Tablo 2. SSR primerleri dizileri

	Mikrosatellit primer lokusları	Primer dizisi	Tekrarlanan motif	Toplam alel sayısı
mst 1	Pislen 510 (EU263304)	F: TGGTGGAGTCTTACTTTGCT	(AC)20	6
		R: TGACAATCAATATGCCTTCA		
mst2	Pislen R05 (EU263306)	F: GGATTTTCCTCTACCATCCT	(CCG)5CTG(CCG)2	3
		R:GAAAACGAGAGGTTATTGGTCA		
mst3	Pislen 526 (EU263305)	F: CAGTGAGGGTAAAAATGGAA	(GGT)2GCT(GGC)	3
		R: ATTACCATTTTGAGGGAACC		
mst4	Pislen 114 (EU263301)	F: GTGACTTTGGTTGGTGTITT	(GTT)5	6
		R: CTGCTTTGACTGGATTTGAT		
mst5	Pislen 501 (EU263303)	F: TTCAACTCAACAAATATGCAA	(GA)28	9
		R: ATTGTATTGGCGAAACCTAA		
mst6	Pislen 333 (EU263302)	F: TTTGATAAGAACTCGCTTCC	(TA)3(CA)21	13
		R: TTTCTGCCTTTGCTTTACTC		
mst7	Pislen 20B (EU263299)	F: ACACAACTCAAGCAACAACA	(CA)18(TA)5	6
		R: AAAGAATCCTACGCATGAAA		
mst8	Pislen 21 (EU263300)	F: GGGAAGTGGGTTAGGAATTA	(CT)23 B	10
		R: GGGTGGTTACAATTAGGTCA		

Kullanılan PCR şartları (tepkime karışımı) ve döngüleri Tablo 3 ve Tablo 4 de yer almaktadır.

Tablo 3. PCR tepkime karışımı

Reaksiyon	Stok konsantrasyonu	Son konsantrasyon	Hacim (µl)
Solis Biodyne karışımı	5X	1X	5
Primer-F	20 µM	0,4 µM	0,5
Primer-R	20 µM	0,4 µM	0,5
Saf PCR suyu			16
Şablon DNA			3

Tablo 4. PCR döngüsü

Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
95	13 dk.	1
95	35 sn.	40
52	30 sn.	
72	30 sn.	
72	5 dk.	1
8	∞	

Floresan işaretli primerler kullanılarak elde edilen PCR ürünleri agaroz jelde, 1x TAE tamponuyla, 80 Voltta 3 saat yürütülmüştür. Bant elde edilen bireylerden farklı floresan işaretli olanlar birleştirilerek fragment analizi yaptırılmıştır.

2.6. Bantların Okunup Değerlendirilmesi

Fragment sonuçları Peak Scanner2 programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bant değerleri (baz uzunlukları) excel datası haline getirilmiş ve gerekli analizler yapılmıştır.

2.7. İstatistik Değerlendirme

Mikrosatellit analizlerde GENETIX 4.05 kullanılmıştır (BELKHIR ve ark. 2004). Popülasyonların Gst, değerleri, gözlenen ve beklenen heterozigotluklar, varyans bileşenleri ve UPGMA kümeleme (clustering) MEGA 5 (TAMURA ve ark. 2011) analizleri yapılmıştır. Ayrıca ilave bazı değerlendirmelerde GENEPOP (ROUSSET 2008) kullanılmıştır. Bireyler arasındaki benzerlik ve bireyler arasındaki mesafe GenAlEx (PEAKALL ve SMOUSE 2012) programı ve Structure kullanılarak hesaplanmıştır.

BULGULAR

Bu çalışmada Türkiye’de yayılış gösteren sakız klon parkı ve 3 yabancı sakız popülasyonunun genetik yapısı mikrosatellit (SSR) belirteçleri kullanılarak incelenmiş ve aralarındaki bağlantı hesaplanmıştır. Popülasyonların değerlendirmeleri dişi ve erkek bireyler ayrılarak da yapılmıştır.

Tablo 5. Mikrosatellit belirteçleri ile hesaplanan gen çeşitliliği ve genetik farklılaşma değerleri

Ht (ortalama gen çeşitliliği)	Hs (popülasyonların toplam genetik çeşitliliği)	Gst (popülasyonlar arası farklılaşma)
0.6391	0.5996	0.0618

Popülasyonlar klon parkı ile bir arada değerlendirildiğinde popülasyonlar arası farklılaşma $G_{st}=0.0618$ bulunmuştur (Tablo 5). Bu oldukça düşük bir değerdir.

Heterozigotluk genetik varyasyonun bir ifadesidir. Yüksek heterozigotluk genetik değişkenliğin fazlalığının bir ifadesi iken düşük heterozigotluk genetik değişkenliğin azlığını gösterir. Yapılan çalışmada en düşük heterozigotluğun Köyceğiz erkek popülasyonunda ve klon parkında olduğu görülmüştür. Erkekler ve dişiler birleştirilerek popülasyonlar incelendiğinde en düşük heterozigotluk yine klon parkında bulunmuştur (Tablo 6). Oldukça yüksek heterozigotluk diğer bir deyişle yüksek gen çeşitliliği bulunmuştur.

Beklenen ve gözlenen heterozigotluklara bakıldığında bütün değerlerde gözlenen heterozigotluğun beklenen heterozigotluktan daha düşük olduğu bulunmuştur (Tablo 6). Bu değerler soy içi eşleşmenin (inbreeding) yüksek olduğunun göstergesi olabilir.

Tablo 6. Popülasyonlarda beklenen ve gözlenen heterozigotluklar

a) Dişi-erkek ayrı

Popülasyonlar	Birey sayısı	Beklenen heterozigotluk (H_e)	Gözlenen heterozigotluk (H_o)	Etkili allel sayısı (N_e)
Klon Parkı	90	0.582±0.1582	0.346±0.1221	5.75
Çeşme Erkek	20	0.577±0.2339	0.449±0.2621	4.38
Çeşme Dişi	20	0.609±0.2016	0.467±0.2297	5.25
Fethiye Erkek	20	0.599±0.1452	0.454±0.2122	4.25
Fethiye Dişi	20	0.572±0.2078	0.393±0.2313	4.75
Köyceğiz Erkek	19	0.651±0.1691	0.385±0.1649	5.50
Köyceğiz Dişi	19	0.607±0.1765	0.329±0.1908	4.88

b) Dişi-erkek birleştirilmiş

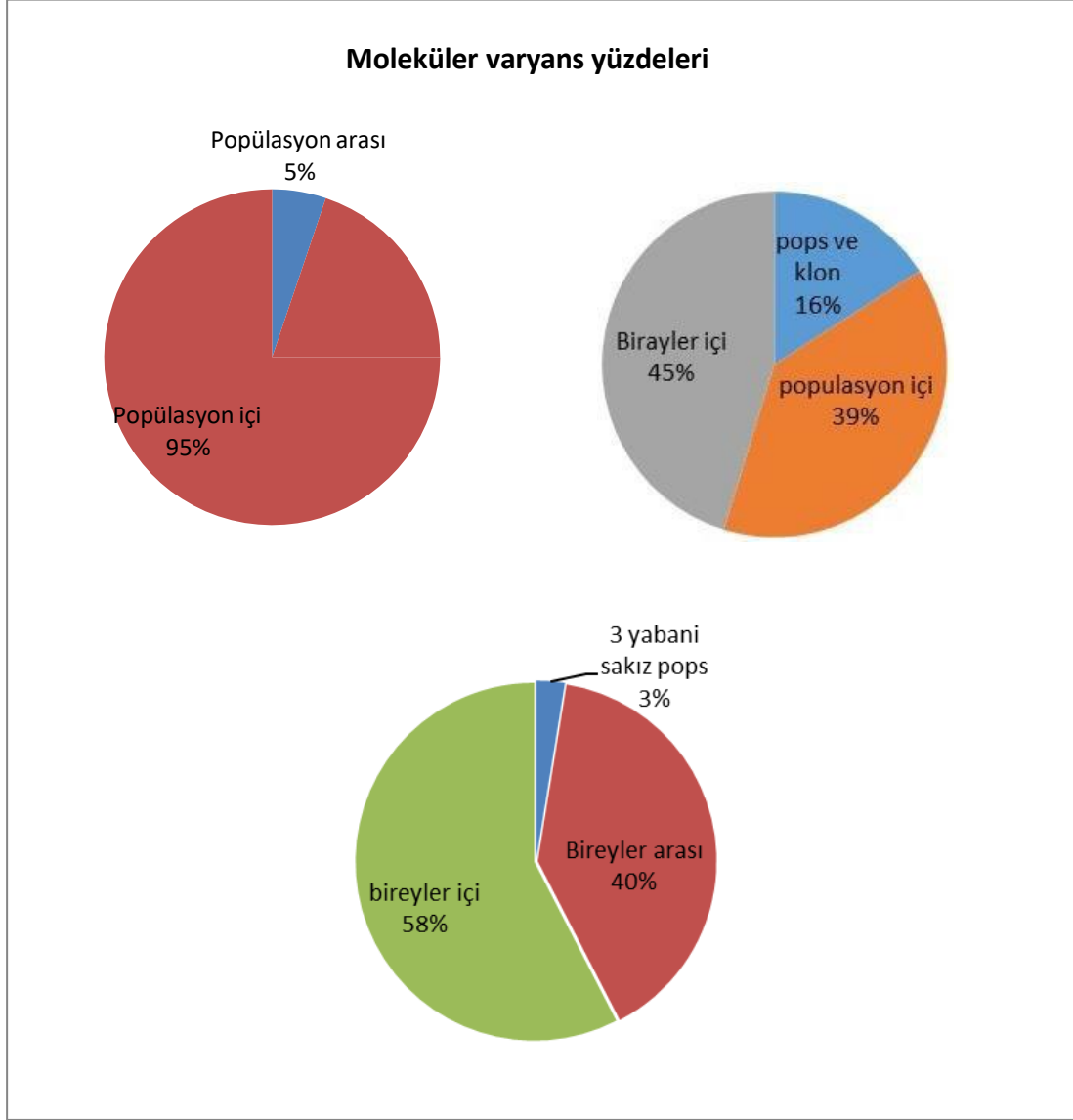
Popülasyonlar	Birey sayısı	Beklenen heterozigotluk (H_e)	Gözlenen heterozigotluk (H_o)	Etkili allel sayısı (N_e)*
Klon Parkı	90	0.582±0.1582	0.346±0.1221	5.75
Çeşme	40	0.613±0.2267	0.459±0.2198	6.00
Fethiye	40	0.599±0.1757	0.423±0.2144	5.25
Köyceğiz	38	0.649±0.169	0.354±0.1343	6.13

* N_e : Etkili allel sayısı (KIMURA ve CROW 1964)

Popülasyonların varyans bileşenlerine bakıldığında (Tablo7, Şekil 3) genetik varyasyonun %95 i popülasyon içinde %5i popülasyonlar arasında yer almaktadır. Diğer bir deyişle popülasyon içindeki bireyler birbirinden farklılık göstermektedir. Popülasyonlar ve klon parkı ayrı grup olarak incelendiğinde varyasyonun %16 olduğu görülmüştür. Yine 3 popülasyon kendi aralarında bakıldığında popülasyonlar arasında genetik varyasyonun %3 olduğu görülmüştür.

**Tablo 7. Popülasyonların moleküler varyans analizi
(AMOVA: analysis of molecular variance)**

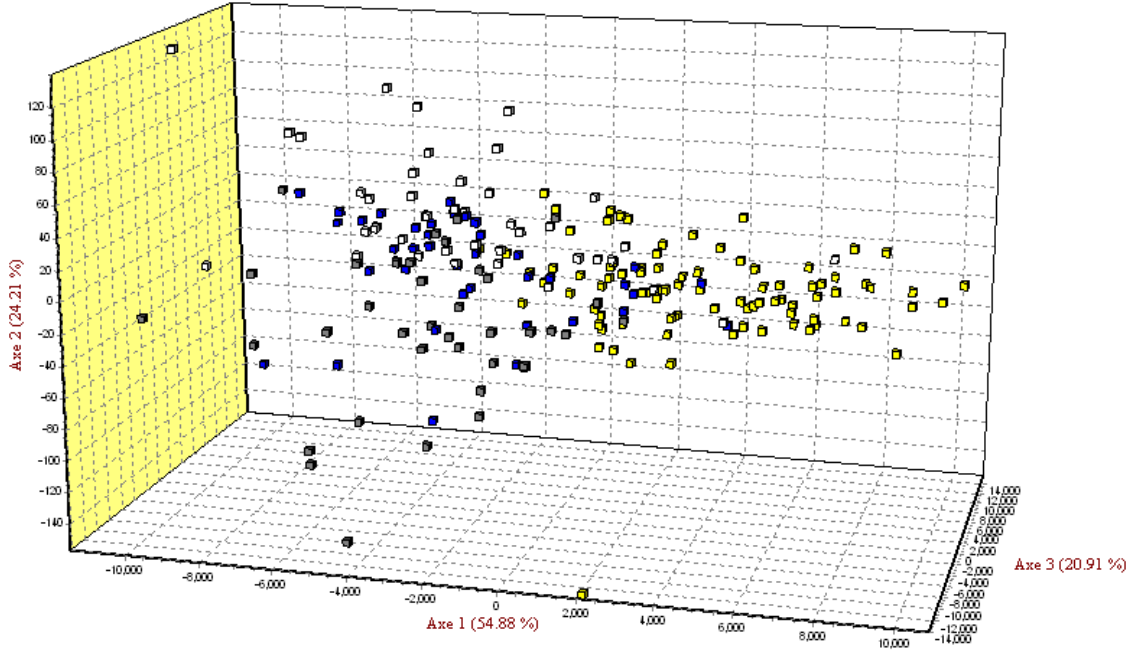
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Ortalama kareler	Varyasyon bileşenleri	Varyasyon yüzdesi
Popülasyonlar arası	3	88,126	29,375	0,437	5%
Popülasyon içi	204	1632,075	8,000	8,000	95%
Toplam	207	1720,202		8,437	100%
Klon-3popülasyon arası	1	117,872	117,872	0,556	16%
Popülasyonlar içi	206	884,241	4,292	1,357	39%
Bireyler içi	208	328,500	1,579	1,579	45%
Toplam	415	1330,613		3,492	100%
Üç popülasyon arası	2	21,693	10,847	0,082	3%
Popülasyonlar içi	115	504,159	4,384	1,273	40%
Bireyler içi	118	217,000	1,839	1,839	58%
Toplam	235	742,852		3,194	100%



Şekil 3. Moleküler varyans yüzdesi

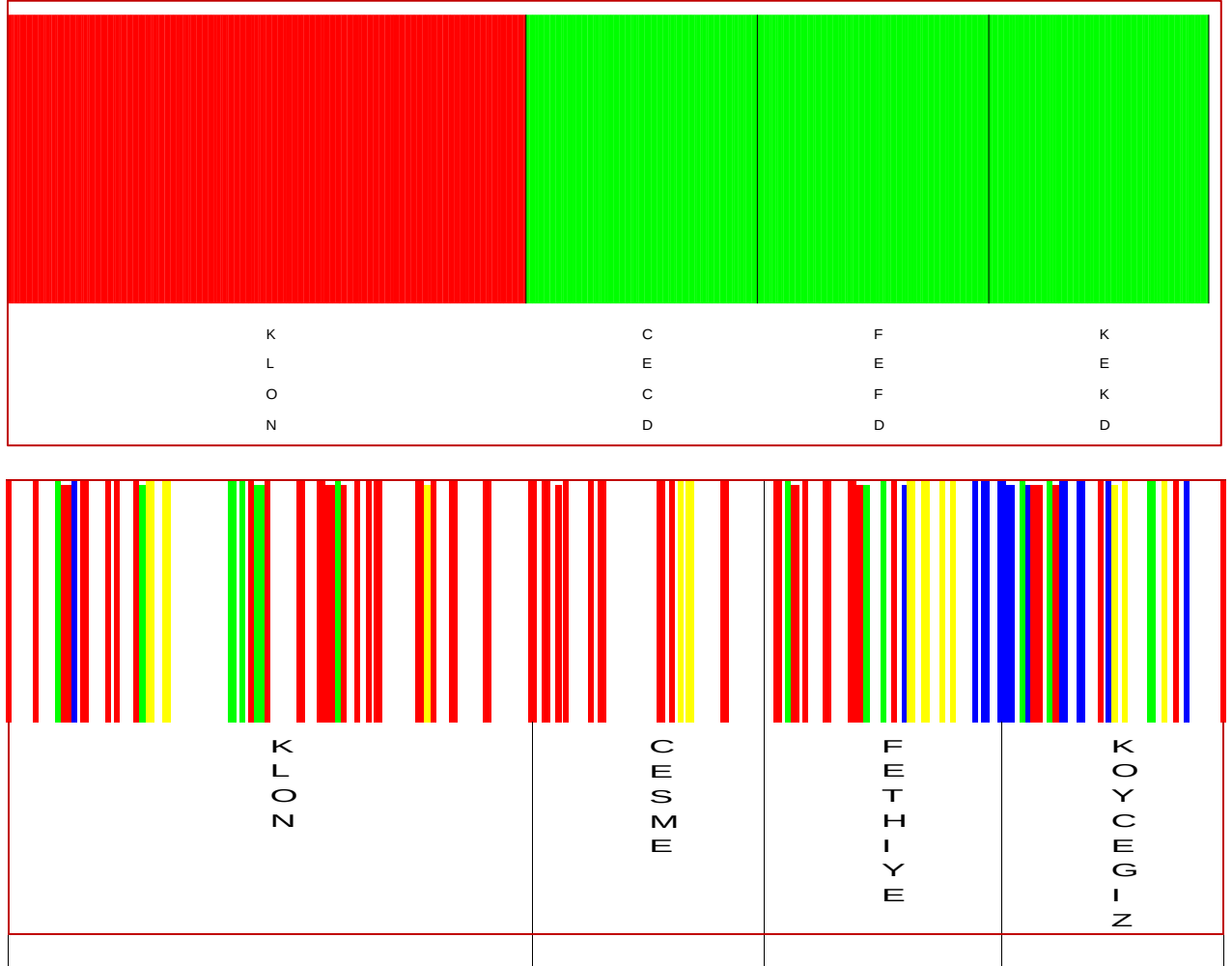
Şekil 3'te popülasyonlar farklı gruplar yapılarak incelendiğinde varyasyon nileşenlerinin farklı değerler aldığı görülmüştür. Dört popülasyon incelendiğinde genetik varyasyonun %95'i popülasyon içinde %5'i popülasyonlar arasında yer almaktadır. Popülasyonlar ve klon parkı ayrı grup olarak incelendiğinde varyasyonun %16 olduğu görülmüştür. Yine 3 popülasyon kendi aralarında bakıldığında popülasyonlar arasında genetik varyasyonun %3 olduğu görülmüştür.

Popülasyonlara göre faktöriyel karşılık gelme analizi yapıldığında üç boyutlu olarak gruplaşma incelenmiştir. Görüldüğü üzere yabancı popülasyonlar ve klon parkı ayrı bir gruplaşma oluşturmuştur (Şekil 4).



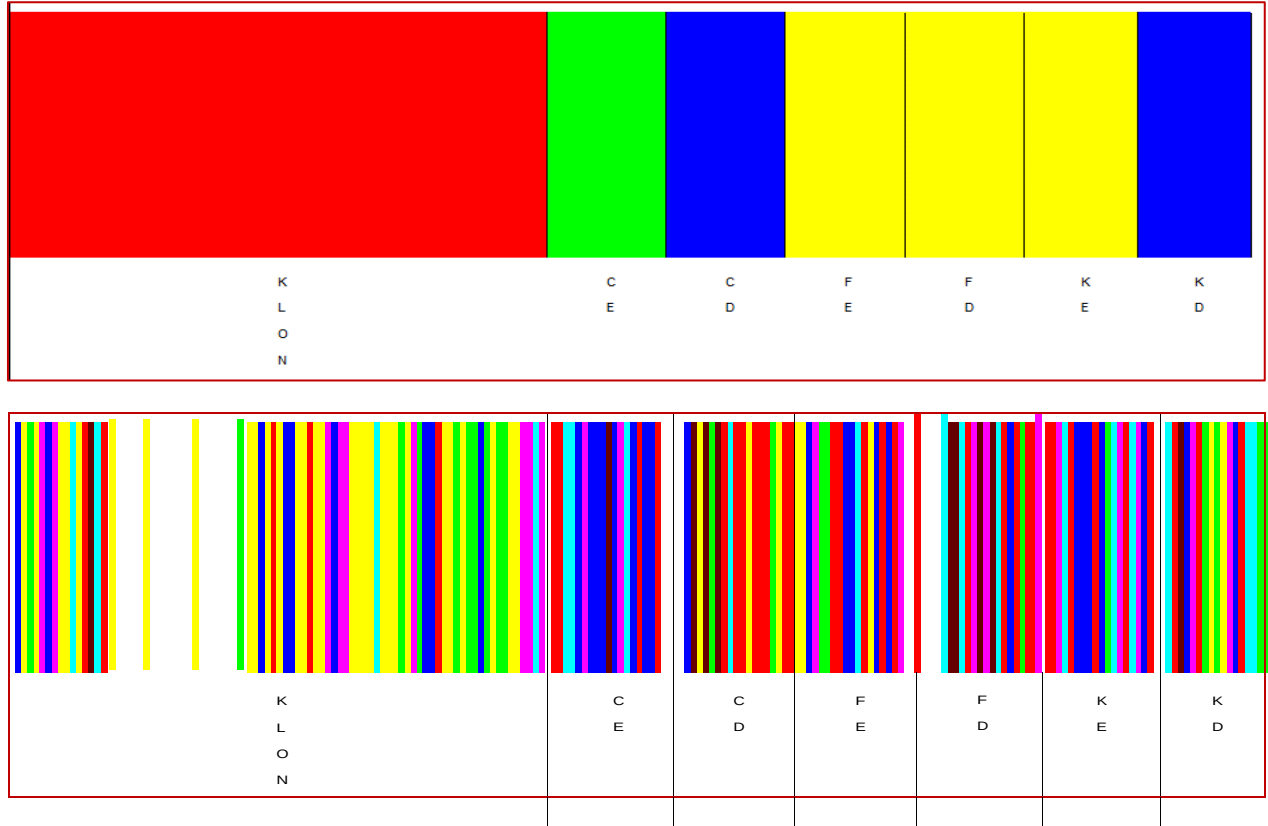
Şekil 4. Faktöriyel karşılık gelme analizi (Factorial Correspondance Analysis). Popülasyonların 3 boyutlu ortamda karşılık geldikleri noktalar Klon parkı: sarı, Çeşme: Mavi, Fethiye: Beyaz, Köyceğiz: gri)

Popülasyonlar arası farklılaşma BAPS ile incelendiğinde klon parkının dipir üç popülasyondan farklı olduğu görülmüştür (Şekil 5).



Şekil 5. Popülasyonlar ve klon parkının yapısı (BAPS=Bayesian Analysis of Population Structure)

Klon parkı ve popülasyonlar dışı erkek olarak ayrı incelendiğinde klon parkının yine popülasyonlardan farklı olduğu , Çeşme dışı ve Köyceğiz dışı popülasyonlarının birbirine benzediği görülmüştür (Şekil 6).



Şekil 6. Popülasyonlar dışı erkek gruplar ve klon parkı yapısı (BAPS=Bayesian Analysis of Population Structure)

Popülasyonlar arasındaki gen akışı (Nm) değerlerine bakıldığında mesafe olarak da birbirlerine en uzak grup Klon parkı ile Fethiye popülasyonu arasında görülmektedir. Yabani populasyonlar arasındaki gen akışı değerleri oldukça yüksektir. Yine diğer iki popülasyondan uzak olan Çeşme popülasyonu ile Köyceğiz-Fethiye popülasyonları arasındaki gen akışı birbirine daha yakın olan Köyceğiz ile Fethiye popülasyonlarından daha düşüktür (Tablo 8). Nm değerinin 0.5' ten düşük olması genetik sürüklenmeye (genetic drift) işaret etmektedir. Popülasyonlara bakıldığında yüksek gen akışı değerleri görülmektedir.

Tablo 8. Popülasyonlar arasındaki Nm (gen akışı değerleri)

Nm	ÇEŞME	FETHİYE	KÖYCEĞİZ
KLON	3.77	3.71	4.28
ÇEŞME	-	11.26	20.26
FETHİYE		-	16.73

$$*Nm=(1-F_{st})/4x F_s$$

Tablo 9. Nei'nin genetik mesafe değerleri

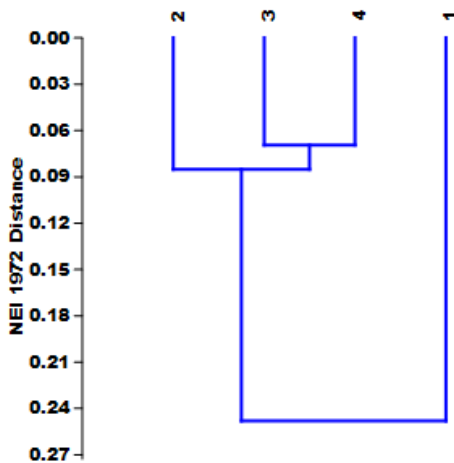
a) Birleştirilmiş

Nei genetik mesafe	ÇEŞME	FETHİYE	KÖYCEĞİZ
KLON	0.126	0.126	0.120
ÇEŞME	-	0.065	0.055
FETHİYE		-	0.059

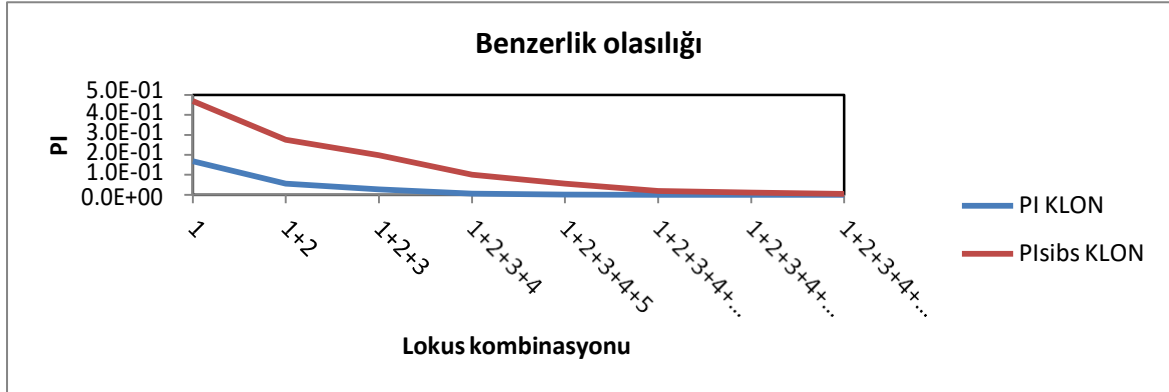
b) Popölasyonlar dişi ve erkekler ayrı

Nei genetik mesafe	KLON	CE	CD	FE	FD	KE
CE	0.176					
CD	0.130	0.118				
FE	0.105	0.114	0.084			
FD	0.184	0.142	0.108	0.080		
KE	0.157	0.112	0.110	0.063	0.087	
KD	0.140	0.158	0.075	0.112	0.158	0.122

Şekil 7 tüm popölasyonlara göre genetik mesafe değerleri kullanılarak oluşturulan ağaç (dendrogram) görölmektedir. Popölasyonlar arasındaki genetik ilişki NEI (1972) standart genetik mesafeleriyle “Neighbor-joining” metodu yardımıyla oluşturulan bu dendrogramda gözlenmektedir. Klon parkı diğer 3 popölasyondan tamamı ile ayrılmıştır. Diğer popölasyonlardan Fethiye ve Köyceğiz birbirine yakın çıkmıştır.



Şekil 7. Nei Genetik mesafe değerlerine göre oluşturulan dendrogram (1: klon, 2: eşe, 3:Fethiye, 4:Köyceğiz)



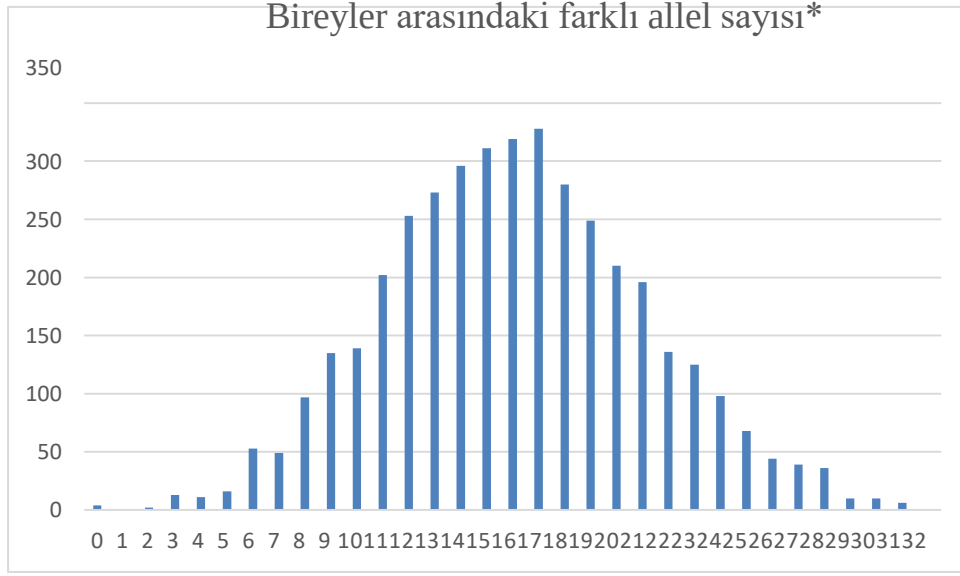
Şekil 8. Benzerlik olasılığı (probability of identity)

Şekil 8 de lokusların herhangi iki birey arasındaki benzerlik olasılığını (probability of identity) ortaya koyma değerleri verilmektedir. Tek bir lokusla bu değer oldukça düşük olup 6 lokusla bu değer ortaya koyulabileceği görülmektedir. Seçilen 8 lokusa bakıldığında bireylerin benzerliklerini ortaya koymada yeterli olduğu görülmektedir (Şekil 8).

Tablo 10. Klonlar arası benzeşme (En çok benzeyen ve en az benzeyen klonlar)

Farklı alel sayısı *	Klon numarası	Klon numarası
0	Klon63	Klon64
0	Klon 63	Klon 112
0	Klon64	Klon112
0	Klon96	Klon97
2	Klon 5	Klon 8
2	Klon 50	Klon 90
3	Klon5	Klon 74
3	Klon8	Klon74
3	Klon10	Klon73
3	Klon 16	Klon 109
3	Klon 61	Klon65
3	Klon88	Klon96
3	Klon88	Klon97
3	Klon88	Klon99
3	Klon96	Klon99
3	Klon97	Klon99
31	Klon 13	Klon151
31	Klon15	Klon81
31	Klon63	Klon149
31	Klon64	Klon149
31	Klon77	Klon151
31	Klon112	Klon149

*8 lokus, diploid doku ve ko-dominant markör için=32 gen bölgesi üzerinden



*90x90=8100 karşılaştırma

Şekil 9. Bireyler arasındaki farklılaşma.

Bireyler arasındaki en fazla farklılık 31 gen bölgesi ile 6 çift arasında görülmektedir. En yoğun farklılık 17 gen bölgesinde 328 çift arasında bulunmaktadır (Şekil 9).

Klon parkındaki bireyler arasındaki ilişki bireysel genetik mesafe değerlendirmesi ile yapılmıştır. Klon parkında yer alan 90 klon kendi arasında yapılan benzerlik mesafe analizinde birbirine en yakın bireyler tablo da yer almaktadır. Yapılan analizde 3 klonun bant profili birbirinin aynı çıkmıştır. Klon 63, 64, 112 ve klon 96, 97 çalışılan 8 lokus dikkate alınarak bir birinin aynı çıkmıştır. Yapılan analizde birbirinden farklılaşması 2 ve 3 gen bölgesi olan klonların da aynı klon olma olasılıkları yüksektir (Tablo 10).

TARTIŞMA, SONUÇ ve ÖNERİLER

DİRİK (1994), ormancılıkta kullanılabilmenin temel koşullarından biri olan korumanın; bir yandan yasal ve yönetsel önlemlerin alınmasını, diğer yandan da teknik çalışmaların ekolojik ve biyolojik ilkelerle uyumlu olmasını, bu ilkelerin temel dayanaklarından birinin de ormanların genetik yapıları olduğunu belirtmektedir. Yabani sakız popülasyonları ve seçilmiş klonlarla kurulan klon parkında yapılan bu çalışmada sakızın genetik çeşitliliği hakkında bilgi elde edilmiştir.

Çalışmada popülasyonlar arası genetik farklılaşmayı gösteren G_{st} değeri 0.061 bulunmuştur (Tablo 5). G_{st} 0-1 arasında değerler almakta olup bu değer 0.25'den yüksek olması popülasyonlar arasında çok büyük oranda farklılaşma olduğuna işaret eder. Sakız için bu değer oldukça düşük bulunmuştur. ABUDULI ve arkadaşlarının (2016) 24 yabani sakız bireyi ile 7 SSR markörü kullanarak yaptıkları çalışmada gen çeşitlilik değeri 0.843 ve 0.714 arasında değişmiştir. Bu değer oldukça yüksek olup PAZOUKI ve ark.(2010), BAGHIZADEH ve ark. 2010, AHMAD ve ark. (2003) buldukları

değerden de yüksektir.

Bu çalışmada örneklenen 3 yabancı sakız popülasyonu ile sakız klon parkının genetik yapısı 8 çekirdek mikrosatellit primeri kullanılarak belirlenmiştir. Çalışılan 8 mikrosatellit lokusu da polimorfik olup, allel sayıları 3 ile 13 arasında değişmiştir.

Çalışılan sakız popülasyonlarında genetik varyasyon değerleri oldukça yüksektir. En fazla genetik varyasyon Çeşme dişi ve Çeşme popülasyonlarında bulunmuştur. Klon parkı en düşük genetik varyasyonu göstermiş olmasına karşın genel olarak yüksek genetik çeşitlilik bulunmuştur. Söz konusu klon parkının genetik tabanı çok geniş olmayan sakız veren ağaçlardan örneklenecek oluşturulduğu düşünülürse çok şaşırtıcı değildir. Aynı türün farklı lokasyonlardaki yayılışında (İsrail ve Kıbrıs) farklı genetik markörler ile heterozigotluğa bakıldığında oldukça düşük değerler elde edilmiştir ($H_e=0.15-0.28$) (NAHUM ve Ark. 2008). Diğer taraftan düşük heterozigotluk farklı türlerde de görülmüştür; örneğin meşelerde $H=0.17-0.29$ (MARIETTE ve Ark. 2002; COART ve Ark. 2002), yine kızılçamda $H_e=0.17-0.29$ (KANDEMİR ve Ark. 2004). Diğer taraftan sarıçamda oldukça geniş bir heterozigotluk sıralaması görülmüş 0.0435 to 0.8125 (FANG ve Ark. 2014) ve *Pistacia* türlerinde yapılan başka bir çalışmada bu değer 0.0 ile 0.8 arasında değiştiği bulunmuştur. *P. lentiscus* popülasyonlarında bu değer ortalama 0.49 olarak hesaplanmıştır (MOTALABIPOUR ve Ark. 2016). Adaptif fenotipik tepkilerin geniş genetik altyapıya sahip olan popülasyonlarda gelişeceğini düşünürsek elde ettiğimiz yüksek genetik varyasyon popülasyonların devamlılığı açısından umut vadetmektedir.

Popülasyonlar arasındaki gen akışı 20.26 ile 3.71 arasında değişmiştir. Bu sonuçlar da popülasyonlar arası coğrafi mesafe azaldıkça popülasyonlar arası farklılaşmanın azaldığı, dolayısıyla gen akışının arttığını göstermektedir. NAHUM ve arkadaşlarının (2008) İsrail ve Kıbrıs popülasyonları ile yaptıkları çalışmada; popülasyonlar arası gen akışı değerleri ile coğrafi mesafe arasında bir korelasyon bulunamamıştır. Türkiye popülasyonlarında birbirine yakın popülasyonlarda yüksek gen akışı hesaplanmıştır.

Çalışılan tüm popülasyonlar arasında genetik mesafe değerleri 0.055 ile 0.126 arasında değişmiştir. Genetik olarak birbirine en benzer popülasyonlar Fethiye ve Köyceğiz popülasyonlarıdır. Bu iki popülasyon coğrafi olarak da birbirine yakın popülasyonlardır. NAHUM ve arkadaşlarının (2008) *P. lentiscus* ile RAPD ve AFLP belirteçleri kullanılarak yaptıkları çalışmada hesaplanan Nei genetik mesafe değerleri Kıbrıs ve İsrail popülasyonları arasında bir miktar daha yüksektir (ortalama 0.028). Bu değerlerin bizim sonuçlarımızla karşılaştırıldığında oldukça düşük olduğu görülmektedir.

Popülasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın göstergesi olan G_{st} değeri 0.06 olarak hesaplanmıştır. Bu değer popülasyonlar arasında genetik farklılaşmanın oldukça düşük olduğunu göstermektedir.

Dört popülasyon incelendiğinde genetik varyasyonun %95 i popülasyon içinde %5 i popülasyonlar arasında yer almaktadır. Popülasyonlar ayrı ayrı değerlendirildiğinde ve kendi aralarında grup oluşturulduğunda klon parkı ile yabancı sakızlar arasında farklılık olduğu görülmüştür. Popülasyon yapısı incelendiğinde de benzer sonuç ortaya konmuştur. Yine popülasyon yapısına (structure) bakıldığında Çeşme dişi ve Köyceğiz dişi popülasyonlarının benzediği, Çeşme erkeğin diğerlerinden ayrıldığı görülmüştür. Popülasyonlar ve klon parkı ayrı grup olarak incelendiğinde varyasyonun %16 olduğu görülmüştür. Yine 3 popülasyon kendi aralarında bakıldığında popülasyonlar arasında genetik varyasyonun %3 olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar klon parkının yabancı popülasyonlardan oldukça farklı olduğunu başka bir değişle

varyete Chia'nın yabani bireylerden farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Diğer taraftan popülasyonlar arası farklılaşmanın çok fazla olmadığına diğer bir ifadesidir. NAHUM ve arkadaşlarının (2008) *P. lentiscus* ile Kıbrıs ve İsrail'den toplanan örneklerle bitki morfolojisi, yaprak morfolojisi, fizyolojik ölçümler ve genetik analizlerle yaptıkları kapsamlı çalışmada altı İsrail popülasyonunda popülasyon içi ve popülasyonlar arası fenotipik ve moleküler varyasyonunun yerel çevresel koşullar ile bağlantılı olduğu bulunmuştur. Lokasyonlar arası, İsrail popülasyonları arası ve İsrail popülasyonları ile Kıbrıs popülasyonları arası genetik çeşitlilik anlamlı bulunmamıştır. Moleküler varyasyonun büyük kısmı (%69) popülasyon içinde ve %22 si İsrail ve Kıbrıs popülasyonları arasında ve %9 u da bölge içindeki popülasyonlar arasında görülmüştür. Popülasyonlar arası düşük popülasyon içi yüksek varyasyon elde ettiğimiz sonuçlarla uyumludur.

Tür içindeki eşleşme sistemi, popülasyonlar arasındaki gen akışı ve doğal seçim bir türün genetik çeşitliliğini etkileyen unsurlardır (HAMRICK 1989). Bu faktörler ve bunların etkileşimlerinin sonucu olarak ortaya çıkan genetik varyasyon hakkında bilgi sahibi olmadan, biyolojik bir kaynaktan optimum faydalanmak ve bu kaynağın devamlılığını da sağlayarak yararlanmak olanaksız denebilir (COSSALTER 1989). Ancak popülasyonların genetik yapılarının bilinmesi bizlerin bu gen kaynağı hakkındaki stratejilerimizi belirlememize yardımcı olur. Bir türde genetik varyasyonu belirlemenin en iyi yolu farklı yetiştirme ortamlarındaki popülasyonların karşılaştırılması ile olacağı ifade edilmektedir (CHUMURA ve RODKOWSKI 2002). Çok geniş yayılım alanına sahip türler aynı zamanda hem lokal ırklara sahip olabilmekte hem de çok fazla coğrafik varyasyona sahip olmaktadır (ZOBEL ve TALBERT 1984). Türkiye'nin coğrafik yapısındaki çeşitlilik dikkate alındığında geniş yayılım gösteren sakız popülasyonlarında da yüksek genetik çeşitlilik beklenmektedir. Bu çalışmadaki sonuçlara bakılarak yabani popülasyonlardaki popülasyon içi genetik çeşitlilik yüksek denebilir.

Varyete olarak morfolojik yapısına bakarak farklı adlandırılan sakız veren ağaçlardan oluşan klonların, 8 lokus incelendiğinde de yabani sakız popülasyonlarından ayrıldığı görülmüştür.

Yapılan dendrogramda, klon parkı, popülasyonlardan farklı bir kolda yer almıştır. Diğer üç popülasyon ayrı bir grup oluştururken Fethiye ve Köyceğiz popülasyonları birbirlerine yakın çıkmıştır.

Bir *ex-situ* gen koruma alanı olan bu sakız klon parkında yer alan bireylerin genetik çeşitliliği ve bireylerin birbirleri ile olan akrabalık ilişkileri diğer bir ifade ile gen koruma çalışmaları için önemli olan etkili popülasyon büyüklüğü konusunda elde ettiğimiz bilgi klon parkındaki bireylerin farklılığı yönünde olmuştur. Hipotezin aksine klon parkını oluşturan klonların çoğunluğunda farklılık görülmüştür. Birbirinin aynı klon sayısı 5 dir ("63, 64, 112" ve 96, 97). Bu sonuç klon parkının genetik çeşitlilik bakımından yeterliliği ve sakız veren ağaçların korunması bağlamında önemli bir görev üstleneceği yorumunu yapmamıza engel teşkil etmemektedir.

ÖZET

Ekolojik ve ekonomik olarak oldukça önemli olan sakız ağacının devamlılığı özellikle sakız veren varyetenin kalıcılığı açısından türün genetik yapısının bilinmesi önem taşımaktadır. Türkiye’de iki taksonu bulunan türün (*Pistacia lentiscus* ve *Pistacia lentiscus* var. *chia*.), her iki taksonda da ağaç gövdesi yaralandığında salgısı çıkmaktadır ancak sakız eldesi yalnızca varyete *chia*’nın erkek bireylerinden olmaktadır.

Bu çalışmada sakız veren ağaçlardan alınan klonlar ile kurulan sakız klon parkı ve yabani sakız popülasyonları karşılaştırılmıştır. Klon parkında benzer bireylerin olduğu tespit edilmiştir. Klon parkı yabani popülasyonlardan farklılık göstermektedir

SUMMARY

In Turkey there are two taxons of mastic trees as *Pistacia lentiscus* and *Pistacia lentiscus* var. *chia*. Although, there is secretion of gum from both taxons by the injury of phloem channels of trees, mastic production has been get only from males of *P. lentiscus* var. *chia*. Which are very important economically and ecologically therefore the conservation of this species are essential for the sustainability of future populations. In addition, for the effective protection of species, there is the need of genetic knowledge.

In this study, the clones from the mastik trees in the clone park were compared with the natural *Pistacia lentiscus* populations. It has been determined that there are similar individuals in the clone park. Clone park differs from natural populations

KAYNAKÇA:

ABDELDJELIL, M.C., BENSEGUENI, A., MESSAI, A., AGABOU, A., BENAZZOUZ, H. 2014. Medicinal use of *Pistacia lentiscus* fixed oil in Constantine province, North-east Algeria. J. NAT. Prod. Plant Resour. 4(1): 48-51.

ABUDIL, A., AYDIN, Y., SAKIROGLU, M., ONAY, A., ERCISLI, S., UNCUOGLU, A. A., 2016. Molecular evaluation of genetic diversity in Wild-Type mastic tree (*Pistacia lentiscus* L.). Biochem Genet 54:619-635.

ACAR, İ. 1988. (*Pistacia lentiscus* L. var. *chia*) Sakızı üretiminin geliştirilmesine esas olmak üzere sakızın fiziko-kimyasal yönden incelenmesi. Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları, Teknik Raporlar Serisi No:35.

- AHMAD, R., FERGUSON, L., SOUTHWICK, S.M. 2003.** Identification of Pistacio (*Pistacia vera* L.) nuts with microsatellite markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 128(6): 898-903.
- ALBALADEJO, R .G., SEBASTIANI, F., APARICO, A., BUONAMICI, A., GONZALEZ-MARTINEZ, S.C., VENDRAMIN, G.G (2008).** Development and characterization of eight polymorphic microsatellite loci from *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). Molecular Ecology Resources, 8,904-906.
- ANONIM 2014.** Sakız eymen planı (2014-2019). Orman Genel Müdürlüğü Yayınları.
- ARAVANOPOULOS, F.A. 2003.** Molecular identification of micropropagated plants. Acta Horticulture, vol 616 p 25-47.
- BAGHIZADEH, A., NOROOZI, S., JAVARAN, M.J. 2010.** Study on genetic diversity of some Iranian Pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars using random amplified polymorphic DNA (RAPD), inter sequence repeat (ISSR) and simple sequence repeat (SSR) markers: a comparative study. Afr J Biotechnol 9(45):7632–7640
- BAKMAZ N.A., BAKMAZ, A. 2012.** Sakız Ağacı (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) İzmir Özel İdaresi yayınları. ISBN 978-605-359-952-4. 80 sayfa.
- BAPS(2013)** Bayesian Analysis of Population Structure (<http://www.helsinki.fi/bsg/software/BAPS/macSnow/BAPS6manual.pdf>)
- BELKHIR K., BORSA P., CHIKHI L., RAUFASTE, N., BONHOMME, F. 1996-2004.** GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5000, Université de Montpellier II, Montpellier, France.
- BROWICZ, K. 1987.** *Pistacia lentiscus* cv. *Chia* (Anacardiaceae) on Chios island. Pl. Syst. Evol. 155, 189-195.
- CARUSO,T. BARONE, E., ZAKYNTHINOS, G., IANNINI, C., MONASTRA, F., MARRA, F:P., BATLLE, I., VARGAS, F., ROMERO, M., PADULOSI,S. GRECO, C. I., SABINA, M. R., MARTELLI, G. AK, B. E., LAGHEZALI, M. 1998.** Genetic and phenotypic diversity in pistacio (*Pistacia vera* L.) germplasm collected in Mediterranean countries. Acta Hort. 470, 168-178.
- CHEN, S., WU, X., JI, Y.,Y 2011.** Isolation and characterization of Microsatellite loci in *Pistacia weinmannifolia* (Anacaraceae). Int. J. Mol. Sci., 12, 7818-7823.
- CHUMURA, D.J. RODKOWSKI, R. 2002.** Variability of beech provenances in spring and autumn phenology. Silvae Genetica, 51, 2-3.
- COART, E., LAMOTE, V., DE LOOSE, M., BOCKSTAELE, E., LOOTENS, P., ROLDAN-RUIZ, I. 2002.** AFLP markers demonstrate local genetic differentiation between two indigenous oak species *Q. robur* and *Q. petraea* in Flemish populations. Theor Appl Genet 105:431-439.
- COSSALTER, C. 1989.** Genetic Conservation: A cornerstone of breeding strategies: Breeding Tropical Trees. Population Structure and Gene Improvement Strategies in Clonal and Seedling Forestry. (Proc. IUFRO Conference Pattaya, Tailand, November 1988). GIBSON, G.J. GRIFFIN, A.R. MATHESON, A.C. (Ed.) Oxford Forestry Institute, Oxford, U.K. 28-38.
- DAVIS, P. H. 1982.** Flora of Turkey and the East Aegean Island, EdinburgUni. Pres. Volume II.
- DİRİK, H. 1994.** Genetik çeşitlilik orman gen kaynaklarının korunması. İ.Ü. Orman Fakültesi

Dergisi, Seri B, Cilt 44, Sayı 3-4, Sayfa 13-121, İstanbul

DOYLE, J.J., DOYLE, J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.

DAVIS, P. H. 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Island, Edinburg Uni. Pres. Volume II

DOGAN, Y., BASLAR, S., AYDIN, H., MERT, H. H. 2003. A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey. Acta Bot. Croat. 62(2), 73-88.

ECHT, C.S. MAY MARQUART, P. HSEICH, M. ZAHORCHAK, R. 1996. Characterization of microsatellite markers in eastern white pine, Genome, 39: 1102-1108.

FANG, P., NIU, S., YUAN, H., LI, Z., ZHANG, Y., YUAN, L., LI, W. 2014. Development and characterization of 25 EST-SSR markers in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* (Pinaceae). Applications in Plant Sciences 2 (1): 1300057.

HAMRICK, J. L. 1989. Isozymes and the Analysis of Genetic Structure in plant populations. Isozymes in Plant Biology (Eds. SOLTIS, D.E. and SOLTIS, P.S.). Chapman and Hall. London.

HERRERA, C.M. 1984. A study of avian frugivores, bird-dispersed plants, and their interaction in Mediterranean scrublands. Ecological Monographs, 54, 1-23.

HORMAZA, J. I., PINNEY, K., POLITO, V. S. 1998. Genetic diversity of Pistachio (*P. vera*, Anacardiaceae) germplasm based on randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Economic Botany, vol.52, iss, p 78-87.

JORDANO, P. 1988. Polinización y variabilidad de la producción de semillas en *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). Annales del Real Jardín Botánico de Madrid, 45, 213-231.

KAFKAS, S., ÖZKAN, H., AK, B. E., ACAR, I., ATLI, H.S., KOYUNCU, S. 2006. Detecting DNA polymorphism and genetic diversity in wide pistachio germplasm: Comparison of AFLP, ISSR and RAPD markers. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 13(4): 522-529.

KANDEMİR, GE, KANDEMİR, I., KAYA, Z. 2004. Genetic variation in Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten. seed stands as determined by RAPD markers. Silvae Genetica 53:169-175.

KIMURA, M., CROW, J.F. 1964. The number of alleles that can be maintained in a finite population. Genetics 49:725-38.

LAUTRARI, H., MAGKOUTA, S., PYRIOCHOU, A., KOIKA, V., KOLISIS, F.N., PAPAPETROPOULOS, A., ROUSSOS, C. 2006. Mastic oil from *Pistacia lentiscus* var. *chia* inhibits growth and survival of human K562 leukemia cells and attenuates angiogenesis. Nutr. Cancer. 55(1): 86-93.

MAGIATIS, P., MELLIOU, E., SKALTSOUNUS, A.L., CHINOUE, I.B., MITAKU, S. 1999. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils *Pistacia lentiscus* var. *chia*. Planta Med. 65(8): 749-752.

MARIETTE, S., COTTRELL, J., CSAIKL, U.M., GOIKOECHEA, P., KONIG, A., LOWE, A. J., VAN DAM, B. C., BARRENECHE, T., BODENES, C., STREIFF, R., BURG, K., GROPE, K., MUNRO, R. C., TABBENER, H., KREMER, A. (2002) Comparison of levels of genetic diversity detected with AFLP and microsatellite markers within and among mixed *Q. petraea* (Matt.) Liebl. and *Q. robur* L. stands. Silvae Genet 51:72-79.

- MOTALABIPOUR, E., Z., KAFKAS, S., KHODAEIAMINJAN, M., ÇOBAN, N., GÖZEL, H. 2016.** Genome survey of pistachio (*Pistacia vera* L.) by next generation sequencing: Development of novel SSR markers and genetic diversity in *Pistacia* species. BMC Genomics 17:998.
- MULAS, M., ABELTINO, P., BRIGAGLIA, N. 1998.** Evaluation of *Pistacia lentiscus* L. Genetic resources to select ecotypes having high efficiency in the colonisation of marginal lands. Symposium on Plant Biotechnology as a tool for the Exploitation of Mountain Lands, Torino, ITALY, symposium abstracts.
- NAHUM, S., INBAR, M., NE'MAN, G., BEN-SHOLOMO, R. 2008.** Phenotypic plasticity and gene diversity in *Pistacia lentiscus* L. Along environmental gradients in Israel. Tree Genetics and Genomes, DOI 10.1007/s11295-008-0150-4.
- NEI, M. 1972.** Genetic distance between populations. American Naturalist, 106:283-292.
- PARLAK, S., ALBAYRAK, N. 2011.** Sakız (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) 'ın aşılama yoluyla çoğaltılması. Orman Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Ege Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Teknik Bülten No: 49.
- PAZOUKI L., MARDI, M., SHANJANI, P. S., HAGIDIMITRIOU M., PIRSEYEDI, S.M., NAGHAVI, M.R., NEKOUI, S.K. (2010).** Genetic diversity and relationships among *Pistacia* species and cultivars. Conserv. Genet. 11(1):311-318.
- PEAKALL, R., SMOUSE, P.E. (2012)** GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics 28:2537–2539
- ROUSSET, F. 2008.** Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. Mol. Ecol. Resources 8: 103-106.
- SAVIDIS, T. 2000.** The mastic tree of Chios (*Pistacia lentiscus* var. *Chia*). Thessaloniki-Greece: Kyriakides Bros.
- TAMURA, K., PETERSON, D., PETERSON, N., STECHER, G., NEI, M., KUMAR, S. (2011).** MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. [Molecular Biology and Evolution](#) doi: 10.1093/molbev/msr121.
- YI, T., WEN, J., GOLAN-GOLDHIRSH, A., PARFITT, D.E. 2008.** Phylogenetics and reticulate evolution in *Pistacia* (Anacardiaceae). American Journal of Botany, 95 (2): 241-251.
- ZOBEL, B., TALBERT, S. 1984.** Applied forest tree improvement. North Carolina State University. Wiley and Sons. Inc. NY
- ZOGRAFOU, P., LINOS, A., HAGIDIMITRIOU, M. 2010.** Genetic diversity among different genotypes of *Pistacia lentiscus* var. *chia* (mastic tree). Options Mediterraneennes, 94, 159-163.
- ZOHARY, M. 1952.** Amonographic study of the genus *Pistacia*. In: Palestine J. Bot. Jerusalem Ser. 5, 187-228.
- ZOHARY, M. 1972.** *Pistacia* L. Flora Palestina 2: 297-300. Israel Academy of Sciences and Humanities, Jerusalem, Israel.

