

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(DOKTORA TEZİ)

**ZEYTİNDE GENOM HARİTASININ
OLUŞTURULMASI ve MEYVE OLGUNLAŞMASINI
KONTROL EDEN GENLERLE İLİŞKİLİ DNA
MARKÖRLERİNİN SAPTANMASI**

Nurengin METE

Ziraat Yüksek Mühendisi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Adalet MISIRLI

İkinci Danışman: Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 501.01.01

Sunuş Tarihi: 04.06.2015

Bornova-İZMİR

2015

Ziraat Yüksek Mühendisi Nurengin METE tarafından **Doktora Tezi** olarak sunulan “**Zeytinde Genom Haritasının Oluşturulması ve Meyve Olgunlaşmasını Kontrol Eden Genlerle İlişkili DNA Markörlerinin Saptanması**” başlıklı bu çalışma Ege Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 04.06.2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ



Danışman : Prof. Dr. Adalet MISIRLI



Raportör Üye : Prof. Dr. Hülya İLBİ



Üye : Doç. Dr. Levent ŞIK



Üye : Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “**Zeytinde Genom Haritasının Oluşturulması ve Meyve Olgunlaşmasını Kontrol Eden Genlerle İlişkili DNA Markörlerinin Saptanması**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

04 / 06 / 2015

İmzası

Nurengin METE

Ziraat Yüksek Mühendisi

ÖZET**ZEYTİNDE GENOM HARİTASININ OLUŞTURULMASI ve MEYVE
OLGUNLAŞMASINI KONTROL EDEN GENLERLE İLİŞKİLİ DNA
MARKÖRLERİNİN SAPTANMASI**

METE, Nurengin

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Adalet MISIRLI

İkinci Danışmanı: Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ

Haziran 2015, 93 sayfa

Bu çalışma ile zeytinde yüksek yoğunlukta linkage (bağlantı) gruplarının oluşturulması ve meyve olgunluğuna etki eden kantitatif özellik lokuslarının (QTL) belirlenmesi amaçlanmıştır. Buna yönelik olarak Memecik X Uslu zeytin melez popülasyonundan seçilen 92 F₁ birey ve ebeveynlerle birlikte 94 genotipte SSR ve DArT-SNP markör analizleri yapılmıştır. Çalışmada, her iki çeşit içinde zeytinin haploid kromozom sayısı olan 23 adet linkage grubu elde edilmiştir. Bu grupların toplam uzunluğu Memecik çeşidinde 2921.9 cM, Uslu çeşidinde ise 2543.2 cM olarak saptanmıştır. Linkage gruplarının içerdiği toplam markör sayısı ve iki markör arası ortalama mesafe sırasıyla Memecik çeşidinde 2071 markör, 1.41 cM; Uslu çeşidinde ise 1836 markör ve 1.38 cM olarak belirlenmiştir.

QTL analiz sonuçlarına göre zeytinde meyve olgunlaşmasına etkili olduğu düşünülen 39 aday QTL bölgesi belirlenmiştir (LOD>2). Bunların 21'i Memecik çeşidinde (LG2, LG21), 18'i ise Uslu çeşidinde (LG1, LG2, LG8, LG12, LG17) saptanmıştır.

Sonuç olarak her iki genom haritasında toplam 3903 markör tespit edilmiş ve gelecekte yapılacak markör destekli seleksiyon (MAS) çalışmalarına zemin hazırlanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Zeytin, SNP, SSR, Linkage, QTL

ABSTRACT**CONSTRUCTION OF GENOME MAP IN OLIVE AND
IDENTIFICATION OF DNA MARKERS RELATED TO GENES FOR
CONTROLLING TO FRUIT RIPENING**

METE, Nurengin

PhD Thesis, Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Adalet MISIRLI

Co-Supervisor: Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ

June 2015, 93 pages

In this study, it was aimed to form the high-density linkage groups in olive and to determine the quantitative trait loci (QTL) which affected fruit maturity. Regarding this aim, 94 genotypes (92-F1 individuals and parents) which were selected from Memecik x Uslu hybrid population) were analyzed by SSR and DArT-SNP markers. It was obtained 23 linkage groups, which were the number of olive haploid chromosomes, in both olive varieties. The total length of these groups was found to be 2921.9 cM for Memecik and 2543.2 cM for Uslu. The total number of markers in the linkage groups was found to be 2071 for Memecik and 1836 for Uslu while the average distance between two markers was 1.41 cM and 1.38 cM for Memecik and Uslu, respectively.

It was considered that 39 candidates of QTL locus were identified associated with fruit ripening ($LOD > 2$) ; 21 of them was determined in Memecik (LG2, LG21) and 18 of them (LG1, LG2, LG8, LG12, LG17) was determined in Uslu. As a result of this study, a total of 3903 markers was determined in both genomes and considered to be a base study for the future marker assisted selections (MAS).

As a result, both the genome map has been identified a total of 3903 marker and future marker assisted selection (MAS) has been prepared to work the ground.

Key words: Olive, SNP, SSR, Linkage, QTL

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam boyunca değerli düşünce ve katkılarıyla beni yönlendiren, desteğini her zaman yanımda hissettiğim Sayın Hocam Prof. Dr. Adalet MISIRLI'ya çok teşekkür ederim.

Tez konumun belirlenmesinde ve araştırmalar sırasındaki katkılarıyla çalışmama yön veren tez ikinci danışmanım Sayın Hocam Prof. Dr. M. Bahattin TANYOLAÇ'a gösterdiği anlayış ve desteği için teşekkürlerimi sunarım.

Tez İzleme Komitesi'nde yer alan ve önerileri ile çalışmanın tüm aşamalarında katkılarda bulunan değerli Hocalarım Sayın Prof. Dr. Hülya İLBİ ve Doç. Dr. Zeynel DALKILIÇ'a çok teşekkür ederim.

Çalışmayı destekleyen TAGEM'e ve TAGEM projesinde proje lideri olan değerli mesai arkadaşım Dr. Öznur ÇETİN'e tüm proje boyunca verdiği destek, hoşgörü ve bilgi akışı için şükranlarımı sunarım.

Çalışmamın yürütülmesinde her aşamada destek vererek yanımda olan Zeytincilik Araştırma İstasyonu Müdürü Sayın Dr. Ünal KAYA'ya teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında hep yanımda olan ve çalışmayı keyifli hale getiren değerli dostlarım Zir. Yük. Müh. Mustafa ŞAHİN, Zir. Yük. Müh. Hülya KAYA ve Zir. Yük. Müh. Mehmet HAKAN'a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmasının her aşamasında bilgisini, emeğini ve zamanını büyük bir özveri ile paylaşan H. Betül KAYA'ya katkıları için çok teşekkür ederim.

Doktora süresi boyunca sevgi ve desteklerini esirgemeyen eşim Şenay METE, oğlum Emre METE ve kızım Bahar METE'ye hayatıma kattıkları pozitif enerjiden dolayı yürekten teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xix
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	12
3.1. Materyal	12
3.1.1. Memecik çeşidinin özellikleri	12
3.1.2. Uslu çeşidinin özellikleri.....	13
3.2. Yöntem	13
3.2.1. DNA izolasyonu için yaprak örneklerinin toplanması	13
3.2.2. SSR Markör analizi için DNA izolasyonu	13
3.2.3. DArT-SNP markör analizi için DNA izolasyonu	14
3.2.4. DNA saflığının belirlenmesi.....	15
3.2.5. SSR markör analizi	17

İÇİNDEKİLER (devam)

3.2.6. DArT (Diversity Arrays Technology)-SNP markör analizi.....	20
3.2.7. QTL analizi için meyve olgunlaşma süresinin saptanması	22
3.2.8. Verilerin değerlendirilmesi.....	22
3.2.9. Linkage gruplarının oluşturulması ve QTL haritalama	23
4. BULGULAR	24
4.1. SSR Markör Analizi	24
4.2. DArT-SNP Markör Analizi	26
4.3. QTL Haritalama için Meyve Olgunlaşma Sürelerinin Belirlenmesi.....	28
4.4. Linkage (Bağlantı) Gruplarının Oluşturulması.....	30
4.4.1. Memecik (P1) çeşidinin linkage gruplarının oluşturulması.....	30
4.4.2. Uslu (P2) çeşidinin linkage gruplarının oluşturulması	46
4.5. QTL Analizi	62
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	77
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	82
ÖZGEÇMİŞ... ..	93

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Memecik çeşidine ait meyve	12
3.2. Uslu çeşidine ait meyve	13
3.3. Saflık analizi sonucunda elde edilen jel görüntüsü.....	16
3.4. Proteinaz K ve RNaz uygulaması sonucunda elde edilen jel görüntüsü.	16
3.5. DArT-SNP markör sistemi adımları	21
4.1. Ebeveynlerin her ikisi de heterozigot (abxcd), Gapu89	25
4.2. Ebeveynlerin her ikisi heterozigot, bir allel ortak (efxeg), UDO99-008.....	25
4.3. Ebeveynlerde her iki allelde ortak (hkxhk), ssrOeUA-DCA15	25
4.4. Sadece baba ebeveynde açılım (nnxnp), UDO99-012	25
4.5. DArT-SNP analizinden gelen 1 ve 0 olarak skorlanan veriler	26
4.6. Ebeveynlerde polimorfik olan SNP markörleri	27
4.7. Haritalama için skorlamaları yapılmış SNP markörleri	27
4.8. Memecik çeşidinin 1. ve 2. linkage grubu.....	35
4.9. Memecik çeşidinin 3. ve 4. linkage grubu.....	36
4.10. Memecik çeşidinin 5. ve 6. linkage grubu.....	37
4.11. Memecik çeşidinin 7. ve 8. linkage grubu.....	38
4.12. Memecik çeşidinin 9. ve 10. linkage grubu	39

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

4.13. Memecik çeşidinin 11. ve 12. linkage grubu	40
4.14. Memecik çeşidinin 13. ve 14. linkage grubu	41
4.15. Memecik çeşidinin 15. ve 16. linkage grubu	42
4.16. Memecik çeşidinin 17. ve 18. linkage grubu	43
4.17. Memecik çeşidinin 19. ve 20. linkage grubu	44
4.18. Memecik çeşidinin 21., 22., ve 23. linkage grubu	45
4.19. Uslu çeşidinin 1. ve 2. linkage grubu	51
4.20. Uslu çeşidinin 3. ve 4. linkage grubu	52
4.21. Uslu çeşidinin 5. ve 6. linkage grubu	53
4.22. Uslu çeşidinin 7. ve 8. linkage grubu	54
4.23. Uslu çeşidinin 9. ve 10. linkage grubu	55
4.24. Uslu çeşidinin 11. ve 12. linkage grubu.....	56
4.25. Uslu çeşidinin 13. ve 14. linkage grubu.....	57
4.26. Uslu çeşidinin 15. ve 16. linkage grubu.....	58
4.27. Uslu çeşidinin 17. ve 18. linkage grubu.....	59
4.28. Uslu çeşidinin 19. ve 20. linkage grubu.....	60
4.29. Uslu çeşidinin 21., 22. ve 23. linkage grubu.....	61
4.30. Memecik çeşidi LG2’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri	67

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

4.31. Memecik çeşidi LG21’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri	68
4.32. Uslu çeşidi LG1’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri.....	73
4.33. Uslu çeşidi LG2’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri.....	74
4.34. Uslu çeşidi LG8 ve LG12’de 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri.....	75
4.35. Uslu çeşidi LG17’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri	76

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Dünya tane zeytin üretimi (2010/2013 ort.)	1
3.1. SSR markör analizinde kullanılan bileşenler ve miktarları.....	17
3.2. SSR markör analizinde uygulanan sıcaklık döngüleri ve süreleri.	17
3.3. SSR markör analizinde kullanılan primerler.	18
3.4. Cross Pollinator (CP) populasyonunda beklenen açılımlar.....	23
4.1. CP açılımı gösteren SSR primerlerine ait örnek skorlama şekli	24
4.2. Genotiplerin tam çiçeklenmeden olgunluk indeksi 4 dönemine kadar geçen meyve olgunlaşma süreleri	29
4.3. Haritalama çalışmasında kullanılan markör sayıları.....	30
4.4. Memecik çeşidine ait linkage grupları.....	34
4.5. Uslu çeşidine ait linkage grupları	50
4.6. Memecik çeşidi için 1.yıl QTL analizinden elde edilen bulgular	66
4.7. Memecik çeşidi için 2.yıl QTL analizinden elde edilen bulgular	66
4.8. Uslu çeşidi için 1.yıl QTL analizinden elde edilen bulgular	72
4.9. Uslu çeşidi için 2.yıl QTL analizinden elde edilen bulgular	72

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
AFLP	Amplified Fragment Length Polimorphism
DNA	Deoxyribonucleic acid
dNTP	Deoxyribonucleotide triphosphate
EDTA	Etilen Diamine Tetra Asetik Asit
ISSR	Inter Simple Sequence Repeat
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
µl	Mikrolitre
ng	Nanogram
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SSR	Simple Sequence Repeat
SRAP	Sequence Related Amplified Polymorphism
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
DArT	Diversity Arrays Technology
LOD	Maximum Likelihood Odds Value
MAS	Marker Assisted Selection (Marköre dayalı seçim)
QTL	Quantitative Trait Loci (Kantitatif karakter lokusları)
RNaz	Ribonukleaz
rpm	Dakikadaki dönüş sayısı
cM	Santi Morgan
TBE	Tris-Borik Asit-EDTA çözeltisi
TE	Tris-EDTA çözeltisi
EtBr	Etidyum bromid
UP	Ultra Pure

1. GİRİŞ

Zeytin *Oleaceae* familyasının *Olea* cinsine dâhil bir meyve türüdür (Flahault, 1986). *Olea* cinsi çok sayıda tür ve alt türleri içermekte olup, bunların çoğu çalı formundadır. Ekonomik değeri en yüksek olan tür *Olea europaea*'dır (Baldoni et al., 2006). Bu tür *O. europaea var. sylvestris* ve *O. europaea var. sativa* adlı iki ana gruba bölünmüştür. Bunlardan birincisi yabani zeytinler olarak tanımlanan bütün tipleri, ikincisi ise kültür zeytinlerini içermektedir (Turrill, 1951). Kültür ve yabani zeytin genotipleri aynı kromozom sayına ($2n = 46$) sahiptir (Green and Wickens, 1989).

Zeytin Doğu Akdeniz'de "*O. europaea* L. subsp. *oleaster*" olarak bilinen yabani Akdeniz zeytininden kültüre alınmıştır (Besnard et al., 2001). İnsanoğlu zeytini ilk olarak ilaç yapımında kullanmaya başlamış sonraki yüzyıllarda zeytin ürünlerinin ve özellikle zeytinyağının insan sağlığına olumlu etkilerinin anlaşılmasıyla zeytine verilen önem her geçen gün artmıştır. Buna bağlı olarak, zamanla anavatanı olan Doğu Akdeniz'den yayılmaya başlayan zeytin, günümüzde bütün Akdeniz Havzası'na yayılmış durumdadır. Bu havzada bulunan İspanya, İtalya, Yunanistan, Türkiye, Fas, Suriye ve Tunus Dünya üretiminin büyük bir kısmını gerçekleştirmektedir. Bu ülkeler arasında yer alan Türkiye, 2010-2013 üretim ortalamaları temel alındığında, 1.665.250 tonluk tane üretim hacmi ile Dünya zeytin üretiminde 4. sırada yer almaktadır (FAO, 2015).

Çizelge 1.1. Dünya tane zeytin üretimi (2010/2013 ort.).

Ülkeler	Üretim (Ton)	%
İspanya	6685680	34.72
İtalya	3077746	15.98
Yunanistan	1941150	10.08
Türkiye	1665250	8.65
Fas	1354961	7.04
Suriye	986826	5.12
Tunus	874500	4.54
Diğer	2671880	13.87
Dünya Toplamı	19257993	100.00

Günümüzde zeytin yetiştirilen ülkelerde binden fazla genotipin tanımlaması yapılmıştır. Bu genotiplere ilaveten pek çok ülkede yeni genotiplerin geliştirilmesi çalışmaları devam etmektedir. Bu amaçla, günümüze kadar önemli karakterleri içeren yeni tiplerin elde edilmesine yönelik farklı ıslah yöntemleri kullanılmış ancak çeşit seleksiyonu haricinde önemli sonuçlar elde edilememiştir (Lavee, 1998). Bununla birlikte, özellikle 1970'li yıllardan sonra toplu seleksiyon ve melezleme ıslah çalışmaları yapılmaya başlanmıştır. Ancak, melezleme ıslahı çalışmalarından elde edilen bireylerin uzun gençlik kısırlığı (De la Rosa et al., 2003, Santos-Antunes et al., 2005) seleksiyon açısından en önemli problemi oluşturmakta ve sonuçların alınmasını uzun bir süreye yaymaktadır. Oysaki son yıllarda moleküler biyolojinin gelişmesiyle birlikte geleneksel ıslah metotlarında ortaya çıkabilecek sorunlara alternatif çözümler bulunabilmektedir. Nitekim, Janick and Moore (1996) markör destekli seleksiyon (marker assisted selection, MAS) sayesinde, uzun gençlik kısırlığı nedeniyle oluşan zaman kayıplarının giderilebileceğini ifade etmişlerdir.

Genomdaki herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçası olarak tanımlanan moleküler markörler farklı amaçlara yönelik olarak birçok alanda kullanılmaktadır. Bunlar arasında; genetik varyasyonun araştırılması, türlerin taksonomik tanımlamasının yapılması, filogenetik akrabalıkların bulunması, genetik haritalama ve markörler yardımıyla erken seleksiyon gibi çalışmalar sayılabilir.

Başarılı bir genetik haritalama için, uygun populasyon seçimi oldukça önemlidir. Bu bakımdan ana-baba olarak kullanılacak ebeveynlerin mümkün olduğu kadar genetik yönden birbirinden farklılık göstermesi istenir.

Genetik haritalamanın temelinde rekombinasyon olayı yatmaktadır. Mayoz I'ın profaz evresinde gerçekleşen rekombinasyonda homolog kromozomların eşleşmesiyle, kromozom segmentlerinin karşılıklı (resiprokal) değiş-tokuşu gerçekleşir ve bu olay sonucunda genetik haritalama için gerekli olan polimorfizm meydana gelir. Rekombinasyon frekansı cM ile hesaplanır. cM harita birimi olup 1 cM her 100 bireyde 1 rekombinant birey olduğunu gösterir.

Moleküler markörlerin en etkili kullanım alanlarından biri, çoklu gen etkisi sebebiyle karmaşık bir genetik yapıya sahip olan kantitatif karakter kalıtımı ile ilgili çalışmalardır. Kantitatif karakterlerin, birden fazla lokustaki genler tarafından idare edilmeleri, her bir lokusun etki derecesinin farklı olması ve çevre şartlarından fazla etkilenmeleri, klasik metotlarla ıslah çalışmalarında belirlenmelerini zorlaştırmaktadır. Buna karşılık moleküler tekniklere dayalı Kantitatif Karakter Lokusu (QTL, Quantitative Trait Locus) haritalamaları sayesinde kantitatif özellikleri kontrol eden kromozomal bölgelerin tanımlanmaları mümkün olmaktadır (Collard ve Mackill, 2008).

Son yıllarda zeytinde yapılan genetik çalışmalarda büyük bir artış olmasına rağmen, diğer türlerle karşılaştırıldığında hala çok yetersiz bir seviyededir. Zeytinde genetik haritalama çalışmaları ilk olarak La Rosa et al., (2003) tarafından başlatılmış olup, sonrasında Wu et al., (2004), İpek vd., (2008), El Aabidine et al., (2010), Khadari et al., (2010), Dominguez-Garcia et al., (2012) ve Ben Sadok et al., (2013) gibi araştırmacılar genetik haritalama yapmışlardır. Bu çalışmalar içerisinde toplam markör içeriği bakımından en yüksek değer Picual X Arbequina melez popülasyonunda elde edilmiş ve ana için 257, baba için 392 markör haritalamada kullanılmıştır (Dominguez-Garcia et al., 2012).

Zeytinde kantitatif karakter lokuslarının belirlenmesine yönelik çalışmalar da oldukça azdır. Bu konu üzerinde daha önce İpek vd., (2008), Ben Sadok et al., (2013) ve Atienza et al., (2014) bazı karakterlerle ilişkili aday lokus bölgelerini belirlemişlerdir. Ancak günümüze kadar erken seleksiyon kriteri olarak kullanılabilecek etkili bir markör geliştirilememiştir.

Zeytinde meyve olgunluğu gerek sofralık gerekse zeytinyağı kalitesine etki eden önemli bir faktördür. Ersoy, (2005) zeytinde meyve olgunluk düzeyinin zeytinyağı kalitesine % 50 oranında etki ettiğini belirtmiştir. Ayrıca, Ait Yacine et al., (2001) yaptıkları bir çalışmada olgunluk indeksi ve hasat tarihi arasında çok güçlü bir korelasyon ($R=0.91-0.96$) olduğunu rapor etmişlerdir. Zeytin meyvelerinin olgunlaşma zamanı sonbaharda başlamakta ve kış aylarında devam etmektedir. Bu dönemde olumsuz iklim koşulları (şiddetli yağmur, don, dolu, fırtına) meyvelerde bozulmalara neden olmaktadır. Özellikle bazı yıllarda

meydana gelen don olayı meyve dokusunu bozmakta ve sofralık zeytin başta olmak üzere yağ kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca, zeytin hasadının gecikmesiyle birlikte zeytinin ana zararlısı olan zeytin sineği [*Bactrocera oleae* (Gmelin) (*Dip.: Tephritidae*)] zararı artmakta (Topuz ve Durmuşoğlu, 2008) ve bir sonraki ürün yılında ağaçlarda daha az çiçek tomurcuğu oluşmasına neden olmaktadır (Lavee 1998; Ravetti 2008). Bu durum verim ve kalite üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir.

Yukarıdaki açıklamalar ışığında planlanan bu çalışmada, Memecik X Uslu F₁ popülasyonunda SSR (Simple Sequence Repeat) ve DArT (Diversity Arrays Technology)-SNP moleküler markör yöntemleri kullanılarak, zeytinde yüksek yoğunlukta linkage (bağlantı) gruplarının oluşturulması ve ıslah çalışmalarında erken seleksiyona yönelik markör geliştirilmesi amacıyla meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgelerinin bulunması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Zeytin (*Olea europaea* L.) ekonomik önemi olan ve Akdeniz Havzası'nda yetiştirilen en eski meyve türlerinden birisidir (Bracci et al., 2011). Zeytin yetiştiriciliği yapılan ülkelerde, şimdiye kadar tanımlanmış yaklaşık 1250 çeşit olduğu belirtilmiştir (Bartolini, 2008). Bu çeşitlerin çoğu üreticilerin doğal seleksiyonları sonucunda ortaya çıkmış ve bazıları hala orijin bölgelerinde sınırlı alanlarda yetiştirilmektedir (Besnard et al., 2001).

Zeytinde genetik çeşitlilik günümüze kadar farklı moleküler tekniklerle araştırılmıştır. Ancak moleküler markörlerin birçok avantajlarına rağmen zeytinde önemli karakterleri kontrol eden genlerle ilgili bilgiler henüz yeterli düzeyde görülmemektedir (Belaj et al., 2011; Bracci et al., 2011; Dominguez-Garcia et al., 2012; Ben Sadok et al., 2013).

Moleküler bitki ıslahında linkage gruplarının ve genetik haritaların oluşturulmasında, DNA düzeyindeki farklılıklara göre değişik markör sistemleri kullanılmaktadır (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Farklı mutasyon sınıflarının bir sonucu olarak ortaya çıkan moleküler markörler, hibridizasyona ve PCR'a dayalı olmak üzere iki grupta toplanmaktadır. Hibridizasyona dayalı olan moleküler markörlerin en yaygını RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) markör sistemidir. PCR'a dayalı moleküler markörler arasında ise RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA), SCAR (Sequence-Characterized Amplified Regions), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), STS (Sequence-Tagged Sites), EST (Expressed Sequence Tags), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), SCAR (Sequence Characterized Amplified Region), SSR (Simple Sequence Repeat), SNP (Single Nucleotide Polymorphism) ve türe özgü çok sayıda genomik bilgi verici DArT (Diversity Arrays Technology) gibi markör sistemleri bulunmaktadır (Semagn et al., 2006).

Bu markörlerden bir ya da birkaçı kullanılarak genetik haritalar oluşturulmakta ve genlerin kromozomlar üzerindeki yerlerinin (lokus) tespit edilmesi mümkün olabilmektedir. Kantitatif özellikleri kontrol eden genleri

taşıyan bölgeler kantitatif özellik gen bölgeleri (QTL) olarak adlandırılmaktadır. Genetik ya da moleküler markörler kullanılarak QTL'lerin yerlerini belirlemek, genom içinde dağılımını ortaya çıkarmak ve haritalamak mümkün olmaktadır (Asins, 2002).

Kültür bitkilerinde kantitatif varyasyon; verim, kalite veya hastalıklara dayanım gibi birçok önemli karakterin bir özelliğidir. Bu nedenle kantitatif varyasyonun araştırılması ve özellikle potansiyel genetik temelinin ortaya çıkarılması ıslah çalışmalarında birinci derecede öneme sahiptir. Ancak kantitatif varyasyonun çok sayıda açılım gösteren genler ve çevresel faktörlerin etkinliğinde olduğu ifade edilmiştir (Asins, 2002).

Genomda bağlantı analizi için; LOD Skor (Logarithm of Odds Ratio) analizi yapılmaktadır. LOD Skor = 3 ve üstü olan değerler bağlantıyı desteklemesi açısından anlamlı kabul edilirken 2 ve altı kesin olarak bağlantı yokluğunu göstermektedir. Aradaki değerler ise yoruma açıktır. LOD skoru ile iki genin birbirine yakınlık durumu matematiksel yollarla ölçülür ve sonuç olarak aranılan genin test edilen kromozom lokusunda olup olmadığı tespit edilir (Akarsu, 2004).

Bir markör bir karakteri kontrol eden gene ne kadar yakın ise, rekombinasyon ile markör ve genin birbirinden ayrılma ihtimali o kadar düşük olmaktadır. Bu nedenle genetik haritalardaki markör sayısının yüksek olması değerlendirmede avantaj sağlamaktadır (Gülşen ve Mutlu, 2005).

Genetik bağlantıların oluşturulmasında ideal olan bir türün haploid kromozom sayısı kadar linkage grubu oluşturulması gerekmektedir. Ayrıca her bir bağlantı grubunda markörler arasında 20 cM'dan fazla olmaması gerektiği bildirilmektedir (Vienne, 2003).

Yabancı tozlanan ve heterozigot yapıya sahip türler için yapılacak genetik haritalamada 'double pseudo-testercross' stratejisi uygun bir yöntem olarak görülmektedir (Grattapaglia and Sederoff, 1994). Benzer şekilde Vienne (2003), çok yıllık bitkilerde F₁ bireylerinin genetik haritalama çalışmalarında aynı stratejinin uygun olduğunu ve bu yöntemde ana ve baba bitki için ayrı ayrı genetik

harita oluşturulduğunu belirtmiştir. Bu stratejide çok yıllık bitkilerin genetik linkage haritalarının başarılı bir şekilde oluşturulması ebeveynler arasındaki açılıma ve türlerin heterozigotluk seviyesine bağlıdır (Cervera et al., 2001; Scott et al., 2005). Ayrıca, genetik çalışmalara başlamadan önce populasyonların oluşturulmasında ebeveyn olarak kullanılan genotiplerin moleküler seviyede tanımlanması ve aralarındaki genetik ilişkilerin ortaya çıkarılması iyi bir genetik haritalama bakımından arzu edilmektedir (Altinkut, 2001).

Çetin, (2012) 96 farklı zeytin genotipinin moleküler karakterizasyonunu yaptığı çalışmada, 14 farklı SSR primeri için Memecik – Uslu çeşitleri arasındaki genetik uzaklığı 0.41, RAPD, AFLP ve SSR mörkerlerinin kullanıldığı ortak genetik uzaklık matris değerinin ise 0.30 olduğunu belirtmiştir.

Zeytin kromozomlarının küçük, çok sayıda ve benzer yapıda olması nedeniyle kromozomların tamamının tatmin edici derecede karakterize edilmesinin zor olduğu bildirilmiştir (Bracci et al., 2011). Rugini et al., (1996) bazı İtalyan çeşitlerinde zeytin çekirdek DNA'sını sitometrik metodlarla ölçmüşler ve her bir haploid çekirdekte Frantoio için 2.26 pg, Leccino için ise 2.20 pg bulmuşlardır. Oysa ki Bitonti et al., (1999) bu değeri Dolce Agogia'da 3.90 pg/2C, Pendolino için ise 4.66 pg/2C olarak tespit etmişlerdir. Loureiro et al., (2007) tarafından yapılan bir başka çalışmada 6 Portekiz çeşidi ve 1 yabancı zeytine ait çekirdek DNA'larının miktarlarının Portekiz çeşitleri için 2.90 ± 0.020 ile 3.07 ± 0.018 pg/2C arasında değiştiğini, yabancı zeytin için ise 3.19 ± 0.047 pg/2C olduğu saptanmıştır. Bu değer yaklaşık 3120 Mbp'ne karşılık gelmektedir. (1 pg yaklaşık 978 Mbp, Dolezel et al., 2003).

Zeytinde moleküler markör çalışmaları daha çok genetik çeşitliliğin belirlenmesi amacıyla yapılmaya başlanmıştır (Bracci et al., 2011). Bununla birlikte son yıllarda linkage haritalama ve QTL lokuslarının belirlenmesine yönelik çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Zeytinin ilk linkage haritası De La Rosa et al., (2003) tarafından oluşturulmuştur. Araştırmacılar; RAPD, AFLP, RFLP ve SSR tekniklerini kullandıkları çalışmada Leccino X Dolce Agogia melez popülasyonundan elde edilen 95 F₁ bireyde double pseudo test-cross haritalama strajisini kullanarak ana ve baba için ayrı ayrı linkage haritalaması yapmışlardır.

Buna göre; Leccino çeşidinde 249 markör içeren 39 bağlantı grubu ve Dolce Agogia çeşidinde 236 markör ile 30 bağlantı grubu oluştuğunu belirtmişlerdir. Toplam harita uzunluğunu Leccino için 2.765 cM, Dolce Agogia için ise 2.445 cM olarak saptamışlar ve markörler arasındaki ortalama mesafenin sırasıyla 13.2 cM ve 11.9 cM olduğunu bildirmişlerdir.

Wu et al., (2004) RAPD, SCAR ve SSR markör yöntemlerini kullanarak Frantoio X Kalamata F₁ popülasyonunda linkage haritalaması yapmışlardır. Çalışmada 104 F₁ birey kullanılmış ve ana-baba için ayrı ayrı haritalar oluşturularak bunlar birleştirilmiştir. Buna göre, Kalamata çeşidi için 759 cM uzunluğunda 23 linkage grubu belirlenmiştir. İki markör arasındaki ortalama mesafe 11.5 cM olarak bulunmuştur. Frantoio çeşidi için ise 798 cM uzunluğunda 27 linkage grubu belirlenmiştir. Markörler arasındaki ortalama mesafe ise 12.3 cM olarak tespit edilmiştir.

Gemlik X Edincik Su melez popülasyonunda yürütülen bir başka çalışmada Gemlik çeşidi için 2891 cM uzunluğunda, 105 markör içeren 16 linkage grubu oluşturulmuştur. Oluşturulan bu genetik haritada yapılan QTL analizine göre, çekirdek ağırlığı için 2 (LOD>2), meyve ağırlığı için 1 (LOD>2) ve yağ asitleri miktarı için ise 7 adet QTL markörünün belirlendiği ifade edilmiştir (İpek vd., 2008).

Aabidine et al., (2010) tarafından Picholine Marocaine X Picholine du Languedoc çeşitlerine ait 140 F₁ birey ve ebeveynlerde yapılan çalışmada AFLP, SSR, ISSR, SCAR ve RADP markör yöntemleri kullanılmıştır. Toplam olarak 592 markörün kullanıldığı haritalama çalışmasında; 47 SSR, 509 AFLP, 27 ISSR, 8 RADP ve 1 SCAR markörü bulunmuştur. Ana ebeveyne ait haritada 175 markör kullanılmış ve 40 linkage grubu oluşmuştur. Harita uzunluğu 1547.4 cM olarak bulunmuştur. Babaya ait haritada ise 38 linkage grubunun 170 markör içerdiği ve toplam harita uzunluğunun 1428.0 cM olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, çalışma neticesinde oluşturulan söz konusu haritaların QTL bölgelerinin bulunmasında faydalı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Khadari et al., (2010) Oliviere X Arbequina kombinasyonundan elde edilen 147 F₁ bireyde double pseudo test-cross haritalama yöntemini kullanarak linkage haritalaması yapmışlardır. Anaya ait haritada toplamda 222 markör (178 AFLP, 37 SSR, 7 ISSR) kullanılmış ve 36 linkage grubu oluşturulmuştur. Harita uzunluğu 2210.0 cM olarak saptanmış, iki markör arası ortalama uzaklık 11.2 cM, maksimum mesafe ise 48.5 cM olarak tespit edilmiştir. Babaya ait harita ise 174 AFLP, 39 SSR ve 6 ISSR olmak üzere 219 markörden oluşmuştur. Toplam 31 linkage grubu bulunan haritanın uzunluğu 1966.2 cM olarak tespit edilmiştir. Ortalama markör mesafesi ise 10.3 cM bulunmuştur. Araştırmacılar haritaların doygunluğunun yeterli olmamasına rağmen bazı QTL bölgelerinin tespit edilmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Picual ve Arbequina melez kombinasyonundan elde edilen 91 F₁ melez bireyde DArT-SNP ve SSR moleküler markör teknikleri ile linkage haritalamanın yapıldığı çalışmada, Picual çeşidi için 47, Arbequina çeşidi için 39 linkage grubu bulunmuştur. Ancak grupların büyük çoğunluğunun 2 markörden oluşması nedeniyle sadece 23 linkage grubu çalışmada verilmiştir. Buna göre, Arbequina çeşidine ait haritada toplamda 392 markör (23 SSR+369 DArT) ve 23 linkage grubu, Picual çeşidi için ise 257 markör ile (24SSR+233DArT) yine 23 linkage grubu oluşturulmuştur. Linkage gruplarının toplam uzunluğu Picual çeşidi için 1205.1 cM Arbequina çeşidi için ise 1639.3 cM olarak belirlenmiştir. Picual çeşidinde iki markör arasındaki ortalama mesafe 9.64 cM olurken Arbequina çeşidinde 8.04 cM olduğu ifade edilmiştir (Dominguez-Garcia et al., 2012).

Zeytinde verimliliğin genetik temellerinin araştırılması amacıyla Oliviere X Arbequina melez popülasyonunda yürütülen çalışmada, Oliviere çeşidi için 1745.3 cM uzunluğunda 362 markör içeren 25 linkage belirlenmiş ve iki markör arası ortalama uzaklık 8.23 cM olarak saptanmıştır. Arbequina çeşidi için ise 362 markör içeren 1597.6 cM uzunluğunda 21 LG (linkage group) belirlenmiştir. Bu harita için ortalama markör uzaklığının 6.34 cM olduğu belirtilmiştir. Her iki çeşit için 2148.4 cM uzunluğunda birleşik bir linkage haritası oluşturulmuş ve kantitatif özellik lokuslarının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmada kullanılan bu haritada verimlilikle ilişkili 35 aday QTL bölgesi tespit edildiği açıklanmıştır.

Araştırmada, zeytinde verimliliğin karışık bir genetik kontrol altında olduğu belirtilmiştir (Ben Sadok et al., 2013).

Atienza et al., (2014) Picual X Arbequina zeytin melez kombinasyonunda ağaç gelişme kuvveti ve bazı meyve özellikleri bakımından QTL haritalaması yapmışlardır. Buna göre, yağ içeriği için 1. ve 10. linkage grubunda belirlenen QTL'lerin %20-30 civarında fenotipik varyasyona bağlı olduğu belirtilmiştir. Nem oranına ilişkin olarak 1., 10. ve 17. linkage grubunda QTL'ler belirlenmiştir. Meyve et oranına ilişkin QTL'ler 10. ve 17. linkage gruplarında bulunmuştur. Bu bağlamda daha önce oluşturmuş olan Picual haritasına meyve ağırlığı ve gövde çapını içeren 5 yeni QTL eklenmiştir. Çalışmada belirlenen QTL'lerin 1., 10. ve 17. linkage gruplarında kümелendiğini ifade eden araştırmacılar, bu sonuçların MAS seleksiyonunda kullanılması için önemli bir adım olduğunu belirtmişlerdir.

QTL çalışmalarının temel amacı, markör destekli seleksiyona zemin hazırlamaktır. Bu amaçla ıslahçılar diğer birçok meyve türünde de bağlantı haritalarının oluşturulması ve QTL bölgelerinin belirlenmesi konusunda çalışmalar yapmışlar ve yapmaya devam etmektedirler.

Jun et al., (2002) şeftalilerde meyve etinin çekirdeğe yapışıklık durumu ile ilgili 4 RAPD markörü elde etmişlerdir. Weber et al., (2003) turunçgilde don toleransını kontrol eden aday genleri belirlemek amacıyla QTL çalışması yapmışlardır.

Fischer et al., (2004) asmada küllemeye dayanım için 1 adet ve mildiyöye dayanım için birden fazla QTL saptamışlardır. Ayrıca olgunlaşma zamanı, tane büyüklüğü ve sürgün büyümesine yönelik başka QTL'ler belirlediklerini bildirmişlerdir. Fanizza et al., (2005) asmada meyve verimini etkileyen bileşenleri QTL analizi ile incelemişlerdir. Silva et al., (2005) bademde çiçeklenme zamanını belirleyen aday genlerde QTL analizi gerçekleştirmişlerdir. Yaşa, (2005) asmada çiçeklenme zamanı ve küllemeye dayanım konusunda 2 markör tespit edildiğini bildirmiştir.

Khan et al., (2006) elma ve armutta önemli bir sorun oluşturan *Erwinia amylovora* bakterisinden kaynaklanan ateş yanıklığı zararına karşı dayanıklılığı kontrol eden 1 QTL belirlemişlerdir. Zhang et al., (2010) kirazda meyve iriliğine ilişkin ebeveynlere ait haritada 3 QTL lokusu tespit etmişlerdir. Dondini et al., (2010) kayısıda plum pox virüsüne (PPV) karşı direnç mekanizmasını çalıştıran 1 QTL belirlemişlerdir. Gülşen et al., (2011) turuğgillerde erken meyveye yatmada birçok QTL lokusunun etkili olduğunu belirlemişlerdir. Dhanapal et al., (2012) yine şeftalide hasat sonrası depolamada soğuk zararı belirtisi olan meyve etinde yumuşama ve solgunluğa etki eden 12 aday gen saptamışlardır. Costa et al., (2014) elmada etilen üretimine etki eden QTL lokuslarını belirlemişlerdir. Potts et al., (2014) yine elmada meyve iriliğine etki eden iki QTL lokusu saptamışlardır. Pacheco et al., (2014) şeftalide monilya (*Monilinia fructigena*) hastalığına dayanım konusunda QTL haritalaması yapmışlardır.

Asmada Doligez et al., (2002); Grando et al., (2003); Riaz et al., (2004); Adam-Blondon et al., (2004); Doucleff et al., (2004); Liu et al., (2013); elmada Hemmat et al., (1994); Kenis and Keulemans (2005); Schouten et al., (2012); D. Clark et al., (2014), Japon eriğinde Vieira et al., (2005), armutta Zhao et al., (2013), bademde Tavassolian et al., (2010), Japon kayısısında Sun et al., (2013), ananasta Carlier et al., (2004; 2006), muzda Hippolyte et al., (2010), dutta Venkateswarlu et al., (2006), cevizde Malvolti et al., (2001), pikan cevizinde Beedanagari et al., (2005), ahududunda Graham et al., (2004), kayısıda Hurdato et al., (2002); Vilanova et al., (2003) ve Lambert et al., (2004) bağlantı haritaları yapmışlardır.

Türkiye’de de antepfıstığında Türkeli (2010) ve Akyüz (2012); elmada Aslan (2012) ve Pour (2013); asmada Yaşa (2005) ve İşçi (2007); mandarinde Turunç ve Kaçar (2013) bağlantı analizleri gerçekleştirmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Proje, Zeytincilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Kemalpaşa sahasında bulunan yaklaşık 20 yaşındaki Memecik X Uslu melez popülasyonunda yürütülmüştür. Proje materyali olarak ebeveynlerle birlikte toplam 94 genotip kullanılmıştır. Memecik ve Uslu çeşitlerine ait DNA örnekleri ve fenotipik veriler Zeytin Arazi Gen Bankasındaki yaklaşık 40 yaşındaki ağaçlardan alınmıştır. Tüm genotiplerdeki fenotipik veriler 2012 ve 2014 yıllarında saptanmıştır. Melez popülasyonunun ebeveynlerine ait özellikler şu şekildedir;

3.1.1. Memecik çeşidinin özellikleri

Ağaç varlığı bakımından ülkemizde en çok yetiştirilen çeşitlerden birisidir (Şekil 3.1). Geç olgunlaşan bir çeşittir. Yağ kalitesi ve oranı (% 24.50) yüksektir. Bu nedenle, genellikle yağlık olarak değerlendirilmekle birlikte sofralık olarak da değerlendirmeye uygundur. Meyve büyüklüğü iri olan çeşidin et oranı % 88.28'dir (Arsel ve ark. 2001; Canözer 1991).



Şekil 3.1. Memecik çeşidine ait meyve.

3.1.2. Uslu çeşidinin özellikleri

Erken olgunlaşan ve ülkemizin önemli siyah sofralık zeytin çeşitlerinden birisidir (Şekil 3.2). Meyve büyüklüğü orta olup yağ oranı % 21.50, et oranı ise % 85.17'dir (Arsel ve ark. 2001; Canözer 1991).



Şekil 3.2. Uslu çeşidine ait meyve.

3.2. Yöntem

3.2.1. DNA izolasyonu için yaprak örneklerinin toplanması

DNA izolasyonu için 94 zeytin genotipinde sürgün uçlarındaki en genç yapraklar alınarak Eppendorf tüplere konulmuş ve sıvı azot içerisinde laboratuvara taşınmıştır. Örnekler DNA izolasyonu yapıncaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. SSR markör analizi için DNA izolasyonu

SSR markör analizleri için toplanan yapraklar sıvı azot içerisinde havanda öğütülerek toz haline getirilmiştir. Daha sonra Macherey-Nagel (NucleoSpin Plant II, Düren / Germany) bitki DNA izolasyon kiti kullanılarak bitki materyallerinin DNA'ları izole edilmiştir. Bu DNA'lar daha sonra kullanılmak üzere + 4°C de saklanmıştır.

3.2.3. DArT-SNP markör analizi için DNA izolasyonu

DArT-SNP DNA izolasyonu https://www.diversityarrays.com/files/DArT_DNA_isolation.pdf sitesinden alınan DNA izolasyon protokolüne göre yapılmıştır.

İzolasyondan 3-4 gün önce taze tampon solusyonu (fresh buffer solution) hazırlanmış ve çalışmaya başlamadan önce 65°C’de bekletilerek solüsyonun iyice karışması sağlanmıştır. Yapraklar sıvı azot içerisinde ezilmiş ve 0.2 g toz halindeki örnek Eppendorf tüplere alınmıştır. Her örnek için 65°C’de bekletilen ‘fresh buffer solution’dan 1 ml eklenmiş ve vortekste karıştırılmıştır. Örnekler 65 °C’de 1 saat inkübasyona bırakılmış ve her 20 dakikada bir yavaşça alt üst yapılmıştır. İnkübasyondan alınan örnekler 5 dakika buz içerisinde bekletilmiştir. Üzerine 1 ml kloroform:izoamilalkol (24:1) karışımı ilave edilmiş ve 30 dakika yatay çalkalayıcıda karışması sağlanmıştır. 10000 rpm’de 20 dakika santrifüj yapılan örneklerin üst fazı yeni tüplere aktarılmış ve üzerine aynı miktarda -20 °C’de bulunan soğuk isopropanol eklenmiştir. Pellet oluşumu görülünceye kadar yavaşça alt üst yapılmıştır. 10000 rpm’de 30 dakika santrifüj yapılmış ve dibe çöken pellet düşmeyecek şekilde üst faz (supernatant) uzaklaştırılmıştır. Pellet üzerine 2 ml % 70’lik etanol ilave edilerek yıkama yapılmıştır. Etanol uzaklaştırıldıktan sonra pellet 250 µl TE (10 mM TrisHCl pH 8.0, 1 mM EDTA pH 8.0) ile çözündürülmüştür. DNA kalitesi %0.8’lik agaroz jelde kontrol edilmiştir. RNA’ların uzaklaştırılması için RNase ilave edilerek 37°C’de 1 saat inkübe edilmiş, daha sonra 15 dakika 70°C’de bekletilmiştir. DNA örnekleri çalışma süresince +4°C’de saklanmıştır.

Fresh buffer solution hazırlamak için gerekli solüsyonlar ve içerikleri

Extraction Buffer Stock

0.35 M sorbitol, 0.1 M TrisHCl pH 8.0, 5 mM EDTA pH 8.0 içermektedir.

500 ml hazırlamak için 31.9 g sorbitol, 50 ml 1 M TrisHCl pH 8.0, 5 ml 0.5 M EDTA pH 8.0 kullanılmaktadır.

Toplam hacim 500 ml’ye ultra pure H₂O ile tamamlanır.

Lysis Buffer Stock

0.2 M Tris HCl pH 8.0, 0.05 M EDTA pH 8.0, 2 M NaCl, % 2 CTAB içermektedir.

500 ml hazırlamak için 100 ml 1M Tri HCl pH 8.0, 50 ml 0.5 M EDTA pH 8.0, 200 ml 5 M NaCl, 10 g CTAB gereklidir.

Toplam hacim 500 ml'ye ultra pure H₂O ile tamamlanır.

Sarcosyl Stock % 5 (W/V)**Fresh Buffer Working Solution***

% 0.5 (w/v) sodiumdisulfite (= sodium metabisulfite),

% 2 (w/v) PVP-40 (K29-32) Sigma,

Extraction buffer stock, Lysis buffer stock ve sarcosyl stock içermektedir.

30 ml Fresh Buffer Working Solution hazırlamak için

0.15 g sodiumdisulfite (sodium metabisulfite) ve 0.6 g PVP-40 (K29-32) 12.5 ml extraction buffer stock ile çözdürüldükten sonra 12.5 ml Lysis buffer stock ve 5 ml sarcosyl stock ile karıştırılır.

*Fresh Buffer Working Solution kullanılmadan önce 65 °C'de bekletilmeli ve izolasyon sırasında iyice karıştırıldıktan sonra bekletilmeden hızlı bir şekilde kullanılmalıdır.

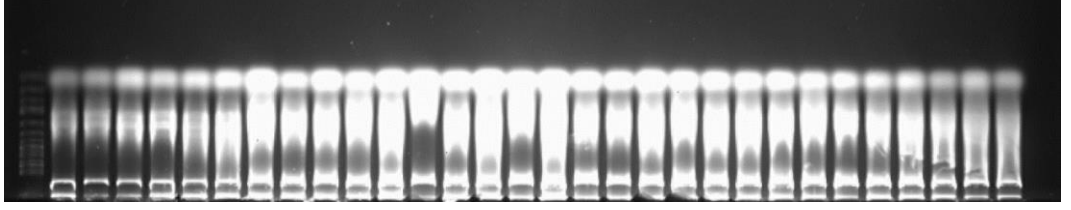
3.2.4. DNA saflığının belirlenmesi

Elde edilen DNA'nın saflığının belirlenmesi için TE buffer içerisinde çözdürülen örneklerden 2 µl alınmış, üzerine 8 µl UP su ve 2 µl brom fenol blue boyası eklenerek, 1x TAE tamponu içerisinde yer alan %1'lik agaroz jelle her örnekten 12 µl alınarak kuyulara yükleme yapılmıştır. İlk kuyucuğa 2 µl 1 kb boyutunda moleküler ağırlık markörü (DNA ladder, Fermentas GeneRuler™) yüklenmiştir. Elektroforez işlemi 60 volt uygulamasında 2 saat süre ile gerçekleştirilmiştir.

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra, jel boyama tankına alınarak, üzerine 300 µl UP su içerisine 15 µl etidyum bromid (EtBr) boyası eklenmiştir. Boyama tankı çalkalayıcı üzerine konularak 30 dakika boyunca beklenmiştir. Bu

esnada, EtBr'in ışıktan etkilenmemesi için boyama tankının üzeri kapatılmıştır. 30 dakika sonunda EtBr içeren çözelti jellerden uzaklaştırılmış ve jeller EtBr kalıntısını uzaklaştırmak için 5 dakika saf su ile çalkalanmıştır.

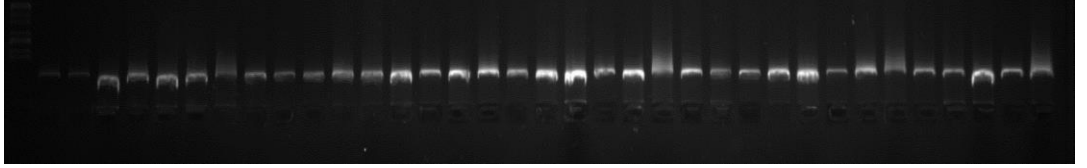
Boyama işlemi sonunda jeller G-box, SYNGENE jel görüntüleme sistemi kullanılarak ultraviyole ışık aracıyla görüntülenerek (Şekil 3.3) bilgisayara aktarılmıştır.



Şekil 3.3. Safılık analizi sonucunda elde edilen jel görüntüsü.

Safılık görüntüsü sonucunda örnek DNA'larında protein ve RNA kontaminasyonu tespit edildiğinden örneklerle proteinaz K ve RNaz ilave edilerek 1 saat süresince 37 °C'de inkübe edilmiş daha sonra 15 dakika 70 °C'de bekletilerek enzim inaktivasyonu sağlanmıştır.

Örnekler daha sonra %1'lik agaroz jele yüklenerek görüntülenmiş, protein ve RNA'ların uzaklaştırıldığı görülmüştür (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Proteinaz K ve RNaz uygulaması sonucunda elde edilen jel görüntüsü.

3.2.5. SSR markör analizi

SSR markör analizi için 94 genotipe ait DNA'lar, 20 ng/μl olacak şekilde seyreltilmiştir. SSR markör analizinde kullanılan kokteyl bileşen ve miktarları ile uygulanan sıcaklık döngüleri sırasıyla Çizelge 3.1 ve 3.2'de verilmektedir.

Çizelge 3.1. SSR markör analizinde kullanılan bileşenler ve miktarları.

Bileşen	Miktar (μl)
Buffer 5x	4.00 μl
MgCl ₂ (25 mM)	1.60 μl
dNTPs(25 mM)	0.16 μl
Primer F _{tail}	0.20 μl
Primer R	0.80 μl
M13 (10 mM)	0.80 μl
H ₂ O	7.40 μl
GoTaq polimeraz(5U/μl) (Promega, M830B)	0.04 μl

Çizelge 3.2. SSR markör analizinde uygulanan sıcaklık döngüleri ve süreleri.

Döngü	Sıcaklık	Süre
1	94°C	5 dakika
2	94°C	45 s
3	65°C -51°C (-0.5/s)	45 s
4	72°C	1 dakika
5	2'den başlayarak 4'e kadar olan basamaklar 20 kez tekrarlanır.	
6	94°C	45 s
7	T _{bağlanma} °C	45 s
8	72°C	1 dakika
9	6'dan başlayarak 8'e kadar olan basamaklar 24 kez tekrarlanır.	
10	72°C	5 dakika
11	+4°C	∞

SSR markör analizleri literatürden (Khadari et al., 2010; Harbi et al., 2012; Delgado-Martinez et al., 2012; Alba et al., 2009) tespit edilen 57 adet primerde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.3). Bu amaçla, forward primerlere ligaz enzimi sayesinde universal M13 primer baz dizisi (5'-CACGACGTTGTAAAACGAC-3') 5'-3' yönünde eklenmiş ve 700-800 nm işaretli M13 primerleri kullanılarak, poliakrilamid jel elektrofezinde her iki dalga boyunda görüntüleme yapılmıştır.

Çizelge 3.3. SSR markör analizinde kullanılan primerler.

No	Primer	5'-3'	Baz Dizilimi
1	ssrOeUA-DCA1	F	CCTCTGAAAATCTACACTCACATCC
		R	ATGAACAGAAAGAAGTGAACAATGC
2	ssrOeUA-DCA3	F	CCCAAGCGGAGGTGTATATTGTTAC
		R	TGCTTTTGTCTGTGTTTGAGATGTTG
3	ssrOeUA-DCA4	F	CTTAACCTTTGTGCTTCTCCATATCC
		R	AGTGACAAAAGCAAAAGACTAAAGC
4	ssrOeUA-DCA5	F	AACAAATCCCATACGAACTGCC
		R	CGTGTTGCTGTGAAGAAAATCG
5	ssrOeUA-DCA7	F	GGACATAAAACATAGAGTGCTGGGG
		R	AGGGTAGTCCAAGTCTAATAGACG
6	ssrOeUA-DCA8	F	ACAATTCAACCTCACCCCATACCC
		R	TCACGTCAACTGTGCCACTGAACTG
7	ssrOeUA-DCA9	F	AATCAAAGTCTTCCTTCTCATTTTCG
		R	GATCCTTCCAAAAGTATAACCTCTC
8	ssrOeUA-DCA10	F	CGTGACCACCTAAATCCGCCCC
		R	CTGTCCAGAGCTAAAGGTTTCG
9	ssrOeUA-DCA11	F	GATCAAACCTACTGCACGAGAGAG
		R	TTGTCTCAGTGAACCCTTAAACC
10	ssrOeUA-DCA13	F	GATCAGATTAATGAAGATTTGGG
		R	AACTGAACCTGTGTATCTTGCATCC
11	ssrOeUA-DCA14	F	AATTTTTTAATGCACATAATTTAC
		R	TTGAGGTCTCTATATCTCCAGGGG
12	ssrOeUA-DCA15	F	GATCTTGTCTGTATATCCACAC
		R	TATACCTTTTCCATCTTGACGC
13	ssrOeUA-DCA16	F	TTAGGTGGGATTCTGTAGATGGTTG
		R	TTTAGGTGAGTTCATAGAATTAGC
14	ssrOeUA-DCA17	F	GATCAAATTCTACCAAAAATATA
		R	TAATTTTTTGGCACGTAGTATTGG
15	ssrOeUA-DCA18	F	AAGAAAGAAAAAGGCAGAATTAAGC
		R	GTTTTCTGTCTCTACATAAGTGAC
16	EMO2	F	CTCGCACTTTAAATTCATATGGGTAGGT
		R	GCGTGCTTGGGTGCTTGTTTG
17	EMO-3	F	GGTGTAGCCCAAGCCCTTAT
		R	TGCATGACCGTGGTGTAAGT
18	EMO 90	F	CATCCGGATTTCCTTGCTTTT
		R	AGCCGAATGTAGCTTTGCATGT
19	EMO L	F	CTTTCCAATATGGGCTCTCG
		R	ATGGCACTTTACGGGAAAAA
20	GAPU11E17	F	CGCGTTACCATAACCTTAGCC
		R	TTGAATCTGACGTGGATGGA
21	GAPU14	F	CACGCCAAGTCACTTTTCAA
		R	CCCAGTAGCATGTTGTGAGC
22	GAPU19	F	GATCAGTGTACTACGGTTC
		R	TCTGTCACAACTGCGGTA
23	GAPU45	F	ATCGGGAGGGATGTGATGTA
		R	CATCGCATCGCCTGTAAATA
24	GAPU59	F	CCCTGCTTTGGTCTTGCTAA
		R	CAAAGGTGCACTTTCTCTCG
25	GAPU62	F	GATCACGAATCCCCAAATAA
		R	TGCGTTCCTGTATAATTGCATC
26	GAPU71A	F	GATCATTTAAAAATATTAGAGAGAGAGA
		R	TCCATCCATGCTGAACTT
27	GAPU71B	F	GATCAAAGGAAGAAGGGGATAAA
		R	ACAACAAATCCGTACGCTTG
28	GAPU72	F	GAGGCTTTTTAATCCGAGCA
		R	AAAAAGAGGGGAGGAGAGAG

Çizelge 3.3.'ün devamı . SSR markör analizinde kullanılan primerler.

29	GAPU82	F	TGAATCAACCCGTCATAAAGG
		R	TGCTATTTGCACATCATTTGTT
30	GAPU89	F	GATCATTCCACACACGAGAG
		R	AACACATGCCCACAACTGA
31	GAPU90	F	GCTGAGCAGCGAAAAATGAT
		R	GCGACATATCTCTATGAGCAAGAA
32	GAPU92	F	ATTGAGCGGCTCCTCAGTTA
		R	TGCAACAAGCTATAACGCAAA
33	GAPU101	F	CATGAAAGGAGGGGGACATA
		R	GGCACTTGTTGTGCAGATTG
34	GAPU103A	F	TGAATTTAACTTTAAACCCACACA
		R	GCATCGCTCGATTTTATCC
35	GAPU108	F	GATCCTTAGAGGATTCAATGAGAA
		R	GCAAGTCCACCATCTTCAGAC
36	IAS-oli 11	F	TGCACGTGTCCAAAA TCTTTT CAAGGC
		R	TCC ATA TTT CTC CAC ACC AAA AGT TAT GCG
37	IAS -oli 12	F	TAG CTA CAA GCA ATG ACG CTT
		R	TTT GTA ATC CCT CTC CCT CAT
38	IAS -oli 17	F	TTA GAT AAA AAG GGA GCA TGG CTG A
		R	CAA ATA TAT GAG AAA ACA GTA CAC AGG AAC
39	IAS -oli 22	F	CAA GAA GAG AGA GAA AAT GAG AGC CCC CAT
		R	TCC GAC TTA TGA GCT GTT TTT TCT TTG GAA
40	IAS -oli 23	F	CCCCCATGTTTTTAATTCAATGAAAAATTAAGTGG
		R	ACCACCACCGGTCTGGAAGGGATG
41	IAS -oli 26	F	TCGGAGAGTTGCTACAGAACA
		R	CCCTTCCAAGTCGAGCAATAAA
42	IAS -oli 28a	F	CGGAATGCACGTTGTTGAAATATTCGAC
		R	CCACCTCGAAGCTATAATATTTGTGATTGGA
43	ME30MS	F	CGCACGTTCTTTCTATTG
		R	GACCGGCTGACTATTTTCTC
44	UDO99-006	F	TCAGTTTGTGTCCTTTAGTGGA
		R	TTGTAATATGCCATGTAACCTCGAT
45	UDO99-007	F	TGTGTTCTTTATTTGAAGGAATCTT
		R	TCGCTTTTGTGTTACATATTG
46	UDO99-008	F	AAAAACACAACCCGTGCAAT
		R	AAATTCCTCCAAGCCGATCT
47	UDO99-009	F	TTGATTTACATTGCTGACCA
		R	CATAGGGAAGAGCTGCAAGG
48	UDO99-011	F	TGACTCCCTTTAAACTCARCAGG
		R	TGCGCATGTAGATGTGAATATG
49	UDO99-012	F	TCACCATTCTTAACTTCACACCA
		R	TCAAGCAATTCCACGCTATG
50	UDO99-019	F	TCCCTTGTAGCCTCGTCTTG
		R	GGCCTGATCATCGATACCTC
51	UDO99-024	F	GGATTTATTAAAAGCAAAACATACAAA
		R	AATAACAAATGAGCATGATAAGACA
52	UDO99-031	F	TATCCTCTATGTGGCGATG
		R	TTGGTTAAAAGGATTGATACA
53	UDO99-035	F	AATTTAATGGTCACACACAC
		R	ATTGCGAAATAGATCTACGA
54	UDO99-039	F	AATTACCATGGGCAGAG
		R	CAAAAGCTCCATTATTGT
55	UDO99-043	F	TCGGCTTTACAACCCAT
		R	CAATTATGGGGCTAACT
56	PA (ATT) 2	F	CACCTCCCGGTTAACAAGAA
		R	TGACGCGGTTATTTTGTGAA
57	PA (GA) 2	F	AAGGAAGATGGGTCTTTGGG
		R	ATTCAGCTCCTCCACCTTCA

3.2.5.1. Jel elektroforezi ve jellerin görüntülenmesi

Amplifikasyon ürünleri, Li-Cor 4300s DNA Analyzer cihazı kullanılarak bilgisayarda eş zamanlı olarak görüntülenmiştir. Poliakrilamid jel elektroforezi için %8'lik akrilamid kullanılmıştır.

3.2.6. DArT (Diversity Arrays Technology)-SNP markör analizi

DArT-SNP markör analizleri için Dominguez-Garcia et al., (2012) literatürü takip edilmiştir. Bu amaçla izole edilen DNA'lar 50 ng/μl konsantrasyonda olacak şekilde Diversity Arrays Technology şirketine (Avustralya) gönderilmiş ve analizler burada gerçekleştirilmiştir.

DArT sistemi temel olarak 3 adımdan oluşmaktadır. Şekil 3.5'de bu aşamalar gösterilmiştir. Şekil 3.5 incelendiğinde DArT-SNP markör tekniğinin,

1-Dizilerin oluşturulması

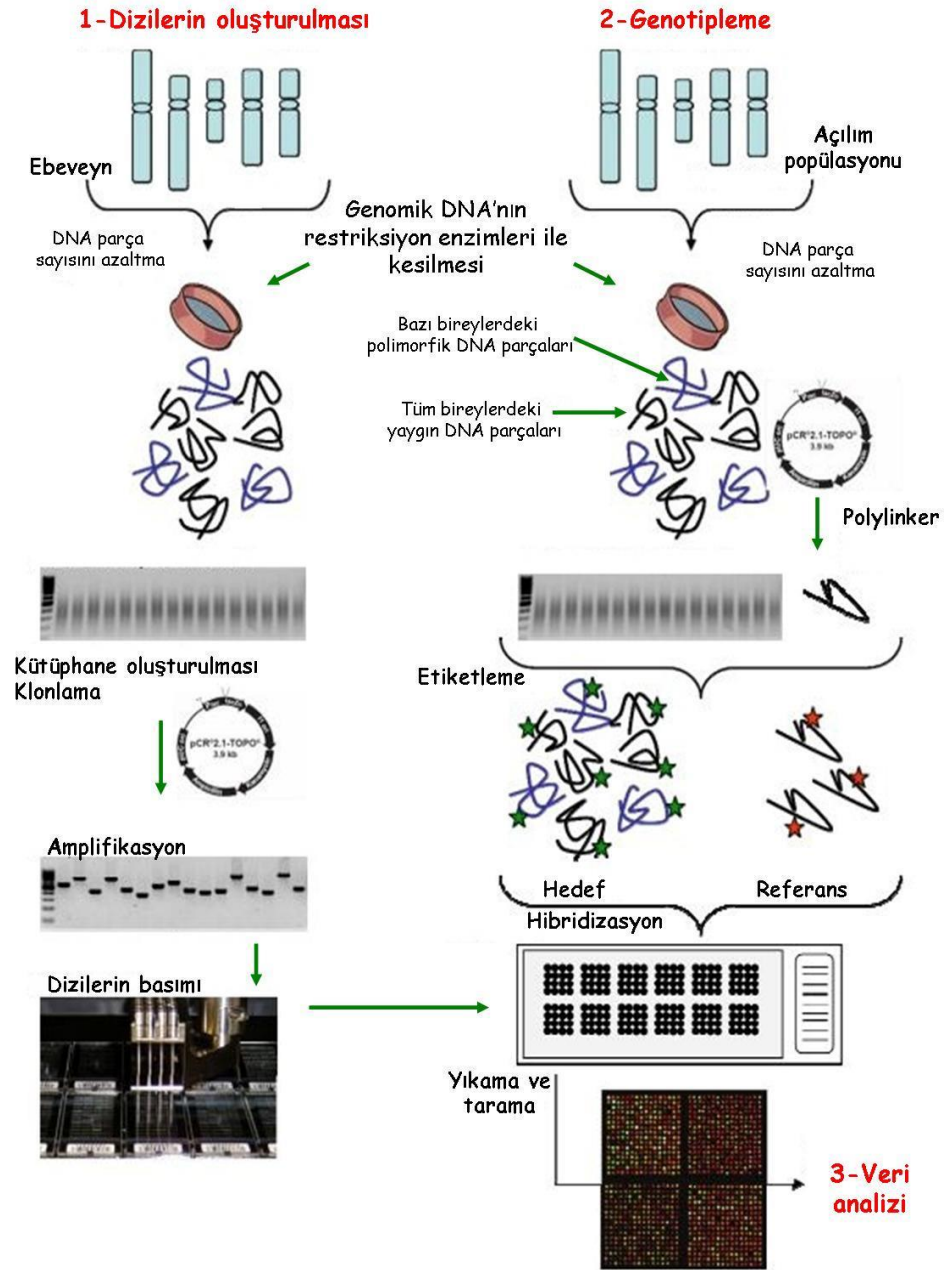
- Gen kütüphanelerinin oluşturulması
- Gen çipi (mikroarray) olarak genomik kütüphanenin hazırlanması

2-Genotipleme

- Tarama yapılacak genotiplere ait genomik parçaların etiketlenmesi
- Hedef bölgeler ile gen çiplerinin hibridizasyonu
- Slaytların yıkanması ve taranması

3-Veri analizi

- Gen çiplerinin çıkarılması ve polimorfizmin belirlenmesi
- Verilerin kullanım amacına uygun değerlendirilmesi gibi aşamalardan oluştuğu görülmektedir.



Şekil 3.5. DArT-SNP markör sistemi adımları.

3.2.7. QTL analizi için meyve olgunlaşma süresinin saptanması

Meyve olgunlaşma süresinin belirlenmesinde tam çiçeklenmeden (ağaçtaki toplam çiçeğin yaklaşık % 80'ninin açtığı dönem, Arsel vd., 2001) olgunluk indeks değerinin 4 olduğu döneme kadar geçen gün sayısı temel alınmıştır. Zeytin meyvelerinin olgunlaşma dönemi meyve olgunluk indeksi yönteminde belirtilen gruplara göre yapılmıştır (Boskou, 1996).

Buna göre;

- 0: Kabuk rengi koyu yeşil olan zeytinler.
- 1: Kabuk rengi sarı veya sarımsı olan zeytinler.
- 2: Kabuk rengi kırmızımsı lekeli sarımsı olan zeytinler.
- 3: Kabuk rengi kırmızımsı veya açık menekşe olan zeytinler .
- 4: Kabuk rengi siyah ve meyve eti tamamen yeşil olan zeytinler.**
- 5: Kabuk rengi siyah ve meyve eti kalınlığının yarısına kadar menekşe olan zeytinler.
- 6: Kabuk rengi siyah ve meyve eti hemen hemen çekirdeğe kadar menekşe olan zeytinler.
- 7: Kabuk rengi siyah ve meyve eti tamamıyla koyu renk olan zeytinler.

3.2.8. Verilerin değerlendirilmesi

SSR ve DArT-SNP markör analizleri neticesinde elde edilen veriler Çizelge 3.4'e göre skorlanmışlardır. Haritalamada kullanılacak veriler için uygun segregasyon (Cross Pollinator-CP) gösteren markörler SSR analizinde 5, DArT-SNP analizinde 2 farklı biçimde değerlendirilmiştir. Buna göre SSR için ab x cd (1:1:1:1), ef x eg (1:1:1:1), hk x hk (1:2:1), lm x ll (1:1) ve nn x np (1:1); DArT-SNP için ise lm x ll (1:1) ve nn x np (1:1) açılımı gösteren markörler haritalamada kullanılmıştır.

Çizelge.3.4. Cross Pollinator (CP) populasyonunda beklenen açılımlar.

Açıklama	Beklenen açılım	Toplam allel	Yöntem
Ebeveynlerin her ikisi heterozigot (Farklı allellere sahip)	ab x cd ac, ad, bc, bd (1:1:1:1)	4	SSR
Ebeveynlerin her ikisi heterozigot (Bir allel ortak)	ef x eg ee, eg, f g (1:1:1:1)	3	
Ebeveynlerin her ikisi heterozigot (Her iki allel de ortak)	hk x hk hh, hk, kk (1:2:1)	2	
Ebeveynlerden biri heterozigot (Bir allel ortak)	lm x ll lm, ll (1:1)	2	
Ebeveynlerden biri heterozigot (Bir allel ortak)	nn x np nn, np (1:1)	2	
Sadece ana ebeveynde açılım	lm x ll lm, ll (1:1)	2	DArT (SNP)
Sadece baba ebeveynde açılım	nn x np nn,np (1:1)	2	

3.2.9. Linkage gruplarının oluşturulması ve QTL haritalama

Linkage haritasının oluşturulmasında JOINMAP 4.0 (Kyasma, NL) yazılımı kullanılmış ve double pseudo-testcross haritalama stratejisi esas alınmıştır. Bu stratejiye göre yapılan linkage gruplandırma, ana ve baba için ayrı ayrı linkage haritalaması yapılmıştır. Herhangi iki markör arasındaki genetik bağılılığı (linkage) belirlemede LOD = 5 skoru kabul edilmiştir. Bağlantı haritasında markörlerin genom boyunca kapladıkları alan ve birbirine olan uzaklıkları santi-Morgan (cM) olarak belirlenmiştir. Bu linkage gruplarında bulunan kantitatif karakter lokusları (Quantitative Trait Loci; QTL) MapQTL 6 (Van Ooijen 2009) programına göre iki ürün yılında belirlenmiştir. LOD değeri 2 ve üzerinde olan lokuslar QTL olarak değerlendirilmiştir (İpek vd., 2008).

4. BULGULAR

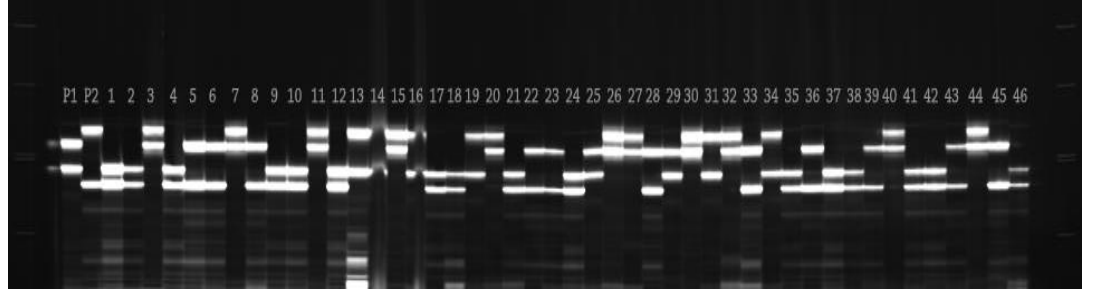
4.1. SSR Markör Analizi

Projede toplam 57 SSR primeri kullanılmıştır. Bunlardan 5'i her iki ebeveynde de amplifikasyon göstermemiştir. 14 primer ise her iki ebeveynde ve F₁ melez bireylerde aynı bant desenini oluşturmuş yani polimorfizm bulunamamıştır. Açılım popülasyonunda toplamda 38 primer polimorfik bant oluşturmuştur. Haritalama için uygun segregasyon (Cross Pollinator-CP) gösteren primer sayısı ise 17 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

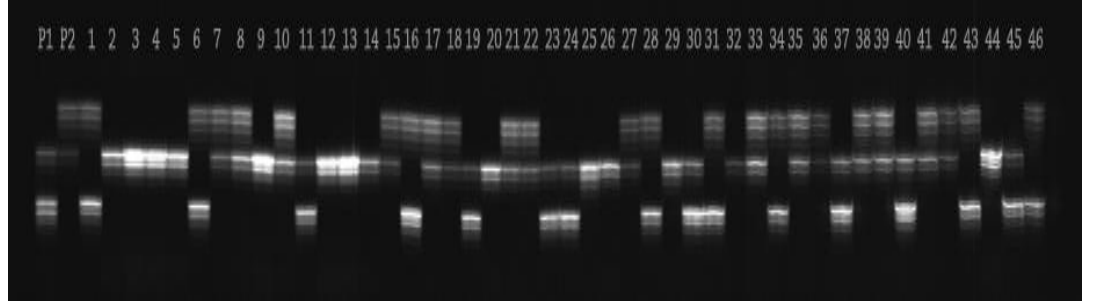
Her iki ebeveynde de heterozigot bir yapı gösteren ve toplam dört allel oluşturan 4 primer abxcd olarak kodlanmıştır (Şekil 4.1). Dokuz primer ana ve baba ebeveynlerde ortak bir bant oluşturarak heterozigot yapı göstermişler ve toplamda 3 allel vererek efxeg şeklinde kodlanmışlardır (Şekil 4.2). İki primer her iki ebeveynde aynı bant profilini göstererek hkxhk olarak kodlanmıştır (Şekil 4.3). Ebeveynlerden birinin homozigot olması durumu ise nnxnp (2 primer) olarak kodlanmıştır (Şekil 4.4).

Çizelge 4.1. CP açılımı gösteren SSR primerlerine ait örnek skorlama şekli.

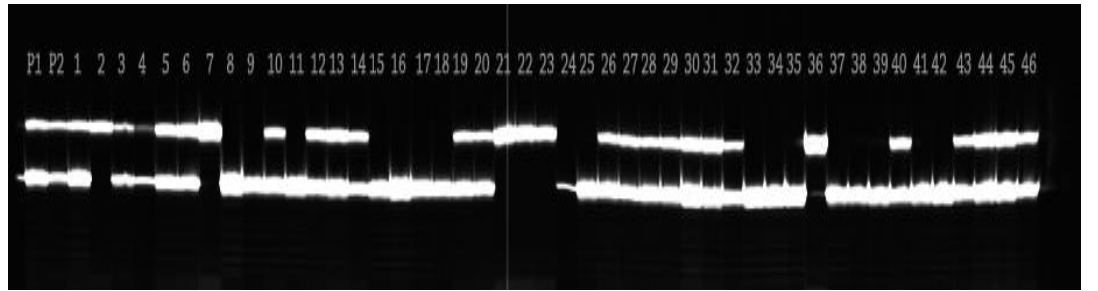
Primer	P ₁	P ₂	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇
Gapu89	ab	cd	bd	bd	ac	bd	ad	ad	ac
Gapu101	ab	cd	bd	bc	ad	bc	bc	bd	ac
Gapu103A	ab	cd	ad	ac	bd	bc	bc	ad	bc
PA (ATT) 2	ab	cd	bd	bd	ac	ac	ad	bd	ad
ssrOeUA-DCA8	ef	eg	fg	ef	eg	ef	ee	fg	ef
ssrOeUA-DCA18	ef	eg	fg	ef	ef	ee	ef	fg	ef
Gapu59	ef	eg	fg	ee	ef	ef	eg	fg	fg
Gapu71B	ef	eg	eg	fg	ee	ef	ef	ee	ef
UDO99-008	ef	eg	fg	ee	ee	ee	ee	fg	eg
UDO99-011	ef	eg	fg	ee	eg	eg	ee	ee	eg
EMO 90	ef	eg	fg	ef	fg	ef	ef	fg	ee
IAS -oli 17	ef	eg	ee	ee	ee	eg	eg	fg	ef
IAS -oli 23	ef	eg	fg	fg	eg	fg	eg	eg	ee
ssrOeUA-DCA15	hk	hk	hk	hh	hk	hk	hk	hk	hh
UDO99-009	hk	hk	hk	hk	hh	hk	hk	hk	hh
UDO99-012	nn	np	np	nn	np	nn	nn	np	nn
Gapu71A	nn	np	nn	np	nn	np	np	np	np



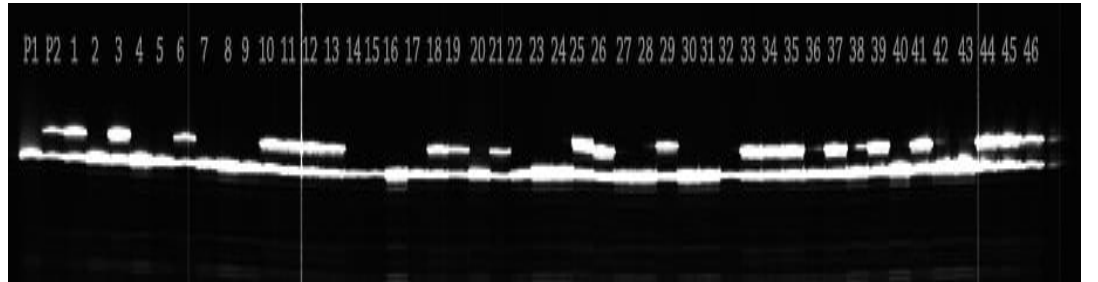
Şekil 4.1. Ebeveynlerin her ikisi de heterozigot (abxcd), Gapu89.



Şekil 4.2. Ebeveynlerin her ikisi heterozigot, bir allel ortak (efxeg), UDO99-008.



Şekil 4.3. Ebeveynlerde her iki allelde ortak (hkxhk), ssrOeUA-DCA15.



Şekil 4.4. Sadece baba ebeveynde açılım (nnxnp), UDO99-012.

4.2. DArT-SNP Markör Analizi

DArT-SNP markör analizleri neticesinde açılım popülasyonunda 22032 SNP belirlenmiştir. Veriler öncelikle 0 ve 1 olarak skorlanmıştır (Şekil 4.5). Belirlenen SNP bölgelerinin 14370'i eksik veri (missing data) ve açılım popülasyonunda polimorfizm göstermediği için haritalamadan çıkarılmıştır. Geriye kalan 7662 SNP markörde distortion analizi yapılmış ve normal dağılıma uymayan SNP'ler elenmişlerdir (Şekil 4.6). Haritalama çalışmasında sadece 1:1 oranında açılım gösteren SNP markörleri kullanılmış olup distortion gösteren 2501 SNP markörü haritalanacak verilerden çıkarıldıktan sonra 5161 SNP markörü linkage haritalamada kullanılmıştır. Bu markörler 1:1 açılıma uygun olarak lmxll ve nrxnp şeklinde skorlanmışlardır (Şekil 4.7).

*	*	*	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1
*	*	*	1	1	1	1	1	1	1
AlleleID	CloneIDnew.refseq	TrimmedSequ	genotype1	genotype2	genotype3	genotype4	genotype5	genotype6	genotype7
10026738	5E+06 TGCAGATTG CTGCAG		1	0	1	1	1	0	1
10026738	5E+06 TGCAGATTG CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10026187	5E+06 TGCAGCTTG CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10026187	5E+06 TGCAGTGAG CTGCAG		1	1	0	1	1	0	1
10027110	5E+06 TGCAGTCTC CTGCAG		1	1	0	1	1	1	1
10027110	5E+06 TGCAGTCTC CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10026260	5E+06 TGCAGTATT CTGCAG		1	1	1	1	1	0	1
10026260	5E+06 TGCAGTATT CTGCAG		1	1	1	1	0	1	1
10023301	5E+06 TGCAGGGCA CTGCAG		0	1	0	0	0	1	1
10023301	5E+06 TGCAGGGCA CTGCAG		1	0	1	1	1	0	1
10024130	5E+06 TGCAGTCAT CTGCAG		1	0	0	1	0	0	1
10024130	5E+06 TGCAGTCAT CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10024234	5E+06 TGCAGTATT CTGCAG		1	1	0	1	1	1	1
10024234	5E+06 TGCAGTATT CTGCAG		1	1	1	1	0	1	1
10025888	5E+06 TGCAGTTCC CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10025888	5E+06 TGCAGTTCC CTGCAG		1	1	1	0	1	1	1
10024364	5E+06 TGCAGAATC CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10024364	5E+06 TGCAGAATC CTGCAG		0	1	1	1	1	0	1
10023497	5E+06 TGCAGAAGA CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10023497	5E+06 TGCAGAAGA CTGCAG		1	1	0	0	0	1	1
10024684	5E+06 TGCAGTGTC CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10024684	5E+06 TGCAGTGTC CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10023188	5E+06 TGCAGTCAG CTGCAG		1	1	0	1	1	1	1
10023188	5E+06 TGCAGTCAG CTGCAG		1	1	1	1	0	1	1
10024102	5E+06 TGCAGCCTG CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10024102	5E+06 TGCAGCCTG CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1
10023301	5E+06 TGCAGGGCA CTGCAG		1	1	1	1	1	1	1

Şekil 4.5. DArT-SNP analizinden gelen 1 ve 0 olarak skorlanan veriler.

AlleleID	CloneIDnew	P1	P2	F1	F2	F3	F4	F5	F6
1002673E	5171719	1	0	1	1	1	0	1	1
1002330I	5171201	1	0	1	1	1	0	1	0
1002413C	5180809	1	0	0	1	0	0	1	0
1002342I	5186345	1	0	0	1	0	1	1	0
1002662Z	5180847	1	0	0	0	1	0	0	0
1002469Z	5182894	1	0	0	1	1	0	1	0
1002636Z	5172479	1	0	1	1	1	0	1	1
10021284	5161138	1	0	0	1	1	0	1	0
1001994Z	5181160	1	0	0	0	0	1	1	0
1002627E	5193502	1	0	1	1	1	1	1	1
1002673E	5183169	1	0	1	1	0	0	1	1
1002299E	5174173	1	0	0	1	0	0	1	1
1002403C	5176051	1	0	0	1	1	1	1	0
1002228I	5176090	1	0	0	1	1	1	1	0
1002465E	5186298	1	0	1	0	1	0	1	1
1002582E	5184270	1	0	1	1	1	1	1	1
10021704	5184364	1	0	0	0	0	0	1	1
1002139C	5179729	1	0	1	1	0	0	1	1
1002140E	5182092	1	0	0	0	1	0	0	1
1002354C	5186331	1	0	1	1	1	1	0	1
1002407E	5179880	1	0	1	0	1	0	1	1
1002407E	5173696	1	0	1	0	1	0	1	1

Şekil 4.6. Ebeveynlerde polimorfik olan SNP markörleri.

AlleleID	oneIDne	refseq	TrimmedSequence	SNP	P1	P2	F1	F2	F3
5 F 0-22:G>	5E+06	TTCTGTTCTCCGCGGTGCGATC	SNPoli2	nn	np	np	np	np	np
6 F 0-21:A>	5E+06	ATGAATAGCTGCACATGATAG	SNPoli3	nn	np	nn	nn	nn	nn
1522 F 0-1E	5E+06	ATTCTTTTATGGTATTTTATGT	SNPoli5	nn	np	np	nn	nn	nn
78 F 0-31:T>	5E+06	TAATACCATCACTTGTAAATACC	SNPoli6	nn	np	np	np	np	np
9 F 0-47:A>	5E+06	TGGTTGGGGTAAGTCCTGGT	SNPoli7	nn	np	np	np	nn	np
41 F 0-17:T>	5E+06	ATCCTTTATGCTATGCATTAC	SNPoli9	nn	np	np	np	np	np
31 F 0-23:C>	5E+06	CCTCGAGAACCGGTACCTCCTC	SNPoli10	nn	np	nn	nn	nn	nn
49 F 0-21:T>	5E+06	AGACCAGATTCGCTAGCAG	SNPoli11	nn	np	nn	np	np	np
77 F 0-15:C>	5E+06	CTTGATCTATTCGCCTTTTGTCT	SNPoli13	nn	np	np	np	nn	nn
8 F 0-23:G>	5E+06	TTAGCCAATGAATCAACATTAC	SNPoli15	nn	np	np	np	np	np
3 F 0-29:A>	5E+06	AATTGCACTAAATGATTGGA	SNPoli16	nn	np	nn	np	np	np
5 F 0-33:A>	5E+06	GAGAACACCTGGGGAGGAA	SNPoli17	nn	np	nn	np	np	np
6 F 0-25:G>	5E+06	AGCAAAATTTAGGTGATGAT	SNPoli18	nn	np	np	np	np	np
82 F 0-6:C>	5E+06	TGATCCAATGGCACCCATTTAT	SNPoli19	nn	np	np	np	np	np
44 F 0-19:C>	5E+06	ATTACAGATCCAAAAGCTACAA	SNPoli4998	lm	ll	lm	lm	lm	lm
8 F 0-66:C>	5E+06	ACTTGGACTGGACTTGGCTCA	SNPoli4999	lm	ll	lm	lm	ll	ll
8 F 0-35:A>	5E+06	AGAACACAATGGAGCTCGAG	SNPoli5000	lm	ll	lm	ll	lm	lm
5 F 0-63:A>	5E+06	CTCTCGGAGAACTCTCGGCTT	SNPoli5002	lm	ll	lm	lm	lm	lm
2 F 0-15:A>	5E+06	ATCGGAATGACTAGAGGCAAC	SNPoli5003	lm	ll	lm	lm	ll	ll
21 F 0-17:T>	5E+06	TTTTCTTTATATTGGGTGTTTTT	SNPoli5005	lm	ll	lm	lm	ll	ll
719 F 0-8:A>	5E+06	AAGAATGTGATGCAAGAAATG	SNPoli5006	lm	ll	lm	ll	lm	lm
5 F 0-16:G>	5E+06	ATTACAGAAAGGGGTTTTCGA	SNPoli5009	lm	ll	ll	lm	ll	ll
283 F 0-7:C>	5E+06	GAAAATAGGAAGAAATATTAT	SNPoli5010	lm	ll	lm	lm	lm	lm
8 F 0-48:G>	5E+06	AGCTATGAGTATGAGCTATGCTC	SNPoli5011	lm	ll	ll	ll	lm	lm
1 F 0-57:C>	5E+06	TCAATTTAGTCAACTCAATTTT	SNPoli5013	lm	ll	lm	lm	ll	ll
48 F 0-18:T>	5E+06	GTCTAGAGACTGTCTAGAGCC	SNPoli5014	lm	ll	ll	ll	lm	lm
70 F 0-63:T>	5E+06	TATTATAGAGTCAATTTATGTG	SNPoli5015	lm	ll	lm	lm	lm	lm
6 F 0-12:G>	5E+06	TCAATTTCTGATCAATTTGAT	SNPoli5017	lm	ll	ll	lm	lm	lm

Şekil 4.7. Haritalama için skorlamaları yapılmış SNP markörleri.

4.3. QTL Haritalama İçin Meyve Olgunlaşma Sürelerinin Belirlenmesi

Genotiplerin meyve olgunlaşma süreleri tam çiçeklenmeden meyve olgunluk indeksinin 4 olduğu döneme kadar geçen süre temel alınarak belirlenmiştir. Bu sürelere ilişkin veriler Çizelge 4.2’de izlenmektedir.

QTL lokuslarının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda açılım popülasyonunu oluşturan ebeveynlerin incelenecek özellik bakımından zıt karakterler göstermesi istenmektedir. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi 1. ve 2. yılda Memecik ile Uslu çeşitleri arasındaki meyve olgunlaşma süreleri bakımından yaklaşık 40 günlük bir fark oluşmuştur. Ayrıca, bazı melez bireylerin ebeveynlerden farklı davranarak daha erken ya da daha geç olgunlaşmaya başladığı görülmüştür. Çalışmanın 1. yılında 5, 2. yılında ise 4 F₁ birey geç olgunlaşan Memecik (ana) çeşidinden biraz daha uzun zamanda olgunluk indeksi 4 dönemine ulaşmışlardır. Erken olgunlaşma bakımından ise 1. yıl 11, 2. yıl 12 F₁ birey erken olgunlaşan Uslu (baba) çeşidinden daha önce olgunluk indeksi 4 dönemine girmişlerdir. F₈ nolu melez birey her iki yılda da en erken meyve olgunluğuna giren genotip olmuştur. F₂₆ nolu melez birey ise her iki yılda da en geç meyve olgunluğuna giren genotip olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.2. Genotiplerin tam çiçeklenmeden olgunluk indeksi 4 dönemine kadar geçen meyve olgunlaşma süreleri.

Genotip no	Olgunlaşma süresi (Gün)		Genotip no	Olgunlaşma süresi (Gün)		Genotip no	Olgunlaşma süresi (Gün)	
	1. yıl	2.yıl		1. yıl	2.yıl		1. yıl	2.yıl
P1	181	188	F31	147	158	F63	187	185
P2	141	150	F32	169	174	F64	169	175
F1	162	168	F33	177	184	F65	174	178
F2	166	171	F34	166	172	F66	169	168
F3	134	138	F35	162	162	F67	140	143
F4	157	157	F36	156	162	F68	156	156
F5	183	191	F37	162	171	F69	162	163
F6	178	179	F38	169	172	F70	164	171
F7	163	169	F39	163	169	F71	169	169
F8	130	135	F40	156	165	F72	163	164
F9	150	155	F41	162	164	F73	132	138
F10	166	170	F42	138	139	F74	169	176
F11	158	160	F43	156	158	F75	169	178
F12	154	153	F44	155	160	F76	163	170
F13	167	174	F45	157	156	F77	169	174
F14	162	171	F46	174	178	F78	162	161
F15	150	158	F47	147	158	F79	169	170
F16	156	156	F48	169	174	F80	145	153
F17	173	175	F49	150	156	F81	162	162
F18	171	176	F50	165	164	F82	152	153
F19	169	168	F51	140	144	F83	179	185
F20	140	150	F52	186	192	F84	176	178
F21	151	150	F53	145	151	F85	163	169
F22	165	171	F54	172	174	F86	143	148
F23	148	159	F55	176	176	F87	169	170
F24	136	140	F56	177	183	F88	169	178
F25	150	158	F57	156	160	F89	168	174
F26	186	193	F58	148	149	F90	179	184
F27	179	188	F59	175	185	F91	191	194
F28	137	148	F60	163	163	F92	162	163
F29	178	186	F61	180	178			
F30	140	143	F62	137	137			

4.4. Linkage (Bağlantı) Gruplarının Oluşturulması

Double pseudo-testcross haritalama strajesine göre yapılan linkage grupları hem Memecik çeşidi hem de Uslu çeşidi için ayrı ayrı oluşturulmuştur. Her iki çeşidin haritalanmasında 7700 markör kullanılmış olup bunların 2522'si beklenen açılıma uygun olmayarak distortion göstermişlerdir. Linkage haritalarının oluşturulmasında toplam 5178 markör kullanılmış ve veriler JOINMAP 4.0 (Kyasma, NL) haritalama programıyla değerlendirilmiştir. Buna göre, ebeveynlerde haritalanan markör sayısı 3903 olmuştur. 1275 markör ise hiçbir bağlantı grubunda yer almamıştır (Çizelge 4.3).

Haritalamada kullanılan 17 SSR marköründen 13'ü linkage gruplarında belirlenmiştir. Dört SSR primeri (Gapu71B, Gapu103A, ssrOeUA-DCA18, PA-ATT-2) ise hem ana hem de babaya ait haritada markör olarak yer almıştır.

Çizelge 4.3. Haritalama çalışmasında kullanılan markör sayıları.

Markör yöntemi	Polimorfik markör sayısı	Distortion gösteren markör sayısı	Bağlanmayan markör sayısı	Haritalanan markör sayısı
SNP	7662	2501	1271	3890
SSR	38	21	4	13
Toplam	7700	2522	1275	3903

4.4.1. Memecik (P1) çeşidinin linkage gruplarının oluşturulması

Memecik çeşidine ait linkage gruplandırmasından elde edilen veriler (Çizelge 4.4) incelendiğinde, zeytinin haploid kromozom sayısı olan 23 adet linkage grubunun (LG) elde edildiği görülmektedir. Linkage grupları 2063 SNP ve 8 SSR markörü olmak üzere toplam 2071 markör içermektedir. Memecik çeşidinde toplam LG harita uzunluğu 2921.9 cM olarak belirlenmiş ve iki markör arası ortalama mesafe 1.41 cM olmuştur.

Linkage haritalaması sonucunda elde edilen 23 gruba ilişkin açıklamalar aşağıda yer almaktadır.

LG1; bu grup 132.3 cM uzunluğunda olup genomun % 4.53'lük kısmını oluşturmuştur. Toplam 138 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 0.95 cM olarak saptanmıştır. Tüm gruplar arasında iki markör arası ortalama en küçük uzunluk bu grupta belirlenmiştir (Çizelge 4.4 – Şekil 4.8)

LG2; bu grup 162.6 cM uzunluğunda olup genomun % 5.56'lık kısmını oluşturmuştur. Toplam 142 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.14 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.8).

LG3; bu grup 117.5 cM uzunluğunda olup genomun % 4.02'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 119 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 0.99 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.9).

LG4; bu grup 96.1 cM uzunluğunda olup genomun % 3.29'luk kısmını oluşturmuştur. Toplam 88 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.09 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.9).

LG5; bu grup 68.0 cM uzunluğu ile en kısa grup olmuştur. Genomun % 2.33'lük kısmını oluşturmuştur. 60 SNP ve 1 SSR markörü (Gapu71B) olmak üzere toplam 61 markör içermektedir. İki markör arası ortalama mesafe 1.11 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.10).

LG6; bu grup 140.2 cM uzunluğunda olup genomun % 4.80'lik kısmını oluşturmuştur. 113 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.24 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.10).

LG7; bu grup 131.5 cM uzunluğunda olup genomun % 4.50'lik kısmını oluşturmuştur. 102 SNP ve 1 SSR markörü (IAS -oli 23) olmak üzere toplam 103 markör içermektedir. İki markör arası ortalama mesafe 1.28 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.11).

LG8; bu grup 112.1 cM uzunluğunda olup genomun % 3.34'lük kısmını oluşturmuştur. Toplam 73 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.53 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.11).

LG9; bu grup 133.6 cM uzunluğunda olup genomun % 4.57'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 64 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 2.08 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.12).

LG10; 23 linkage grubu içerisinde 240.0 cM mesafe ile en uzun grup olup genomun % 8.21'lik kısmını oluşturmuştur. 163 SNP ve 1 SSR markörü (PA - ATT2) olmak üzere toplam 164 markör içermektedir. İki markör arası ortalama mesafe 1.46 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.12).

LG11; bu grup 196.3 cM uzunluğunda olup genomun % 6.72'lik kısmını oluşturmuştur. En fazla SSR markörüne sahip gruptur. 136 SNP ve 4 SSR markörü ile (Emo90, Gapu101, ssrOeUA-DCA8 ve Gapu103A) toplam 140 markör içermektedir. İki markör arası ortalama mesafe 1.40 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.13).

LG12; bu grup 208.9 cM uzunluğunda olup genomun % 7.15'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 137 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.52 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.13).

LG13; bu grup 158.5 cM uzunluğunda olup genomun % 5.42'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 87 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.82 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.14).

LG14; bu grup 94.0 cM uzunluğunda olup genomun % 3.22'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 58 SNP markörü içeren gruptaki iki markör arası ortalama mesafe 1.62 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.14).

LG15; bu grup 143.6 cM uzunluğunda olup genomun % 4.91'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 98 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.46 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.15).

LG16; bu grup 98.2 cM uzunluğunda olup genomun % 3.36'lık kısmını oluşturmuştur. Toplam 60 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.64 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.15).

LG17; bu grup 118.7 cM uzunluğunda olup genomun % 4.06'lık kısmını oluşturmuştur. Toplam 70 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.69 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.16).

LG18; bu grup 141.8 cM uzunluğunda olup genomun % 4.85'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 105 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.35 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.16).

LG19; bu grup 77.8 cM uzunluğunda olup genomun % 2.66'lık kısmını oluşturmuştur. Toplam 45 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.73 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.17).

LG20; bu grup 89.2 cM uzunluğunda olup genomun % 3.05'lik kısmını oluşturmuştur. 41 SNP ve 1 SSR markörü (ssrOeUA-DCA18) olmak üzere toplam 42 markör içermektedir. İki markör arası ortalama mesafe 2.12 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.17).

LG21; bu grup 91.6 cM uzunluğunda olup genomun % 3.13'lük kısmını oluşturmuştur. Toplam 72 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.27 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.18).

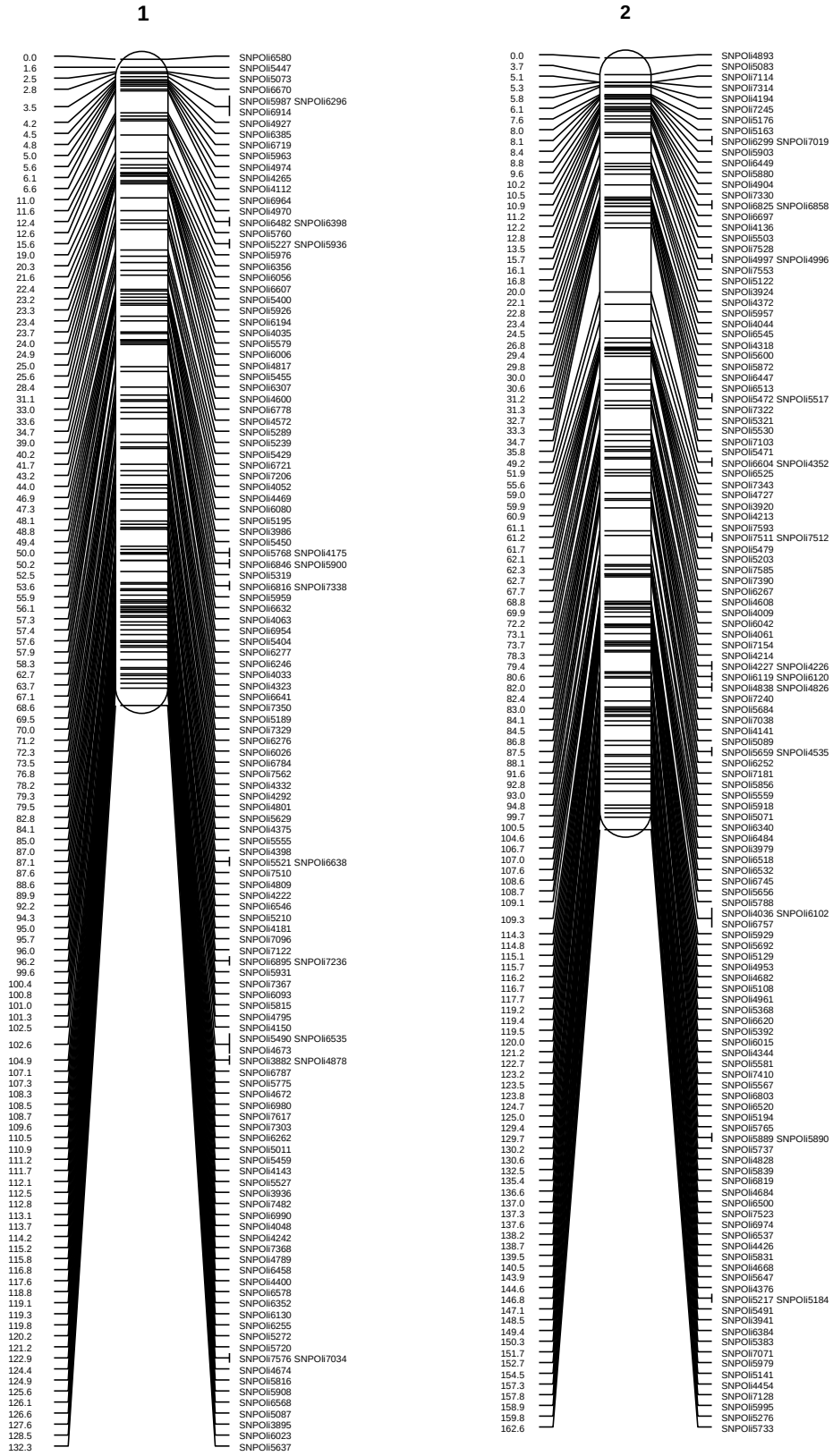
LG22; bu grup 96.6 cM uzunluğunda olup genomun % 3.31'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 66 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.46 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.4 – Şekil 4.18).

LG23; bu grup 72.8 cM uzunluğunda olup genomun % 2.49'luk kısmını oluşturmuştur. En az markör sayısına sahip grup olmuştur (26 SNP). Tüm markörler arasındaki en uzun mesafe (22.4 cM) SNPoli5661/SNPoli6556 markörleri arasında bu grupta yer almıştır. İki markör arası ortalama uzunluk bakımından ise 2.80 cM ile en fazla değere sahip olmuştur (Çizelge 4.4 – Şekil 4.18).

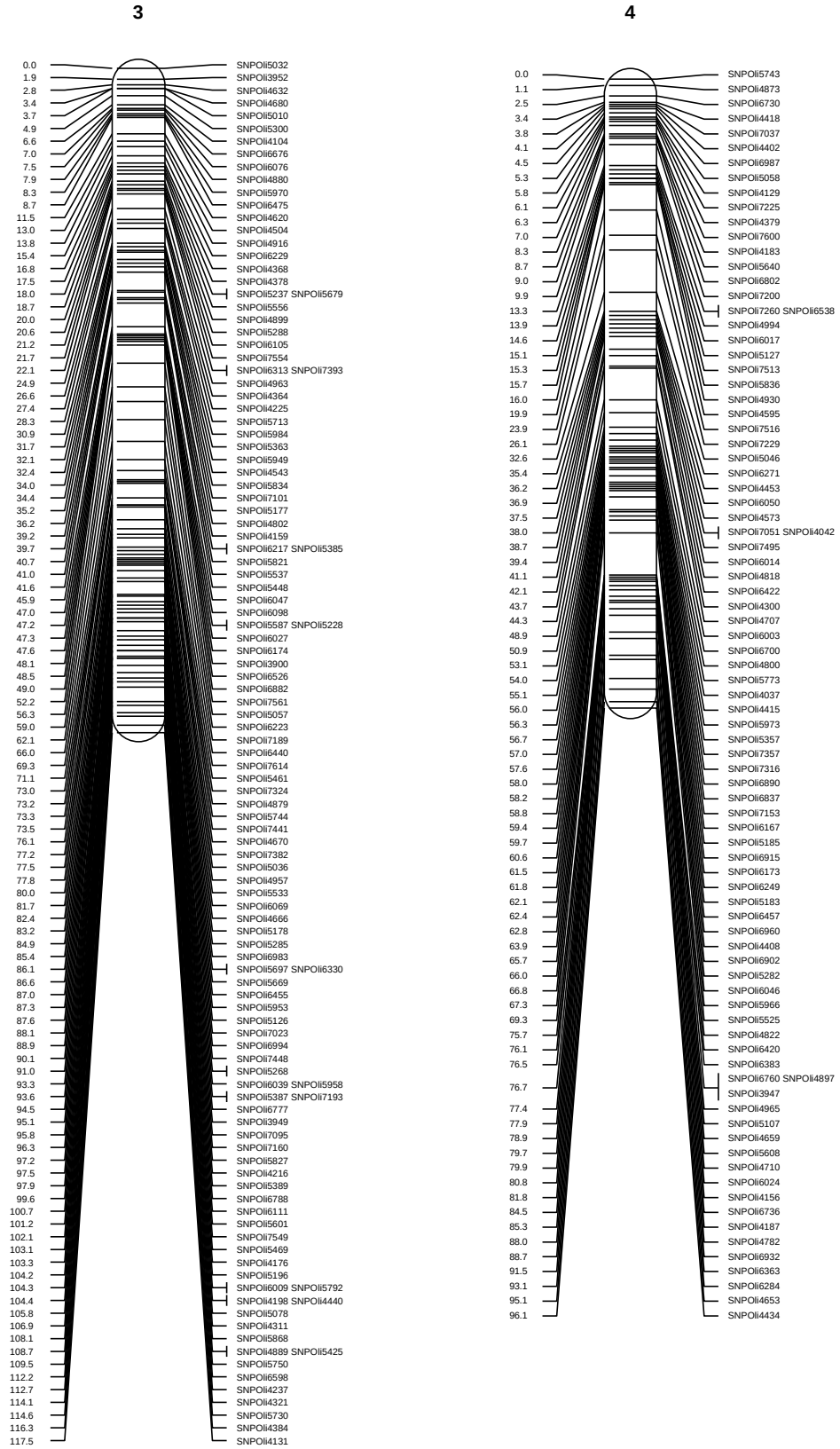
Çizelge 4.4. Memecik çeşidine ait linkage grupları.

Linkage grubu	SNP	SSR	Markör sayısı	Uzunluk (cM)	İki markör arası ortalama mesafe (cM)
LG1	138	-	138	132.3	0.95
LG2	142	-	142	162.6	1.14
LG3	119	-	119	117.5	0.99
LG4	88	-	88	96.1	1.09
LG5	60	1	61	68.0	1.11
LG6	113	-	113	140.2	1.24
LG7	102	1	103	131.5	1.28
LG8	73	-	73	112.1	1.53
LG9	64	-	64	133.6	2.08
LG10	163	1	164	240.0	1.46
LG11	136	4	140	196.3	1.40
LG12	137	-	137	208.9	1.52
LG13	87	-	87	158.5	1.82
LG14	58	-	58	94.0	1.62
LG15	98	-	98	143.6	1.46
LG16	60	-	60	98.2	1.64
LG17	70	-	70	118.7	1.69
LG18	105	-	105	141.8	1.35
LG19	45	-	45	77.8	1.73
LG20	41	1	42	89.2	2.12
LG21	72	-	72	91.6	1.27
LG22	66	-	66	96.6	1.46
LG23	26	-	26	72.8	2.80
Toplam	2063	8	2071	2921.9	Ortalama: 1.41

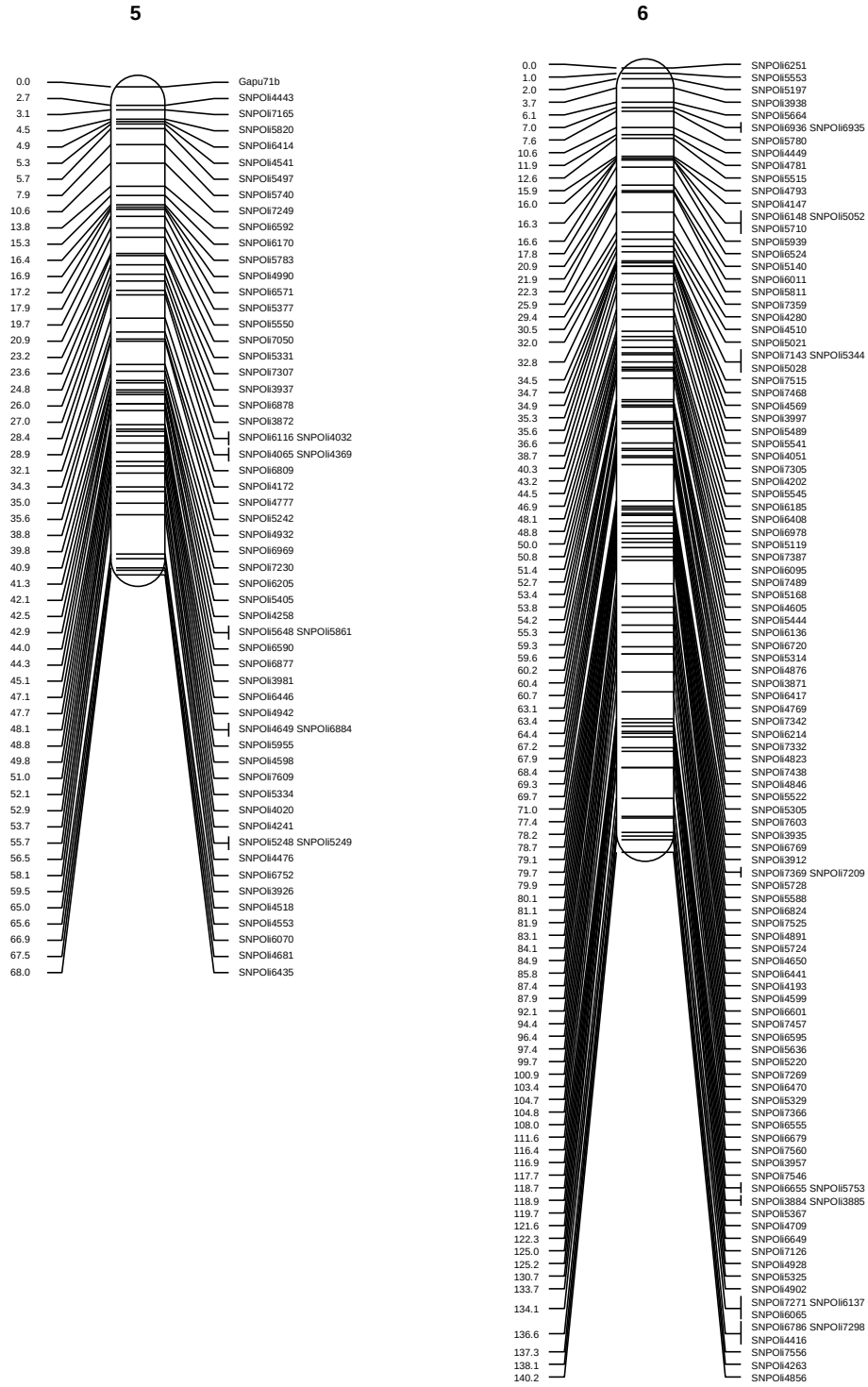
Memecik çeşidi linkage grupları



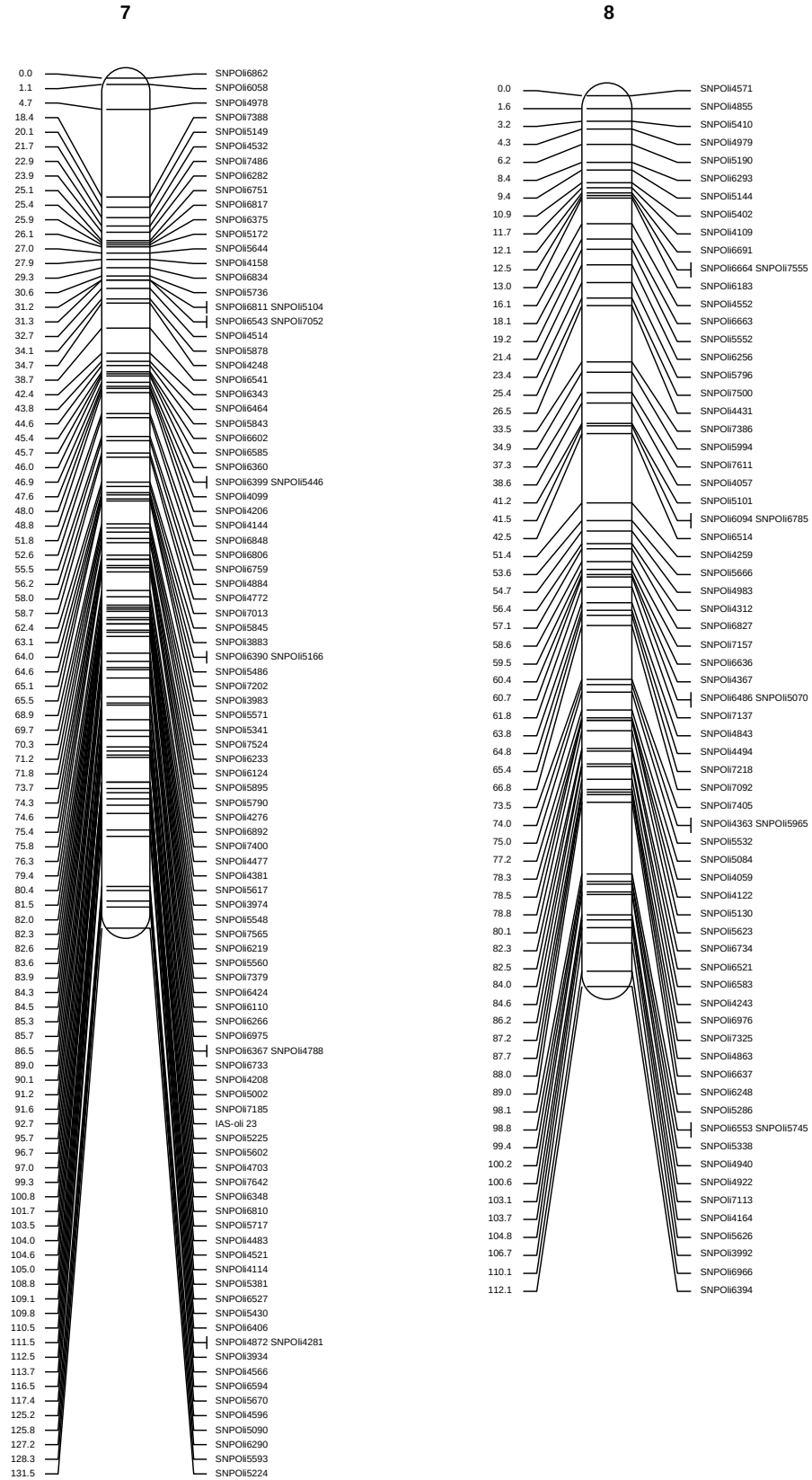
Şekil 4.8. Memecik çeşidinin 1. ve 2. linkage grubu.



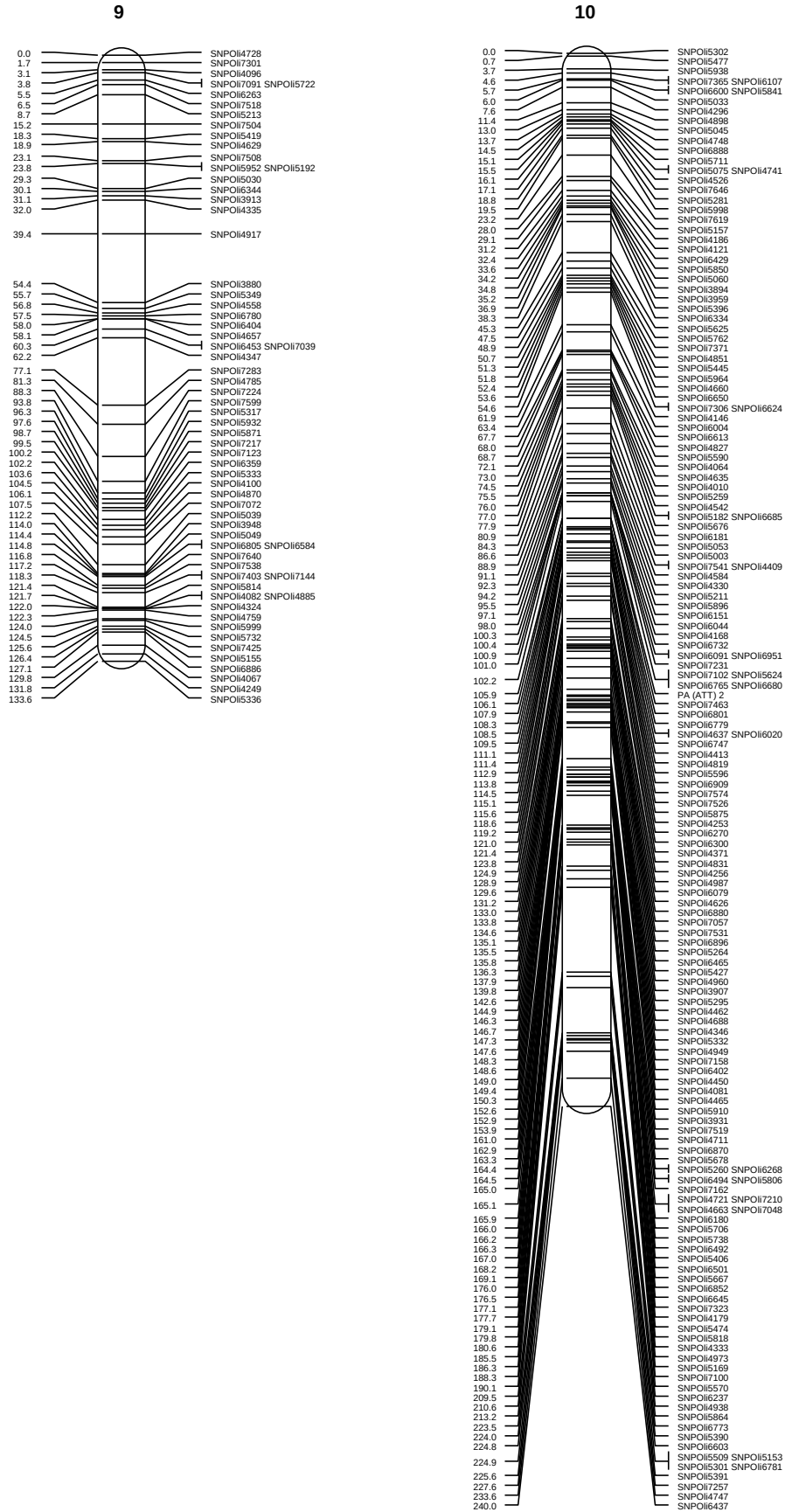
Şekil 4.9. Memecik çeşidinin 3. ve 4. linkage grubu.



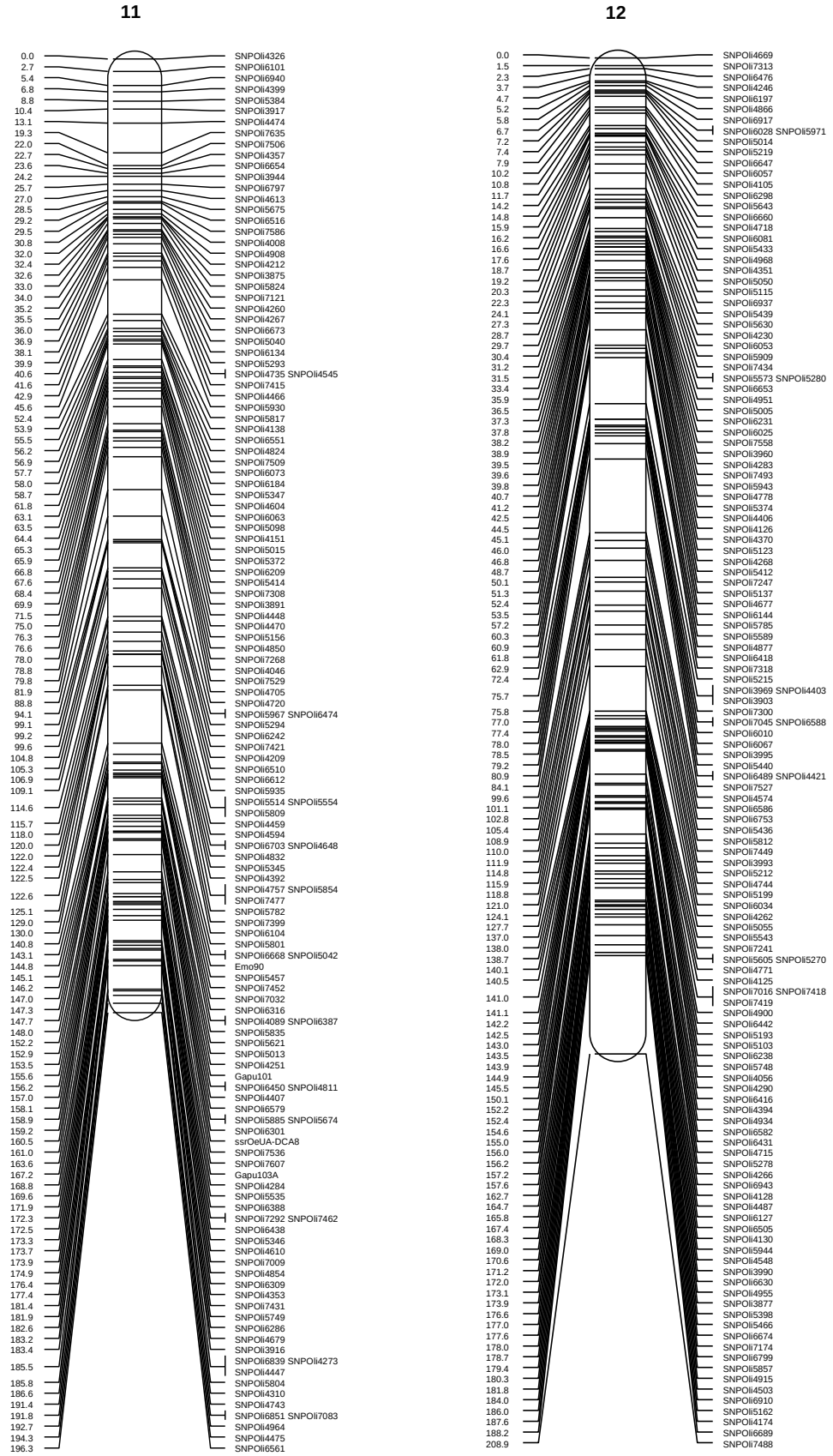
Şekil 4.10. Memecik çeşidinin 5. ve 6. linkage grubu.



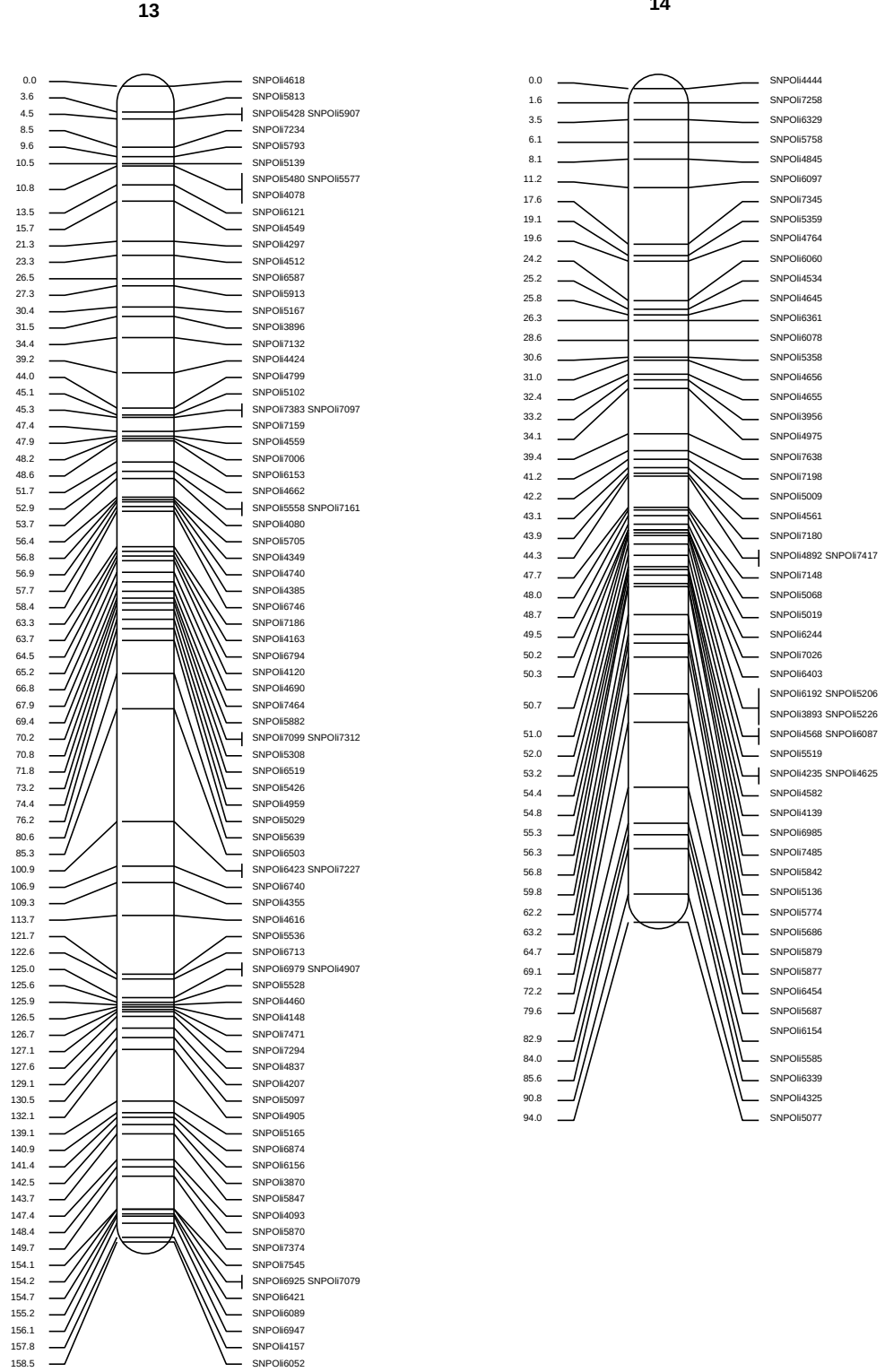
Şekil 4.11. Memecik çeşidinin 7. ve 8. linkage grubu.



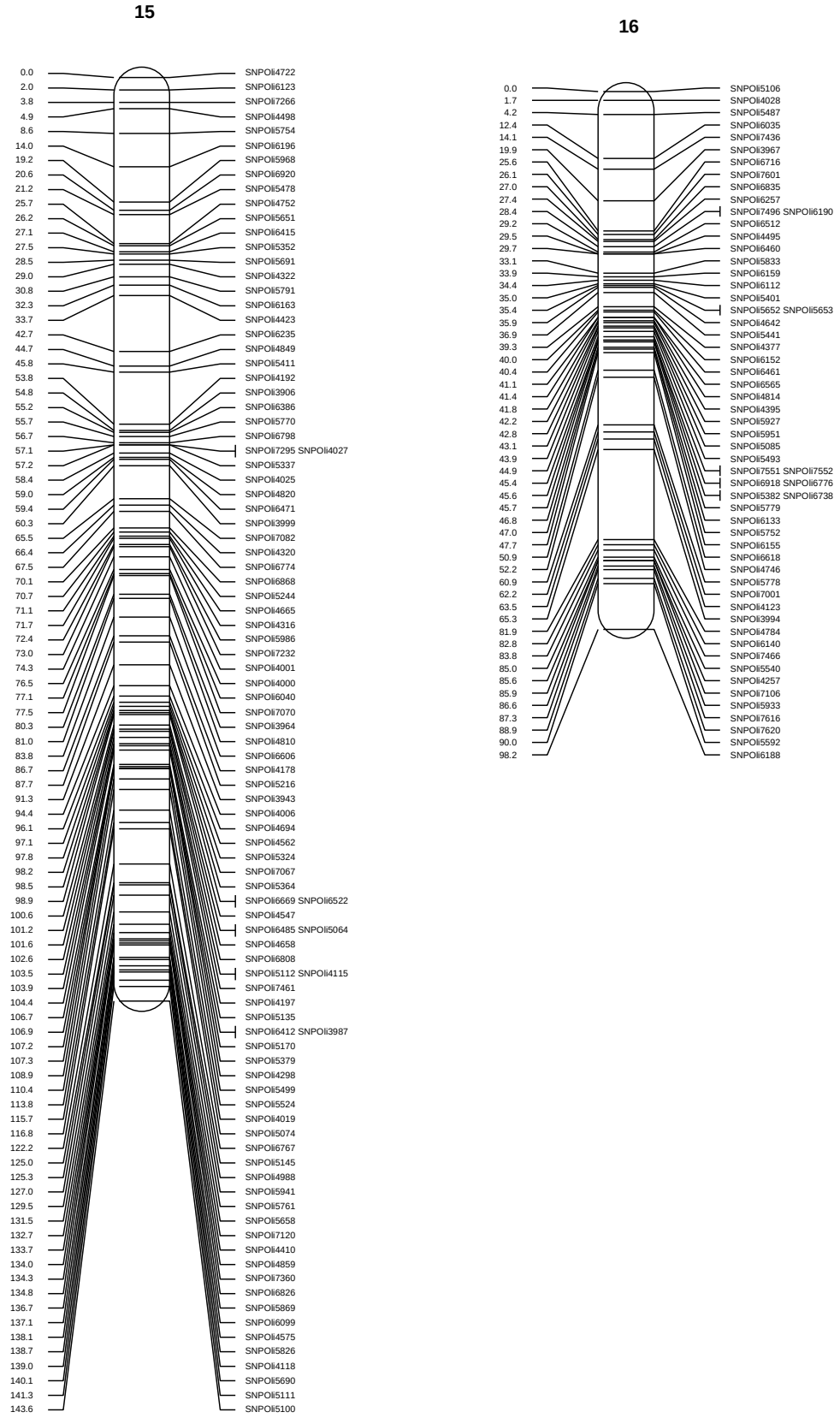
Şekil 4.12. Memecik çeşidinin 9. ve 10. linkage grubu.



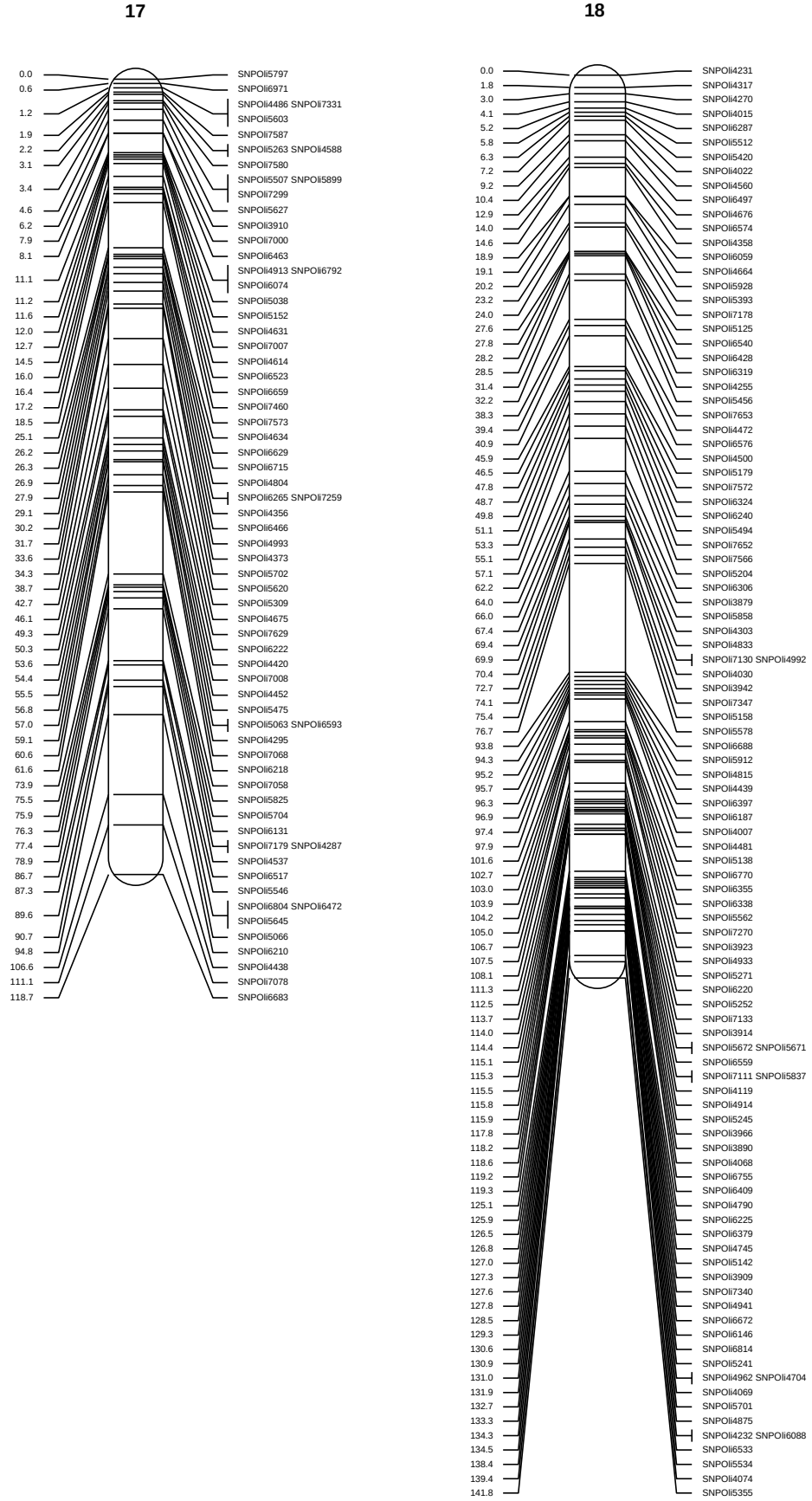
Şekil 4.13. Memecik çeşidinin 11. ve 12. linkage grubu.



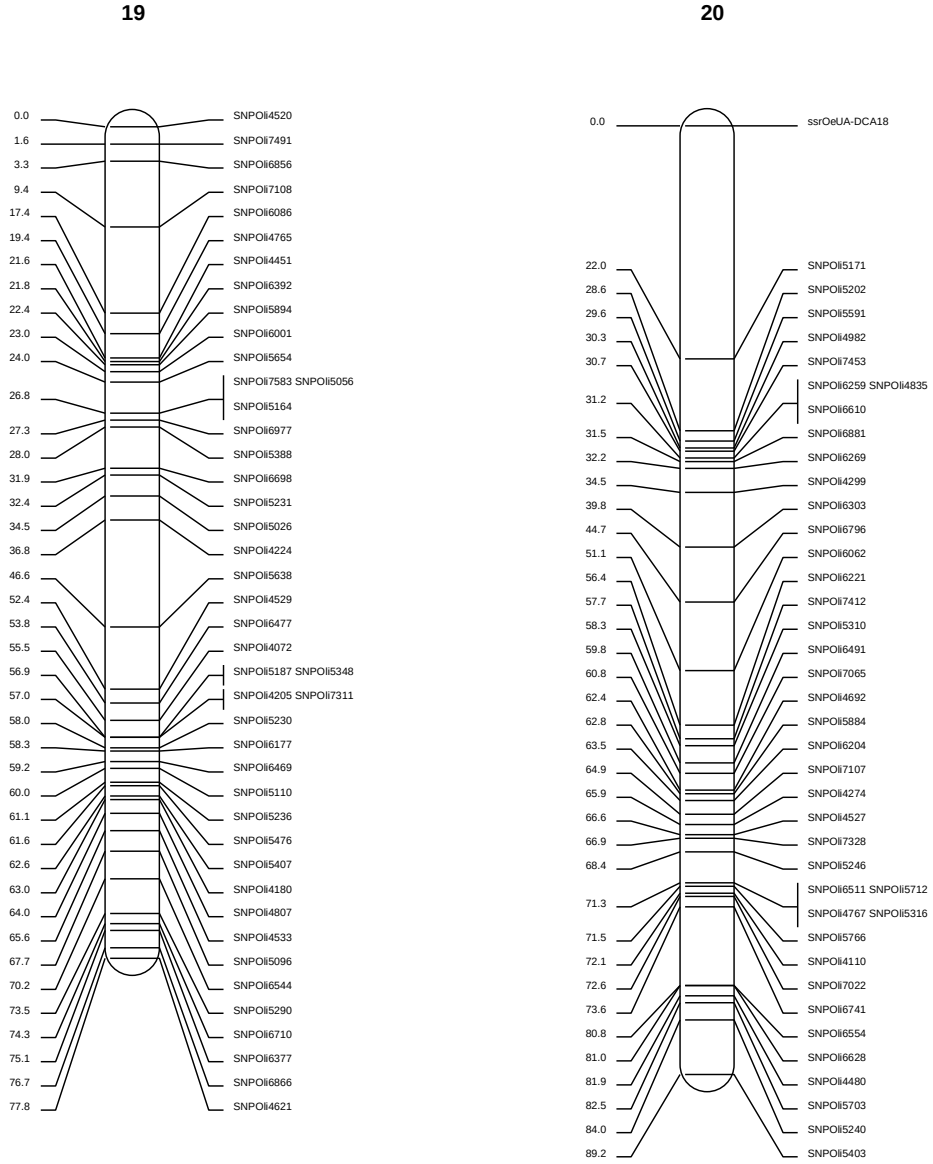
Şekil 4.14. Memecik çeşidinin 13. ve 14. linkage grubu.



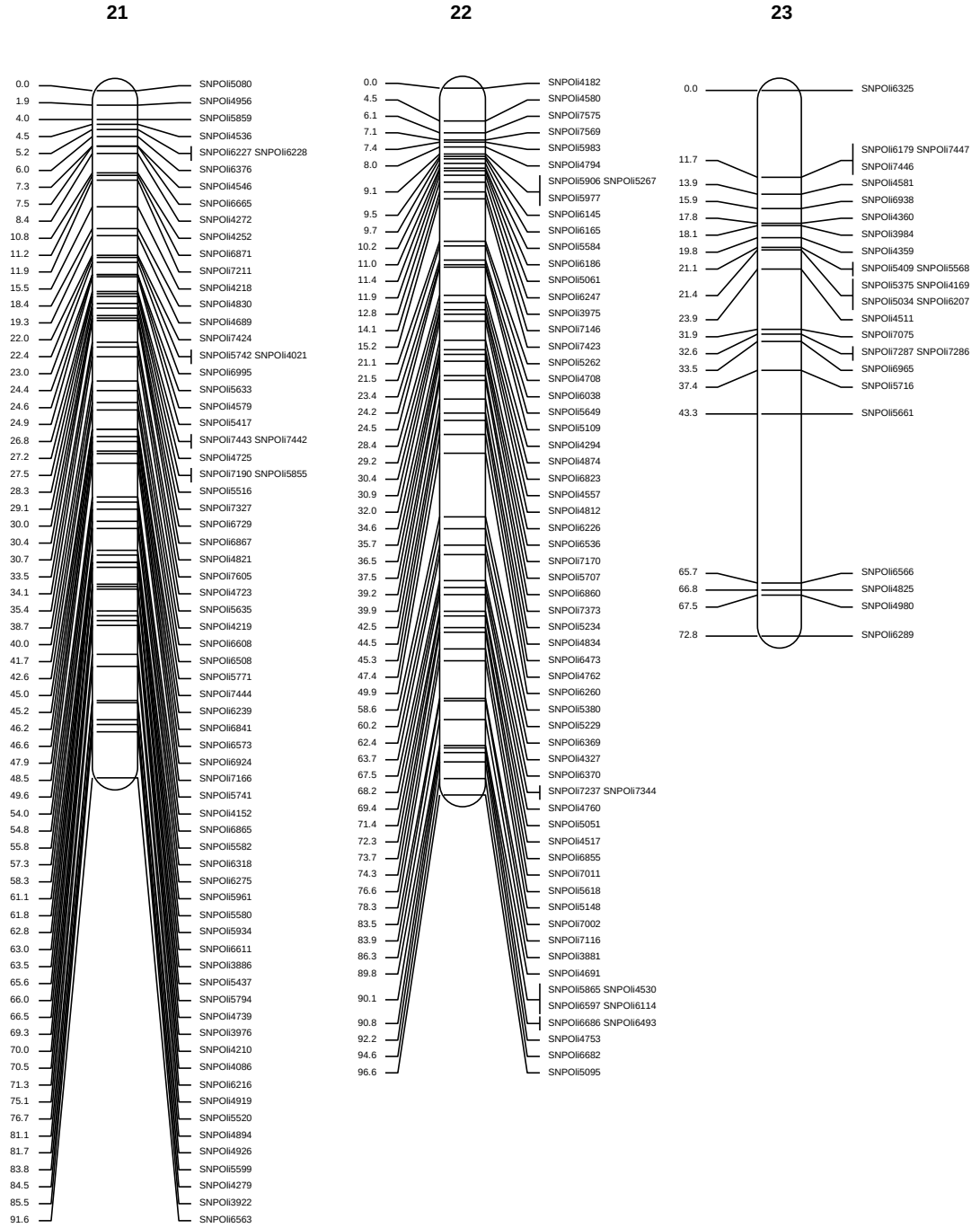
Şekil 4.15. Memecik çeşidinin 15. ve 16. linkage grubu.



Şekil 4.16. Memecik çeşidinin 17. ve 18. linkage grubu.



Şekil 4.17. Memecik çeşidinin 19. ve 20. linkage grubu.



Şekil 4.18. Memecik çeşidinin 21. , 22. ve 23. linkage grubu.

4.4.2. Uslu (P2) eşidinin linkage gruplarının oluşturulması

Uslu çeşidine ait linkage gruplandırmasından elde edilen veriler izelge 4.5’de yer almaktadır. Çizelge 4.5 incelendiğinde zeytinin haploid kromozom sayısı olan 23 adet linkage grubunun elde edildiğı görölmektedir. Linkage grupları 1827 SNP ve 9 SSR markörü olmak üzere toplam 1836 markörü içermektedir. Uslu eşidinde toplam LG harita uzunluğu 2543.2 cM olarak belirlenmiş ve iki markör arası ortalama uzunluk 1.38 cM saptanmıştır.

Linkage haritalaması sonucunda elde edilen 23 gruba ilişkin veriler aşağıda ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur.

LG1; bu grup 180.1 cM uzunluğunda olup genomun % 7.08’lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 144 SNP markörü içeren grupta iki markör arası mesafe 1.25 cM olarak saptanmıştır (izelge 4.5 – Şekil 4.19).

LG2; bu grup 119.4 cM uzunluğunda olup genomun % 4.69’luk kısmını oluşturmuştur. 92 SNP ve 2 SSR olmak üzere toplam 94 markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.27 cM olarak saptanmıştır (izelge 4.5 – Şekil 4.19).

LG3; bu grup 104.7 cM uzunluğunda olup genomun % 4.12’lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 97 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.08 cM olarak saptanmıştır (izelge 4.5 – Şekil 4.20).

LG4; bu grup 126.7 cM uzunluğunda olup genomun % 4.98’lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 89 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.42 cM olarak saptanmıştır (izelge 4.5 – Şekil 4.20).

LG5; bu grup 108.9 cM uzunluğunda olup genomun % 4.28’lik kısmını oluşturmuştur. 59 SNP ve 1 SSR markörü (IAS -oli 17) olmak üzere toplam 60 markör içermektedir. İki markör arası ortalama mesafe 1.81 cM olarak saptanmıştır. Tüm markörler arasındaki en uzun mesafe (22.6 cM) SNPOli321 / SNPOli2528 markörleri arasında bu grupta yer almıştır (izelge 4.5 – Şekil 4.21).

LG6; bu grup 145.8 cM uzunluğunda olup genomun % 5.73'lük kısmını oluşturmuştur. Toplam 92 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.58 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.21).

LG7; bu grup 160.2 cM uzunluğunda olup genomun % 6.30'luk kısmını oluşturmuştur. Toplam 105 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.52 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.22).

LG8; bu grup 112.7 cM uzunluğunda olup genomun % 4.43'lük kısmını oluşturmuştur. 60 SNP ve 1 SSR markörü (ssrOeUA-DCA18) olmak üzere toplam 61 markör içermektedir. İki markör arası ortalama mesafe 1.85 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.22).

LG9; 38.1 cM uzunluğu ile en küçük grup olmuştur. Genomun % 1.50'lik kısmını oluşturmuştur. 12 SNP markörü içeren gruptaki iki markör arası ortalama mesafe 3.17 cM olarak saptanmıştır. En az sayıda markör içeren ve iki markör arası uzaklığı en yüksek olan gruptur (Çizelge 4.5 – Şekil 4.23).

LG10; bu grup 166.6 cM uzunluğunda olup genomun % 6.55'lik kısmını oluşturmuştur. 125 SNP ve 3 SSR markörü (Gapu59, Gapu103A, UDO99-012) olmak üzere toplam 128 markör içermektedir. En fazla SSR markörüne sahip olan grup olmuştur. İki markör arası ortalama mesafe 1.30 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.23).

LG11; bu grup 56.7 cM uzunluğunda olup genomun % 2.23'lük kısmını oluşturmuştur. 69 SNP ve 1 SSR markörü (Gapu71B) olmak üzere toplam 70 markör içermektedir. İki markör arası ortalama mesafesi en az olan gruptur (0.81 cM) (Çizelge 4.5 – Şekil 4.24).

LG12; 214.3 cM uzunluğu ile en uzun grup olmuştur. Genomun % 8.43'lük kısmını oluşturmuştur. En fazla markör sayısına sahip olan gruptur. 155 SNP ve 1 SSR markörü (PA-ATT-2) olmak üzere toplam 156 markör içermektedir. İki markör arası ortalama mesafe 1.37 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.24).

LG13; bu grup 85.9 cM uzunluğunda olup genomun % 3.38'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 91 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 0.94 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.25).

LG14; bu grup 145.8 cM uzunluğunda olup genomun % 5.73'lük kısmını oluşturmuştur. Toplam 74 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.97 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.25).

LG15; bu grup 164.6 cM uzunluğunda olup genomun % 6.47'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 116 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.42 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.26).

LG16; bu grup 118.9 cM uzunluğunda olup genomun % 4.68'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 75 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.58 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.26).

LG17; bu grup 111.3 cM uzunluğunda olup genomun % 4.38'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 104 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.07 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.27).

LG18; bu grup 68.8 cM uzunluğunda olup genomun % 2.71'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 40 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.72 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.27).

LG19; bu grup 63.7 cM uzunluğunda olup genomun % 2.50'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 44 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.45 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.28).

LG20; bu grup 48.8 cM uzunluğunda olup genomun % 1.92'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 28 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.74 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.28).

LG21; bu grup 66.9 cM uzunluğunda olup genomun % 2.63'lük kısmını oluşturmuştur. Toplam 48 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.39 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.29).

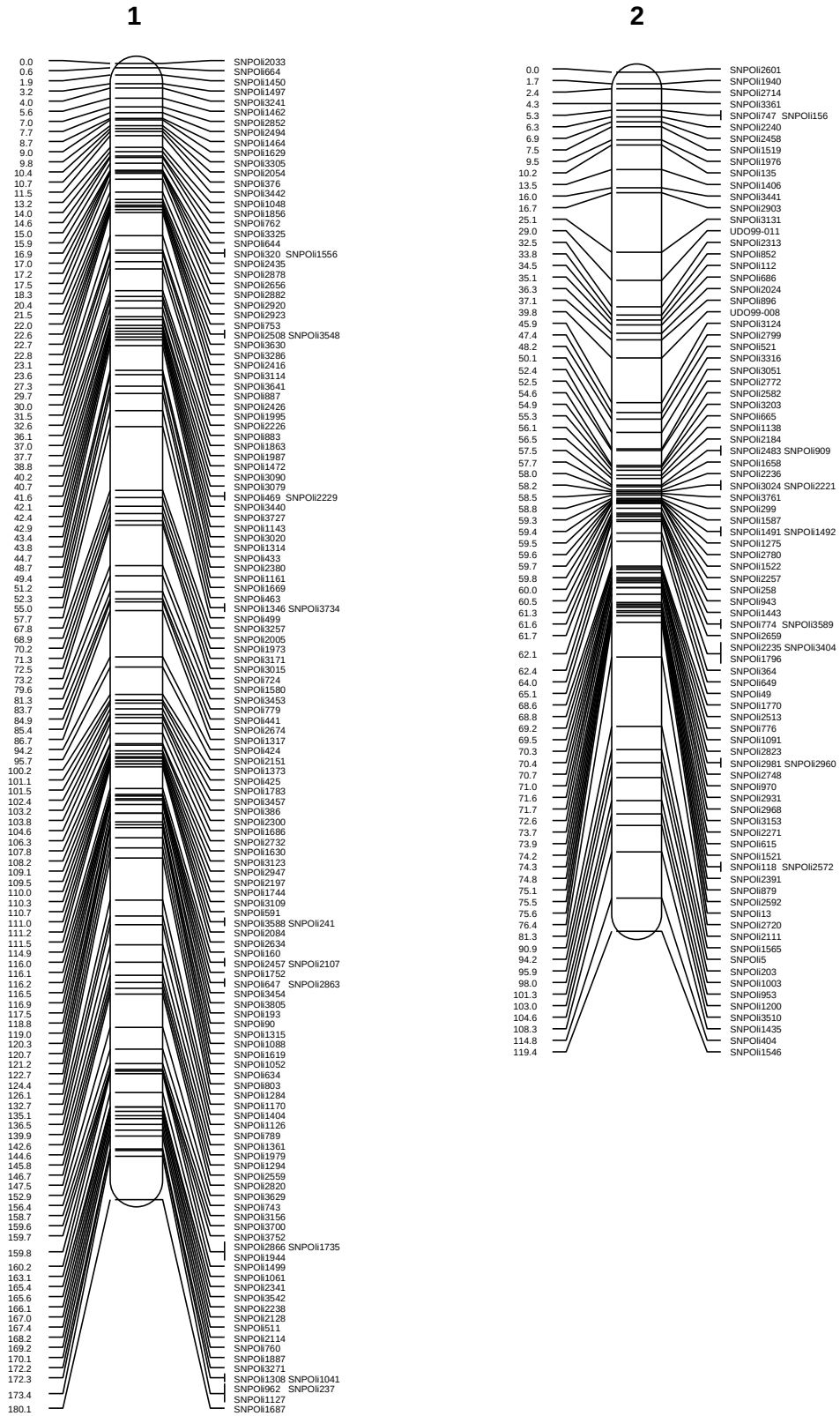
LG22; bu grup 65.5 cM uzunluğunda olup genomun % 2.58'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 49 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.34 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.29).

LG23; bu grup 68.8 cM uzunluğunda olup genomun % 2.71'lik kısmını oluşturmuştur. Toplam 59 SNP markörü içeren grupta iki markör arası ortalama mesafe 1.17 cM olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5 – Şekil 4.29).

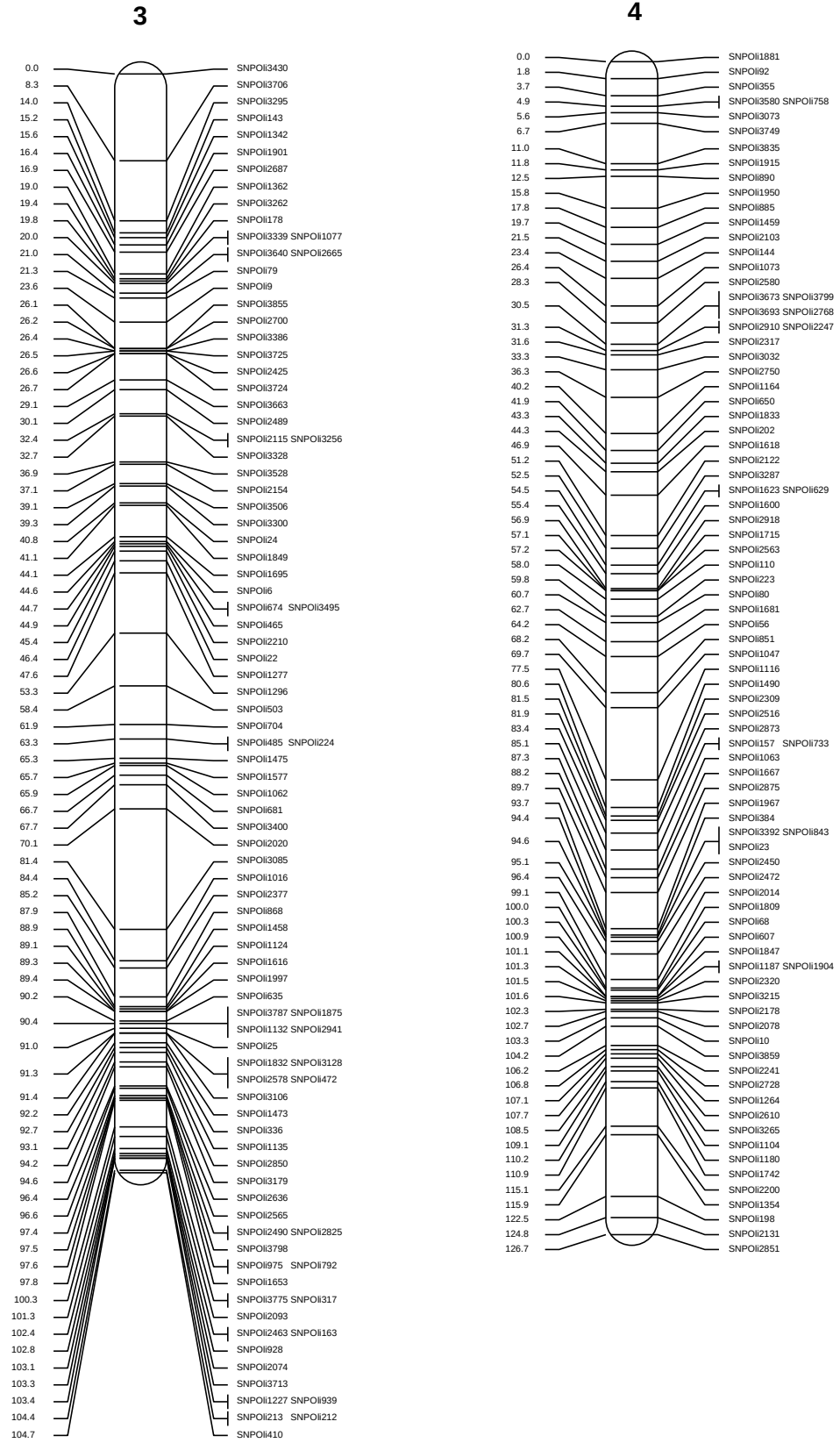
Çizelge 4.5. Uslu çeşidine ait linkage grupları.

Linkage grubu	SNP	SSR	Markör sayısı	Uzunluk (cM)	İki markör arası ortalama mesafe (cM)
LG1	144	-	144	180.1	1.25
LG2	92	2	94	119.4	1.27
LG3	97	-	97	104.7	1.08
LG4	89	-	89	126.7	1.42
LG5	59	1	60	108.9	1.81
LG6	92	-	92	145.8	1.58
LG7	105	-	105	160.2	1.52
LG8	60	1	61	112.7	1.85
LG9	12	-	12	38.1	3.17
LG10	125	3	128	166.6	1.30
LG11	69	1	70	56.7	0.81
LG12	155	1	156	214.3	1.37
LG13	91	-	91	85.9	0.94
LG14	74	-	74	145.8	1.97
LG15	116	-	116	164.6	1.42
LG16	75	-	75	118.9	1.58
LG17	104	-	104	111.3	1.07
LG18	40	-	40	68.8	1.72
LG19	44	-	44	63.7	1.45
LG20	28	-	28	48.8	1.74
LG21	48	-	48	66.9	1.39
LG22	49	-	49	65.5	1.34
LG23	59	-	59	68.8	1.17
Toplam	1827	9	1836	2543.2	Ortalama: 1.38

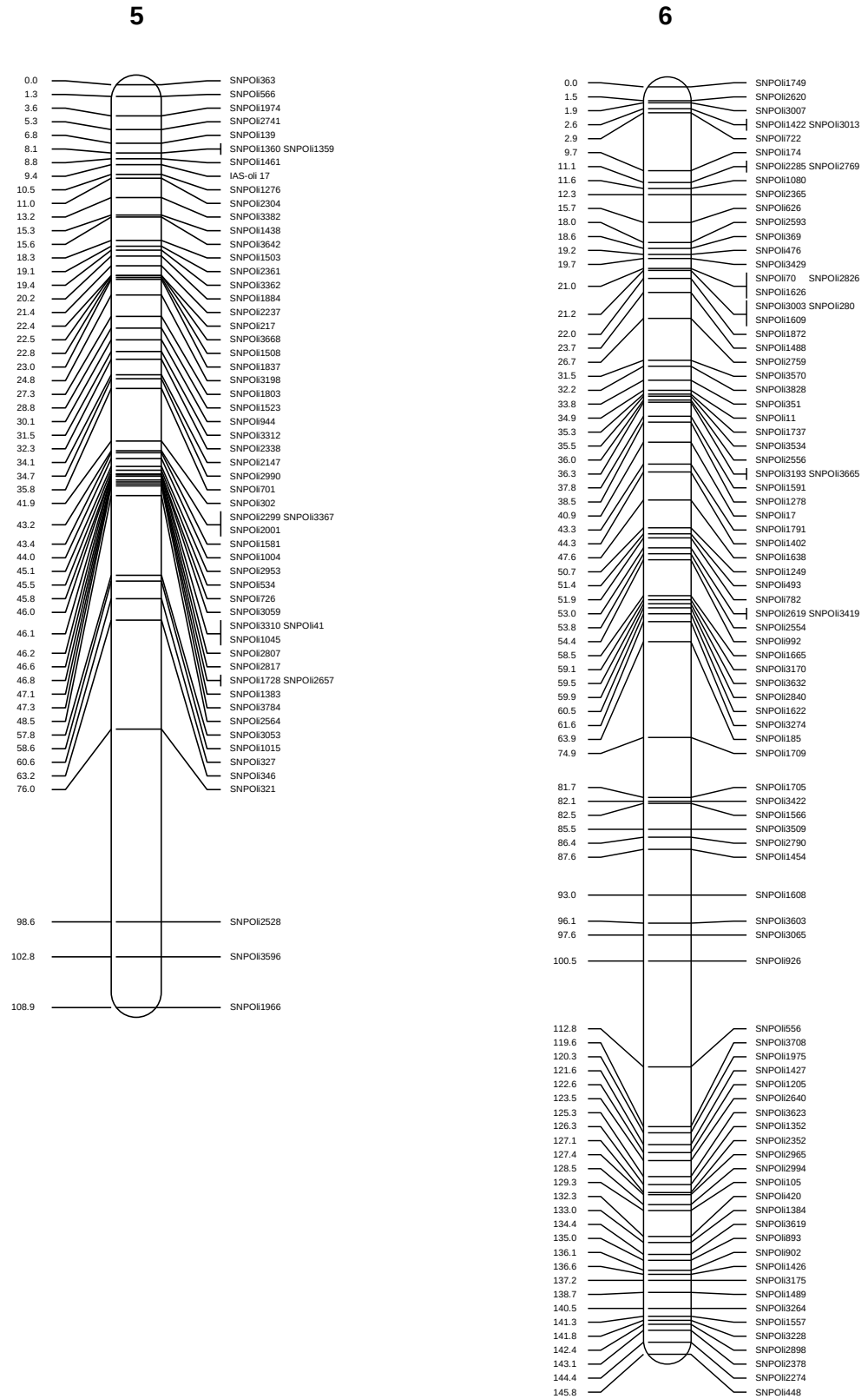
Uslu çeşidi linkage grupları



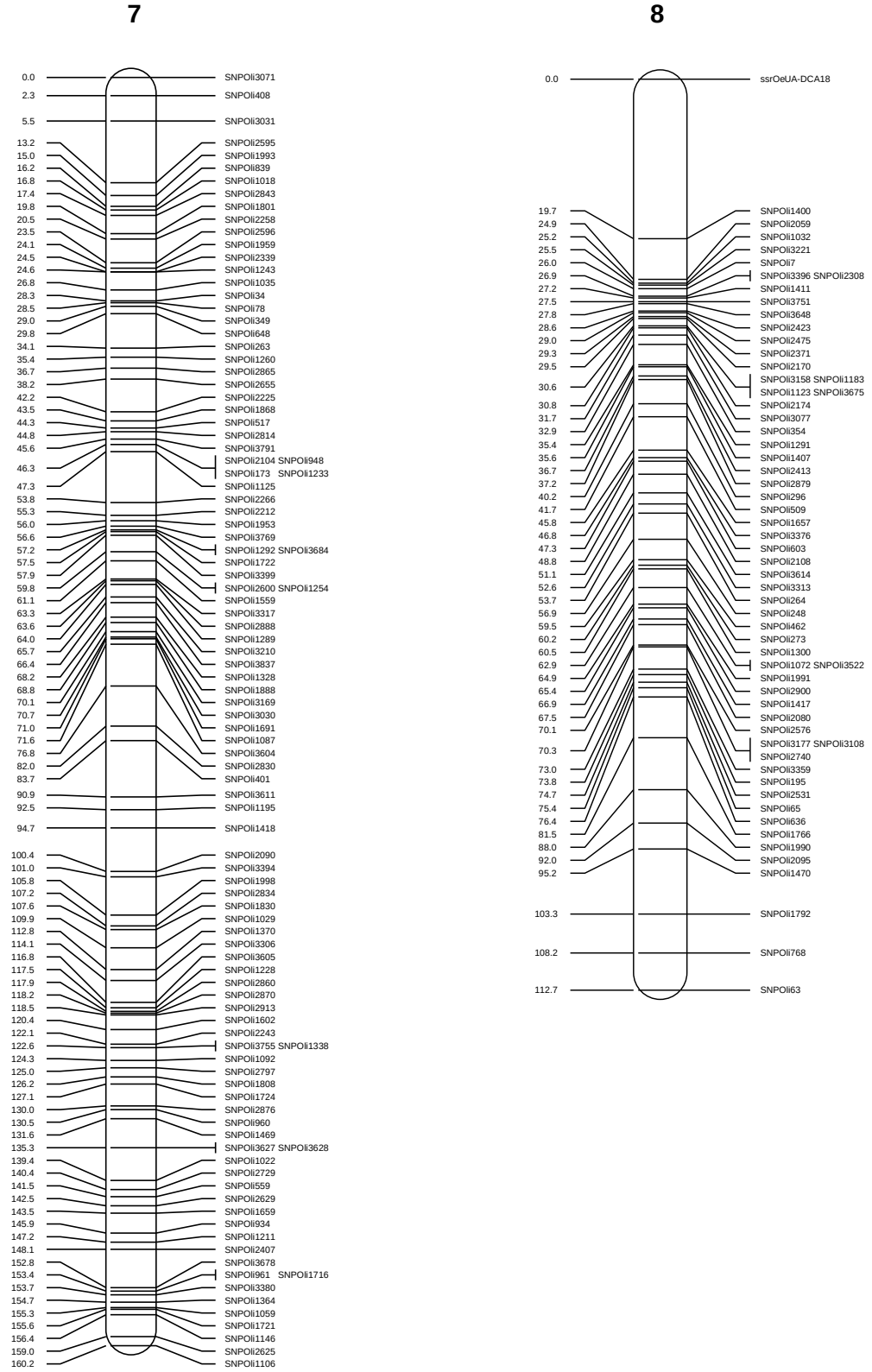
Şekil 4.19. Uslu çeşidinin 1. ve 2. linkage grubu.



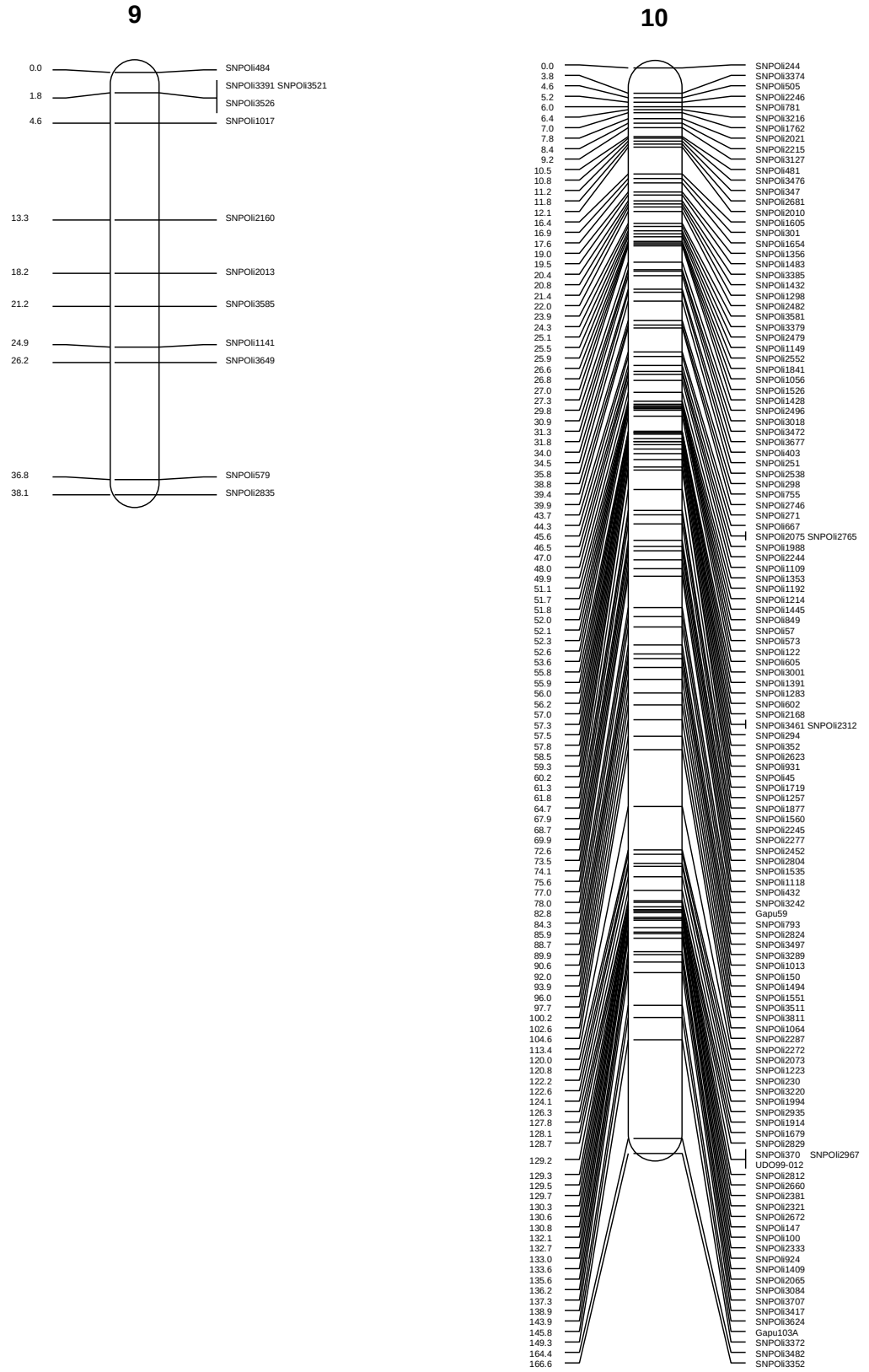
Şekil 4.20. Uslu çeşidinin 3. ve 4. linkage grubu.



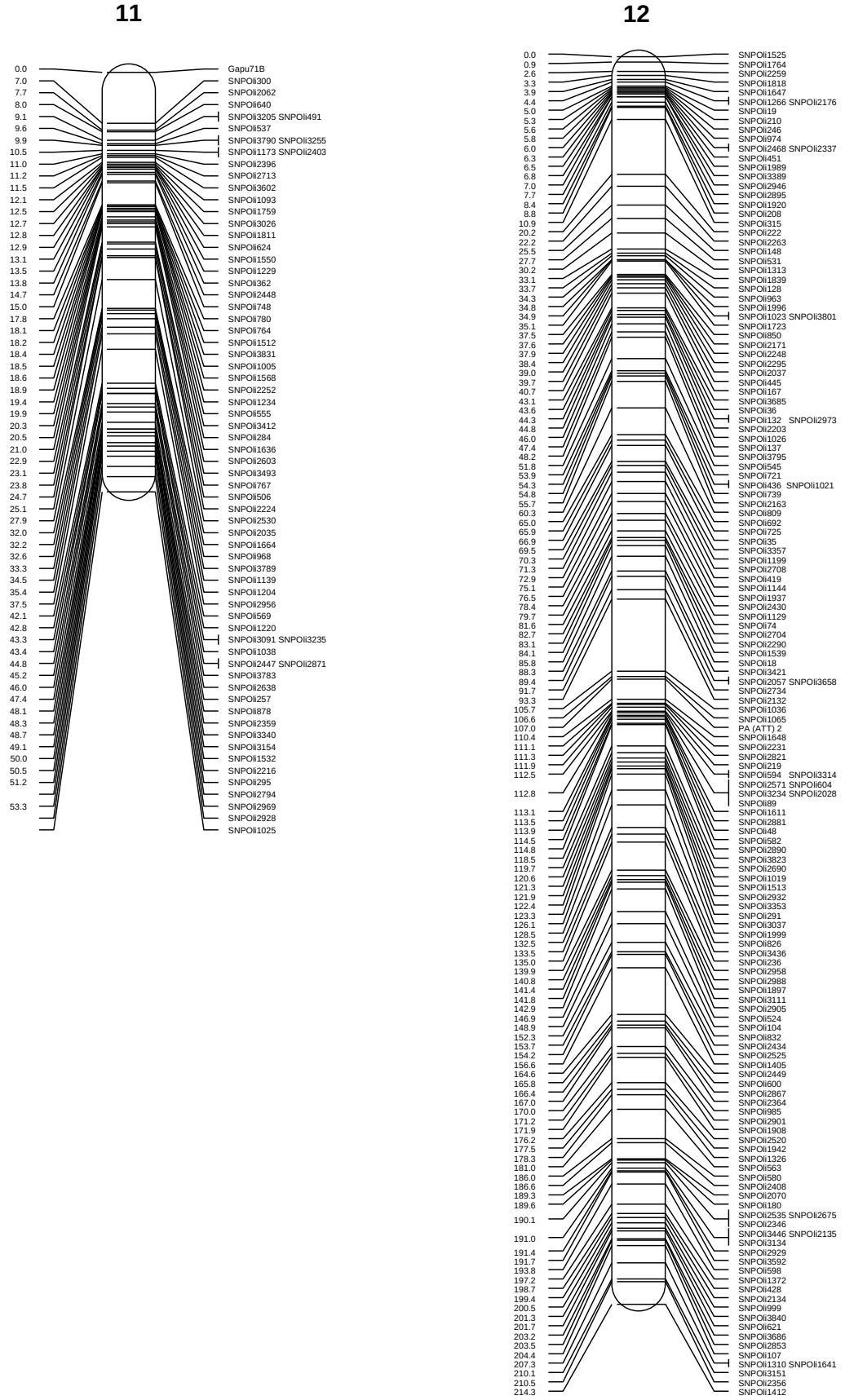
Şekil 4.21. Uslu çeşidinin 5. ve 6. linkage grubu.



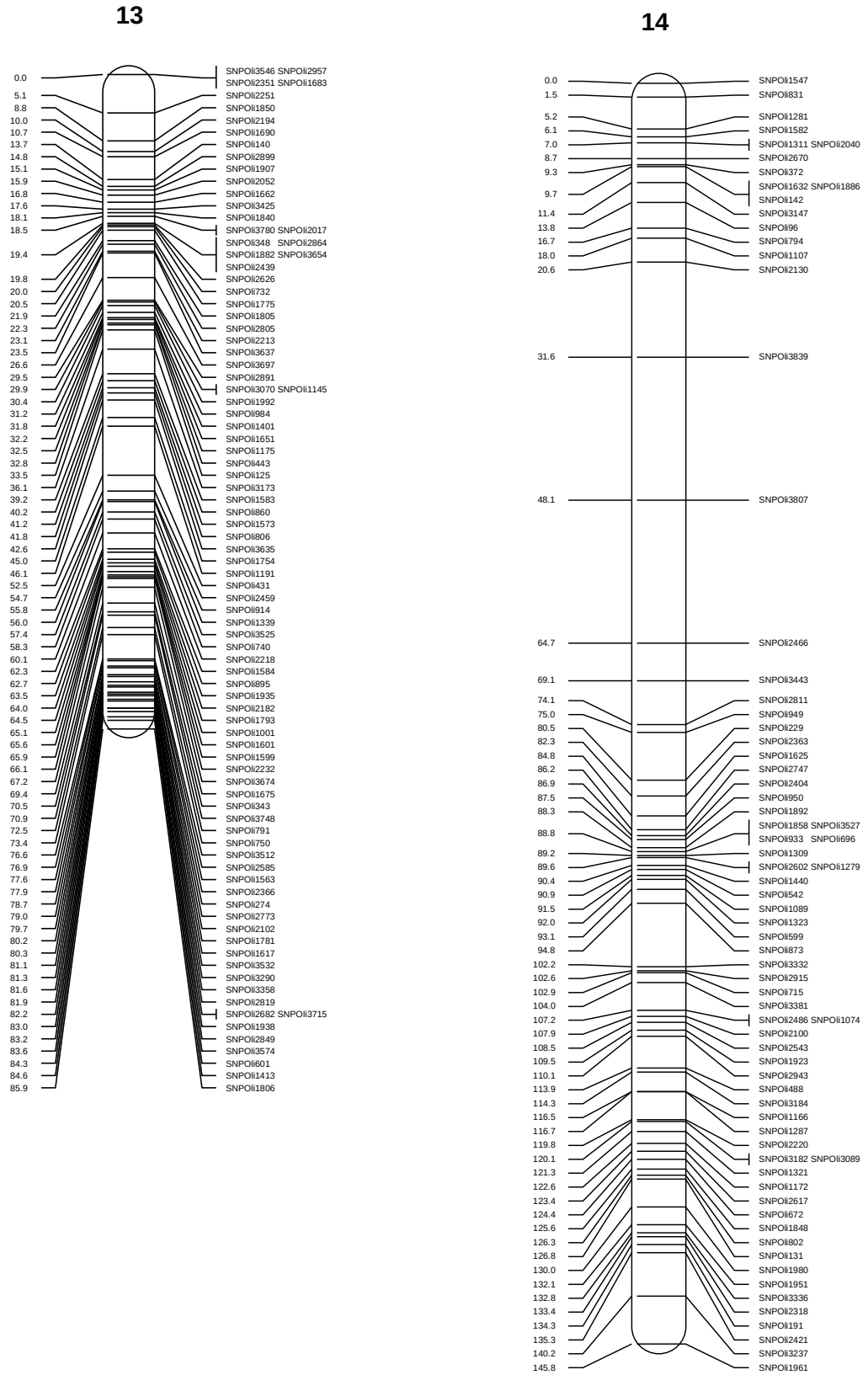
Şekil 4.22. Uslu çeşidinin 7. ve 8. linkage grubu.



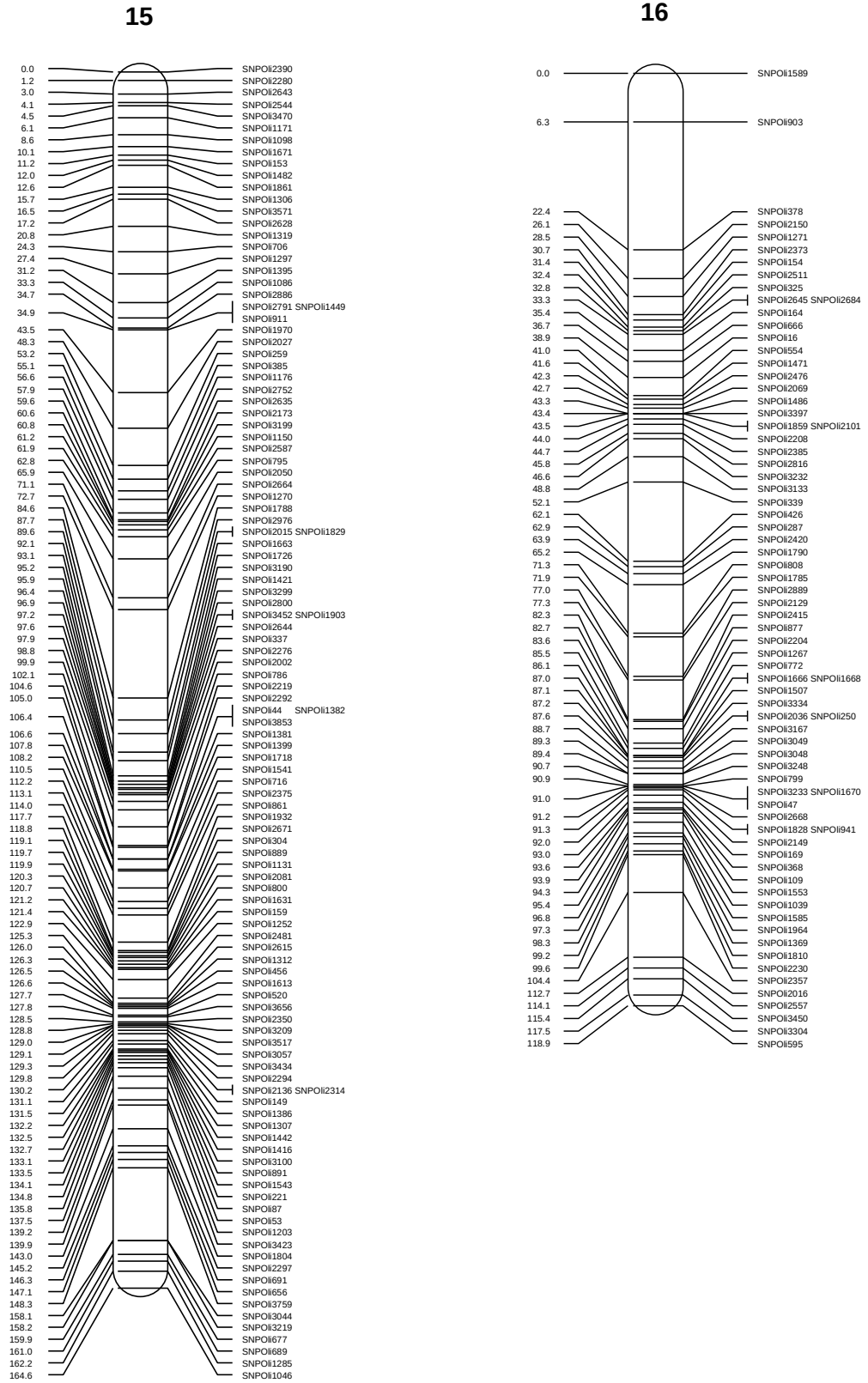
Şekil 4.23. Uslu çeşidinin 9. ve 10. linkage grubu.



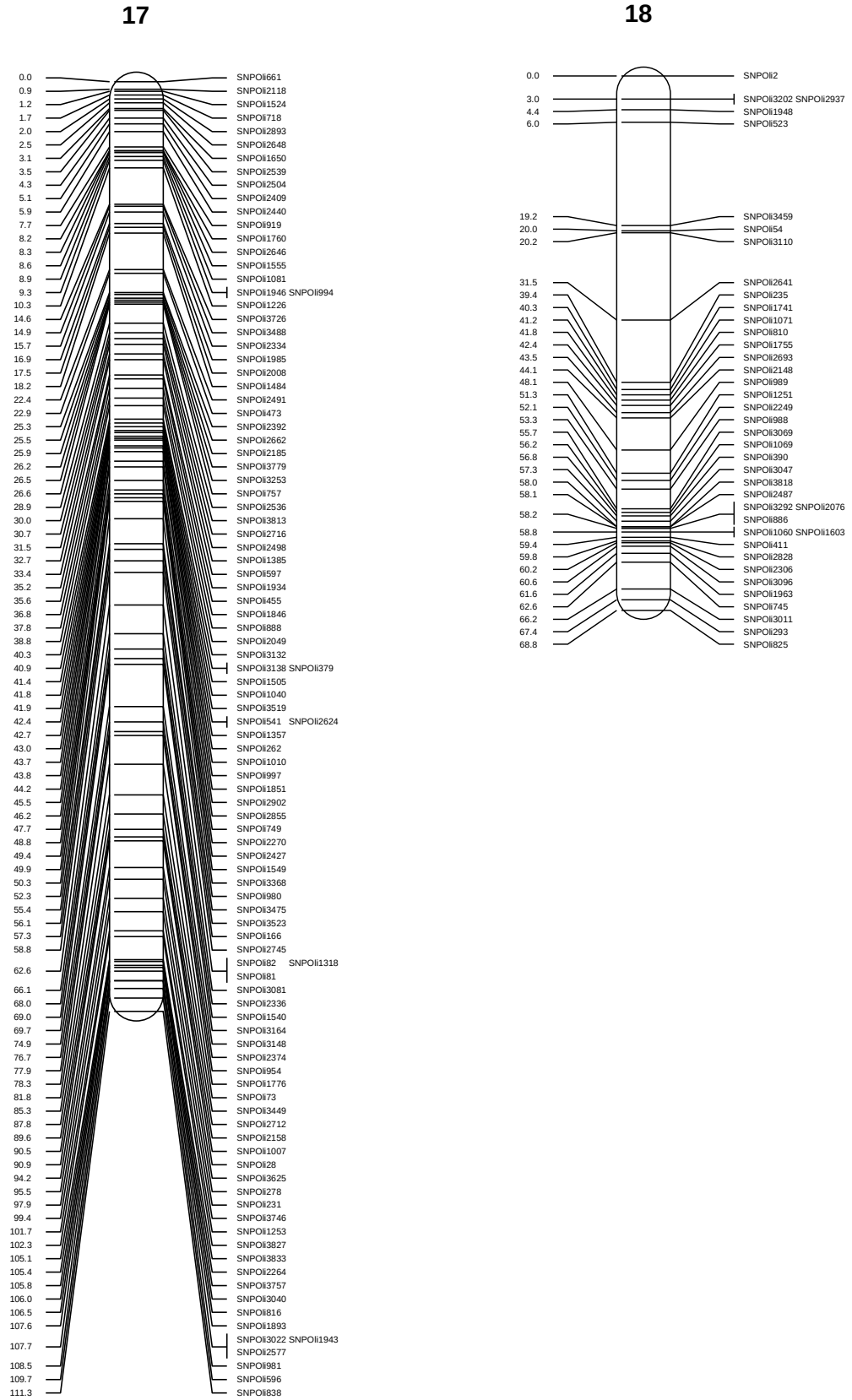
Şekil 4.24. Uslu çeşidinin 11. ve 12. linkage grubu.



Şekil 4.25. Uslu çeşidinin 13. ve 14. linkage grubu.

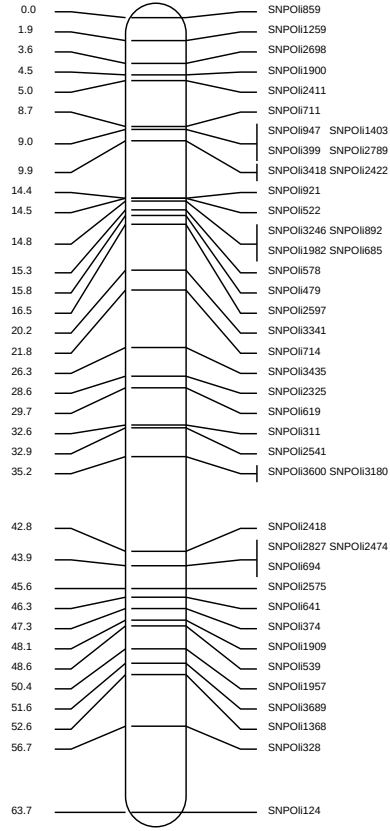


Şekil 4.26. Uslu çeşidinin 15. ve 16. linkage grubu.

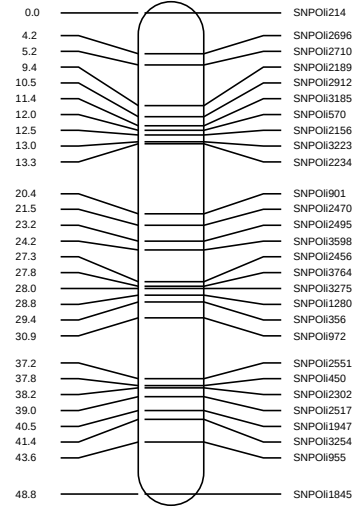


Şekil 4.27. Uslu çeşidinin 17. ve 18. linkage grubu.

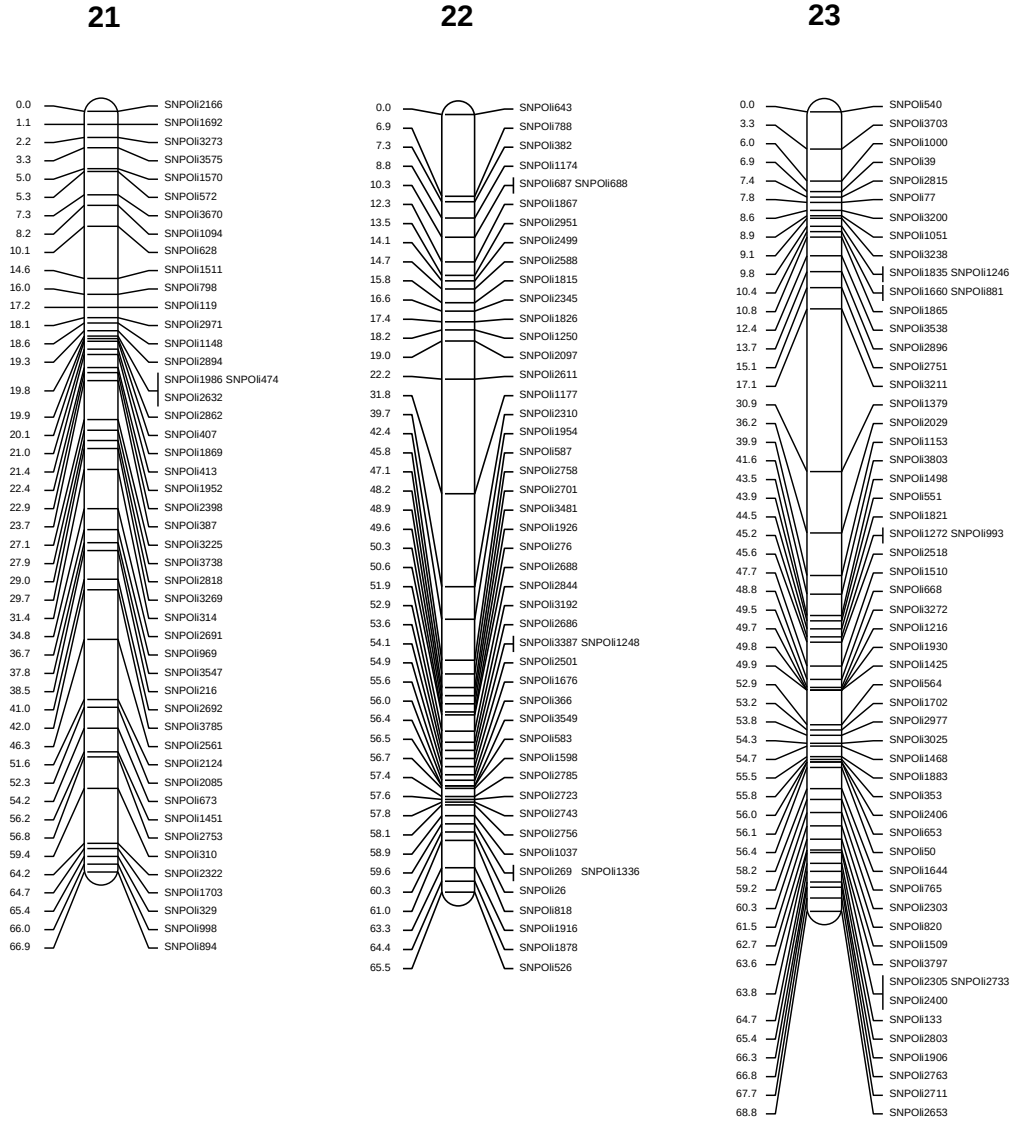
19



20



Şekil 4.28. Uslu çeşidinin 19. ve 20. linkage grubu.



Şekil 4.29. Uslu çeşidinin 21. , 22. ve 23. linkage grubu.

4.5. QTL Analizi

Çalışmada QTL analizleri için MapQTL 6 (Van Ooijen 2009) programı kullanılmış ve LOD değeri 2 dahil üzerinde olan lokuslar QTL olarak değerlendirilmiştir. QTL analizinden elde edilen bulgulara göre, zeytinde meyve olgunlaşması üzerine etkili olduğu düşünülen 39 aday QTL bölgesi belirlenmiştir. Bunların 21'i Memecik çeşidinde (LG2, LG21), 18'i ise Uslu çeşidinde (LG1, LG2, LG8, LG12, LG17) saptanmıştır.

Meyve olgunlaşması geç olan Memecik çeşidine ait QTL'ler, analizin yapıldığı her iki yılda da LG2 ve LG21'de belirlenmiştir (Şekil 4.30, Şekil 4.31). Yıllar arasında belirlenen QTL bölgeleri için bazı farklılıklar ortaya çıkmıştır. Analizin ilk yılında LG2'de 17 QTL, LG21'de ise 3 QTL belirlenirken ikinci yılında LG21'deki ilk yıldaki 3 QTL saptanmış ancak LG2'deki 9 QTL LOD 2 değerinin altında kaldığı için değerlendirmeye alınmamıştır.

Memecik çeşidinde birinci yıl yapılan QTL analiz sonucuna göre; 21 markörün meyvede geç olgunlaşmayla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Bu markörlere ait LOD ve % açıkladığı fenotipik varyasyon değerleri sırasıyla aşağıdaki gibi olmuştur;

SNPOLi5491 markörü için LOD değeri 3.64 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 16.6,

SNPOLi5217 markörü için LOD değeri 3.49 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 16.0,

SNPOLi5184 markörü için LOD değeri 3.49 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 16.0,

SNPOLi3941 markörü için LOD değeri 3.11 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 14.4,

SNPOLi5831 markörü için LOD değeri 2.96 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 13.8,

SNPOLi5647 markörü için LOD değeri 2.91 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 13.6,

SNPOLi4668 markörü için LOD değeri 2.88 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 13.4,

SNPOLi4376 markörü için LOD değeri 2.73 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 12.8,

SNPOLi5980 markörü için LOD değeri 2.59 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 12.2,

SNPOLi6537 markörü için LOD değeri 2.57 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 12.1,

SNPOLi5141 markörü için LOD değeri 2.44 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 11.5,

SNPOLi7523 markörü için LOD değeri 2.40 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 11.3,

SNPOLi6500 markörü için LOD değeri 2.39 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 11.3,

SNPOLi6974 markörü için LOD değeri 2.39 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 11.3,

SNPOLi4684 markörü için LOD değeri 2.30 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.9,

SNPOLi4546 markörü için LOD değeri 2.14 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.1,

SNPOLi5889 markörü için LOD değeri 2.09 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.9,

SNPOLi5890 markörü için LOD değeri 2.09 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.9,

SNPOLi5995 markörü için LOD değeri 2.08 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.9

SNPOLi4272 markörü için LOD değeri 2.05 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.8,

SNPOLi4252 markörü için LOD değeri 2.00 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.5 olarak saptanmıştır.

Bu makörlerden SNPOLi4546, SNPOLi4272 ve SNPOLi4252 LG21’de yer almış geri kalan markörler LG2’de saptanmıştır. SNPOLi5980 markörü ise herhangi bir LG’de yer almamıştır.

Memecik çeşidinde ikinci yıl yapılan QTL analiz sonucuna göre; 12 markörün meyvede geç olgunlaşmayla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Bu markörlere ait LOD ve % açıkladığı fenotipik varyasyon değerleri sırasıyla aşağıdaki gibi olmuştur;

SNPOLi5491 markörü için LOD değeri 3.19 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 14.8,

SNPOLi5980 markörü için LOD değeri 2.96 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 13.8,

SNPOLi5217 markörü için LOD değeri 2.60 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 12.2,

SNPOLi5184 markörü için LOD değeri 2.60 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 12.2,

SNPOLi3941 markörü için LOD değeri 2.53 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 11.9,

SNPOLi4668 markörü için LOD değeri 2.34 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 11.1,

SNPOLi4546 markörü için LOD değeri 2.33 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 11.0,

SNPOLi5141 markörü için LOD değeri 2.31 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.9,

SNPOLi5831 markörü için LOD değeri 2.21 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.5,

SNPOLi4272 markörü için LOD değeri 2.21 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.5,

SNPOLi4252 markörü için LOD değeri 2.10 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.0,

SNPOLi4376 markörü için LOD değeri 2.09 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.0 olarak belirlenmiştir.

Bu makörlerden SNPOLi4546, SNPOLi4272 ve SNPOLi4252 LG21’de yer almış geri kalan markörler LG2’de saptanmıştır. SNPOLi5980 markörü ikinci yılda da herhangi bir LG’de yer almamıştır.

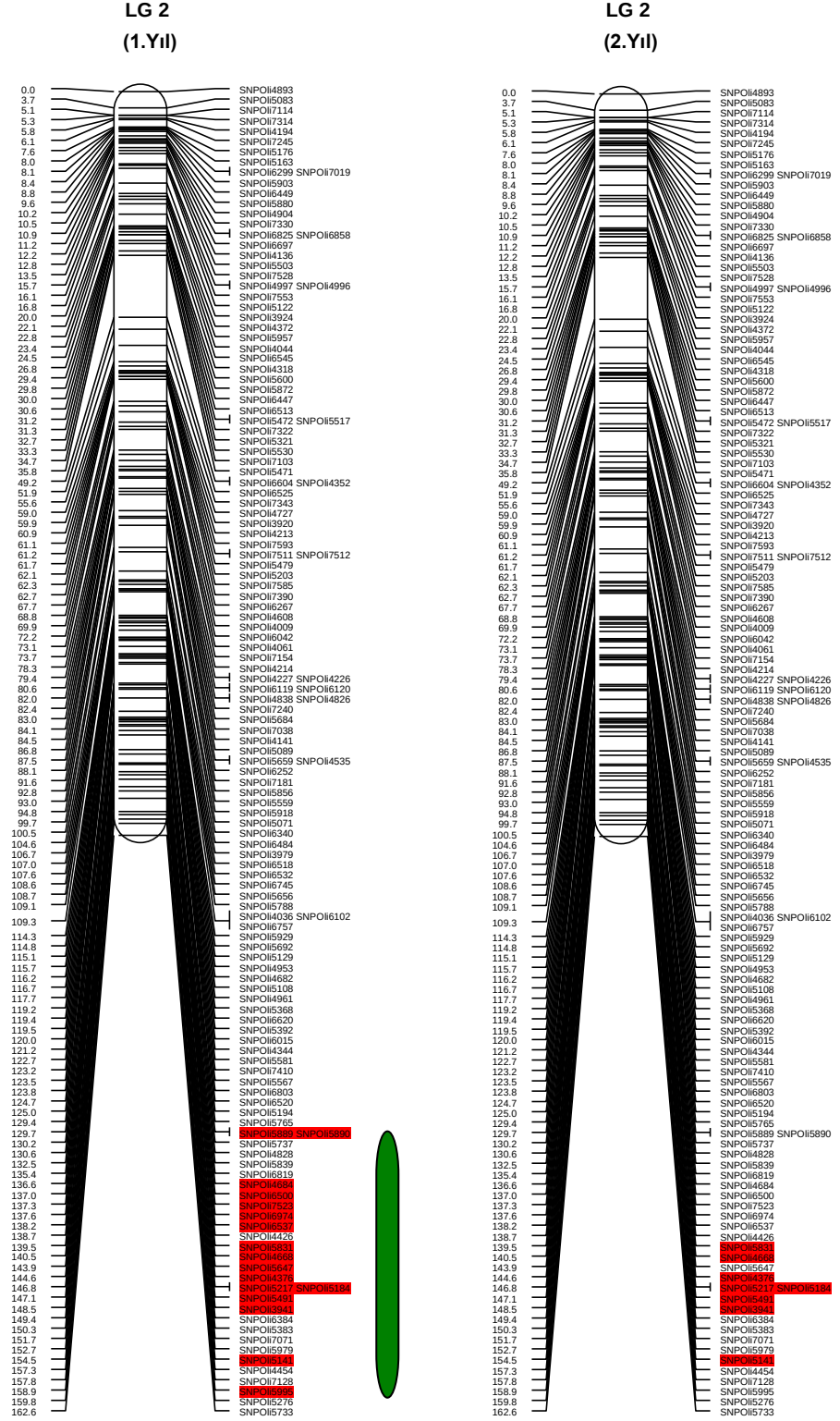
Çizelge 4.6. Memecik çeşidi için 1.yıl QTL analizinden elde edilen bulgular.

LG	Yer (cM)	Lokus	LOD	% Açıkladığı fenotipik varyans
2	147,13	SNPoli5491	3.64	16.6
2	146,79	SNPoli5217	3.49	16.0
2	146,79	SNPoli5184	3.49	16.0
2	148,53	SNPoli3941	3.11	14.4
2	139,49	SNPoli5831	2.96	13.8
2	143,93	SNPoli5647	2.91	13.6
2	140,46	SNPoli4668	2.88	13.4
2	144,60	SNPoli4376	2.73	12.8
Unlinked	-	SNPoli5980	2.59	12.2
2	138,23	SNPoli6537	2.57	12.1
2	154,53	SNPoli5141	2.44	11.5
2	137,27	SNPoli7523	2.40	11.3
2	137,03	SNPoli6500	2.39	11.3
2	137,56	SNPoli6974	2.39	11.3
2	136,59	SNPoli4684	2.30	10.9
21	7,32	SNPoli4546	2.14	10.1
2	129,70	SNPoli5889	2.09	9.9
2	129,70	SNPoli5890	2.09	9.9
2	158,92	SNPoli5995	2.08	9.9
21	8,35	SNPoli4272	2.05	9.8
21	10,82	SNPoli4252	2.00	9.5

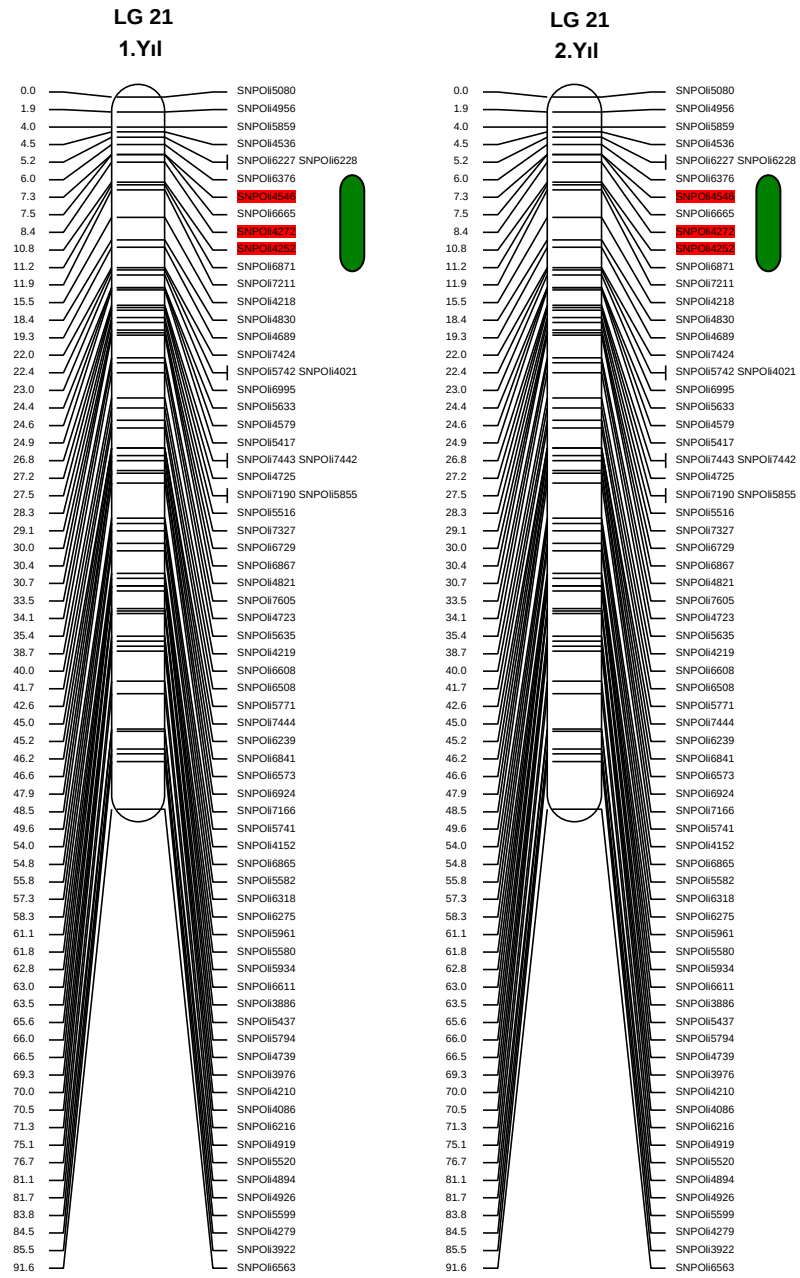
Çizelge 4.7. Memecik çeşidi için 2.yıl QTL analizinden elde edilen bulgular.

LG	Yer (cM)	Lokus	LOD	% Açıkladığı fenotipik varyans
2	147,13	SNPoli5491	3.19	14.8
Unlinked	-	SNPoli5980	2.96	13.8
2	146,79	SNPoli5217	2.60	12.2
2	146,79	SNPoli5184	2.60	12.2
2	148,53	SNPoli3941	2.53	11.9
2	140,46	SNPoli4668	2.34	11.1
21	7,32	SNPoli4546	2.33	11.0
2	154,53	SNPoli5141	2.31	10.9
2	139,49	SNPoli5831	2.21	10.5
21	8,35	SNPoli4272	2.21	10.5
21	10,82	SNPoli4252	2.10	10.0
2	144,60	SNPoli4376	2.09	10.0

Memecik çeşidinde meyve olgunluğuna etki eden QTL markörleri



Şekil 4.30. Memecik çeşidi LG2’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri.



Şekil 4.31. Memecik çeşidi LG21’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri.

Meyve olgunlaşması erken olan Uslu çeşidine ait markörler birinci yılda LG1’de 5 (Şekil 4.32), LG2’de 2 (Şekil 4.33) ve LG17’de 8 (Şekil 4.35); ikinci yıl ise LG1’de 2 (Şekil 4.32), LG2’de 3 (Şekil 4.33), LG8’de 1 (4.34), LG12’de 1 (Şekil 4.34) ve LG17’de 3 (Şekil 4.35) markör şeklinde sıralanmışlardır.

Uslu çeşidinde ilk yıl verilerinde yapılan QTL analizi sonucuna göre 15 markörün meyvede erken olgunlaşmayla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Bu markörlere ait LOD ve % açıkladığı fenotipik varyasyon değerleri sırasıyla;

SNPOLi2336 markörü için LOD değeri 2.87 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 13.4 (LG17),

SNPOLi2559 markörü için LOD değeri 2.61 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 12.3 (LG1),

SNPOLi2820 markörü için LOD değeri 2.56 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 12.0 (LG1),

SNPOLi1361 markörü için LOD değeri 2.39 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 11.3 (LG1),

SNPOLi3625 markörü için LOD değeri 2.34 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 11.0 (LG17),

SNPOLi3081 markörü için LOD değeri 2.29 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.8 (LG17),

SNPOLi258 markörü için LOD değeri 2.24 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.6 (LG2),

SNPOLi28 markörü için LOD değeri 2.23 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.6 (LG17),

SNPOLi2772 markörü için LOD değeri 2.20 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.4 (LG2),

SNPOLi1540 markörü için LOD değeri 2.17 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.3 (LG17),

SNPOLi2457 markörü için LOD değeri 2.08 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.90 (LG1),

SNPOLi789 markörü için LOD değeri 2.08 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.9 (LG1),

SNPOLi3164 markörü için LOD değeri 2.06 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.8 (LG17),

SNPOLi1776 markörü için LOD değeri 2.03 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.7 (LG17),

SNPOLi2712 markörü için LOD değeri 2.01 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.6 (LG17) olarak saptanmıştır.

Uslu çeşidinde ikinci yıl yapılan QTL analiz sonucuna göre 10 markörün meyvede erken olgunlaşmayla ilişkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Bu markörlere ait LOD değeri ve % açıkladığı fenotipik varyasyon değerleri sırasıyla;

SNPOLi258 markörü için LOD değeri 2.30 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.9 (LG2),

SNPOLi2336 markörü için LOD değeri 2.30 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.9 (LG17),

SNPOLi1036 markörü için LOD değeri 2.26 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.7 (LG12),

SNPOLi2559 markörü için LOD değeri 2.23 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 10.6 (LG1),

SNPOLi3164 markörü için LOD değeri 2.09 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.9 (LG17),

SNPOLi2820 markörü için LOD değeri 2.08 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.9 (LG1),

SNPOLi1766 markörü için LOD değeri 2.08 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.9 (LG8),

SNPOLi2236 markörü için LOD değeri 2.07 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.8 (LG2),

SNPOLi2772 markörü için LOD değeri 2.06 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.8 (LG2),

SNPOLi1540 markörü için LOD değeri 2.05 ve açıkladığı fenotipik varyasyon % 9.7 (LG17) olarak saptanmıştır.

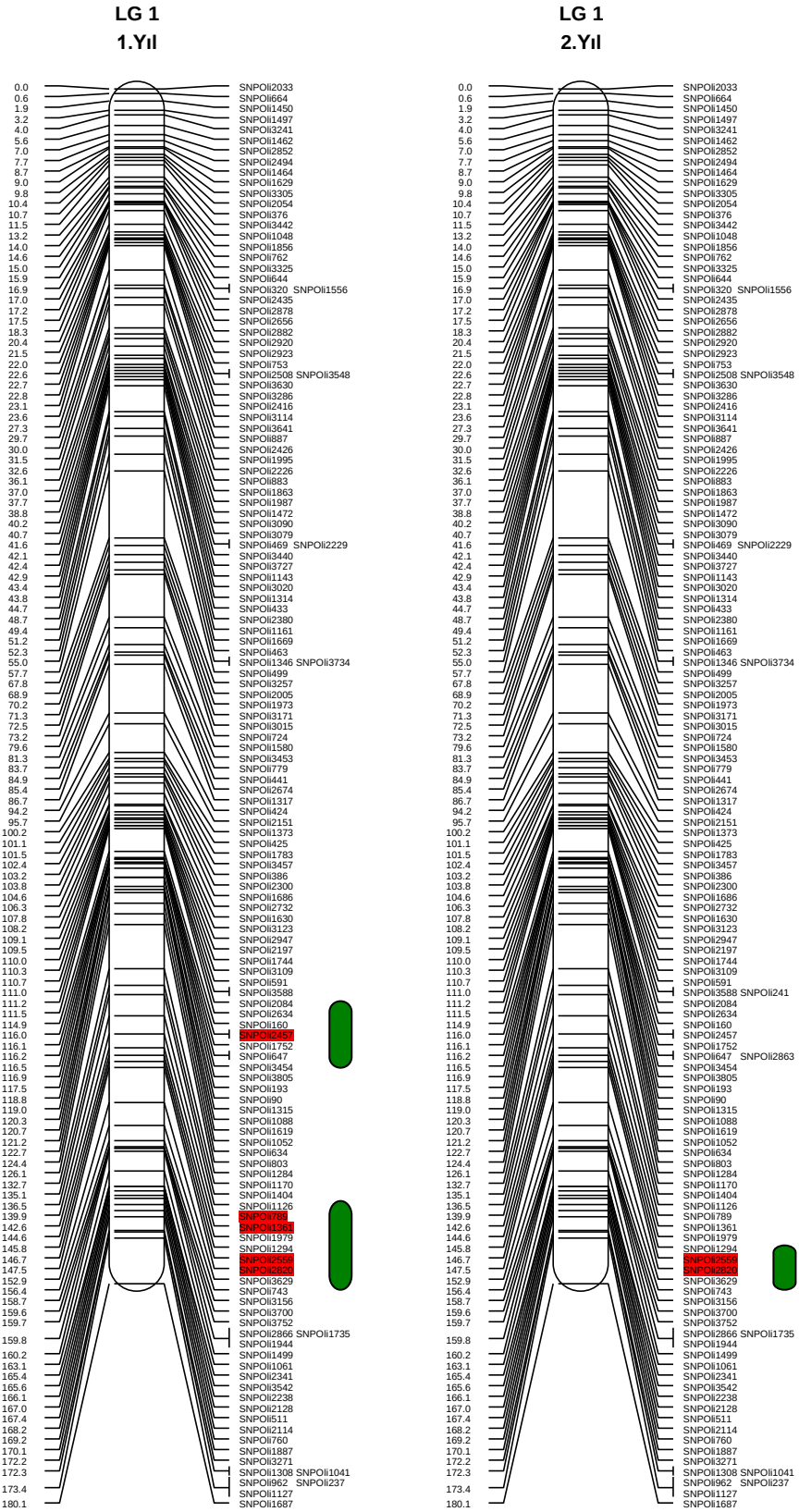
Çizelge 4.8. Uslu çeşidi için 1.yıl QTL analizinden elde edilen bulgular.

LG	Yer (cM)	Lokus	LOD	% Açıkladığı fenotipik varyans
17	67,97	SNPOLi2336	2.87	13.4
1	146,68	SNPOLi2559	2.61	12.3
1	147,50	SNPOLi2820	2.56	12.0
1	142,60	SNPOLi1361	2.39	11.3
17	94,24	SNPOLi3625	2.34	11.0
17	66,11	SNPOLi3081	2.29	10.8
2	59,97	SNPOLi258	2.24	10.6
17	90,94	SNPOLi28	2.23	10.6
2	52,48	SNPOLi2772	2.20	10.4
17	68,99	SNPOLi1540	2.17	10.3
1	116,02	SNPOLi2457	2.08	9.9
1	139,88	SNPOLi789	2.08	9.9
17	69,65	SNPOLi3164	2.06	9.8
17	78,29	SNPOLi1776	2.03	9.7
17	87,81	SNPOLi2712	2.01	9.6

Çizelge 4.9. Uslu çeşidi için 2.yıl QTL analizinden elde edilen bulgular.

LG	Yer (cM)	Lokus	LOD	% Açıkladığı fenotipik varyans
2	59,97	SNPOLi258	2.30	10.9
17	67,97	SNPOLi2336	2.30	10.9
12	105,68	SNPOLi1036	2.26	10.7
1	146,68	SNPOLi2559	2.23	10.6
17	69,65	SNPOLi3164	2.09	9.9
1	147,50	SNPOLi2820	2.08	9.9
8	81,48	SNPOLi1766	2.08	9.9
2	57,97	SNPOLi2236	2.07	9.8
2	52,48	SNPOLi2772	2.06	9.8
17	68,99	SNPOLi1540	2.05	9.7

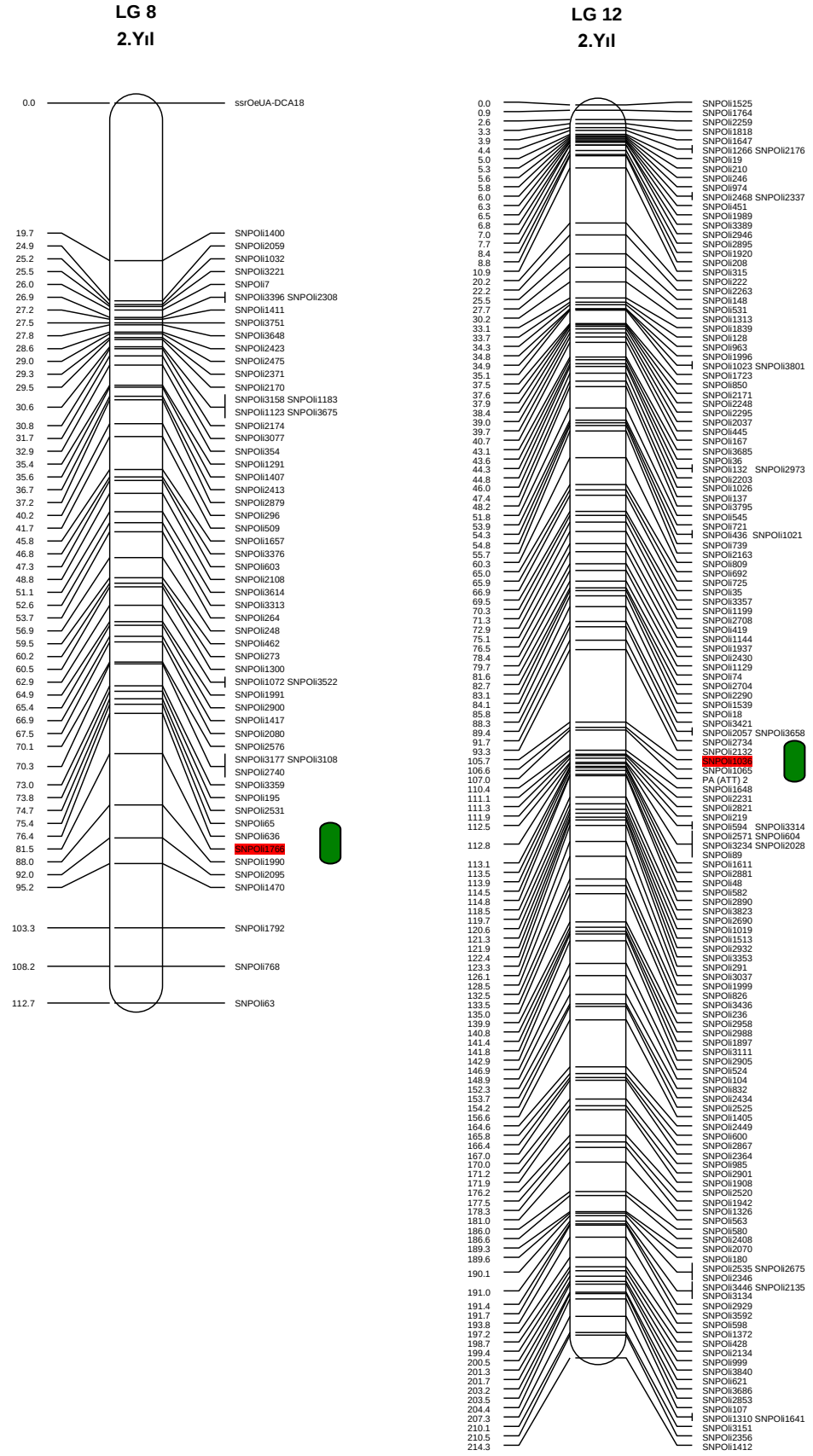
Uslu çeşidinde meyve olgunluğuna etki eden QTL markörleri



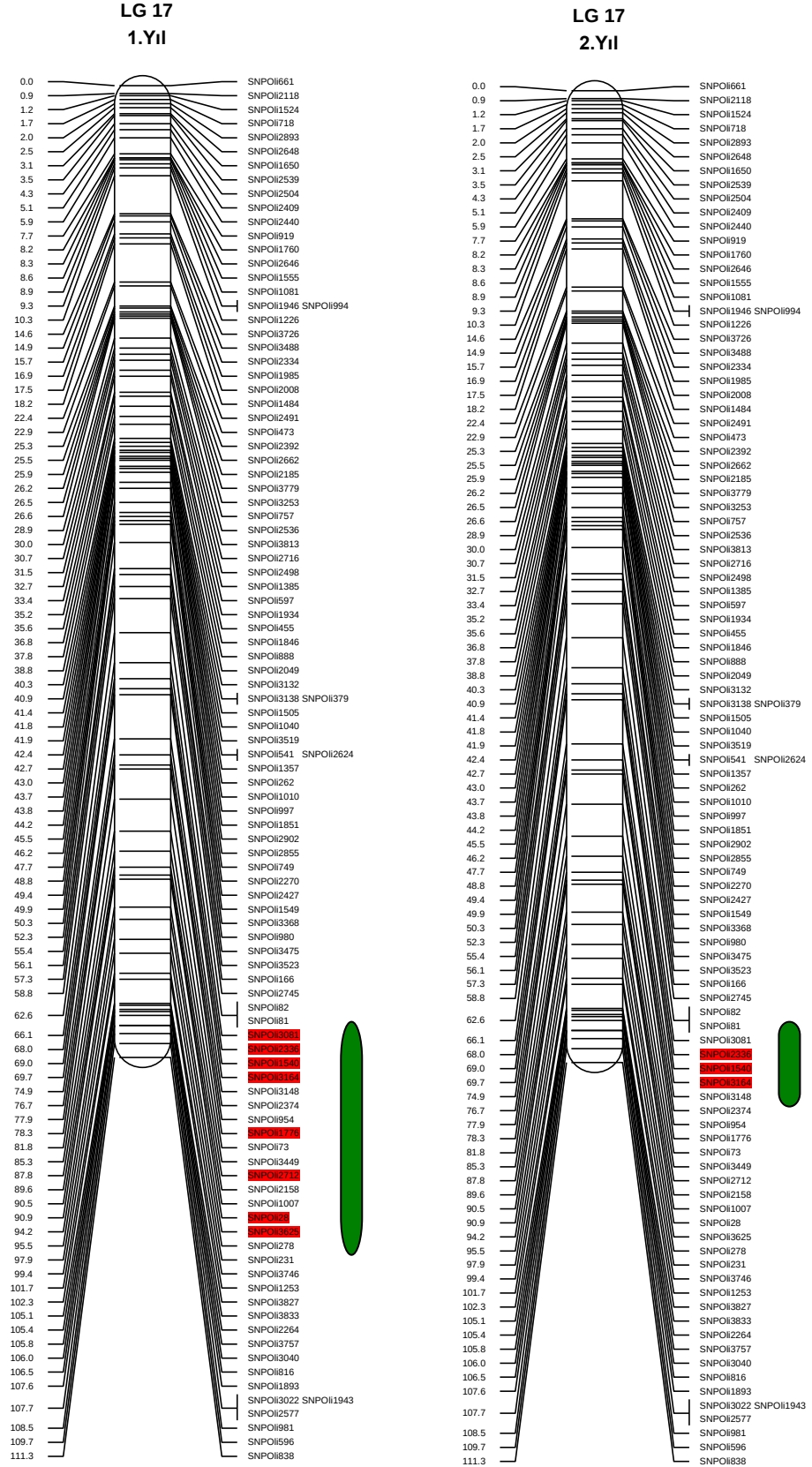
Şekil 4.32. Uslu çeşidi LG1’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri.



Şekil 4.33. Uslu çeşidi LG2’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri.



Şekil 4.34. Uslu çeşidi LG8 ve LG12’de 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri.



Şekil 4.35. Uslu çeşidi LG17’de 1. ve 2. yıl meyve olgunluğuna etki eden QTL bölgeleri.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma Memecik ve Uslu zeytin çeşitlerinin melezlenmesiyle elde edilen 92 F₁ melez bireyde yürütülmüştür. Ebeveynlerle birlikte toplam 94 genotipte yapılan SSR ve DArT-SNP markör analizleri sonucunda her iki ebeveyn için linkage haritalaması gerçekleştirilmiştir. Linkage haritasının oluşturulmasında JOINMAP 4.0 (Kyasma, NL) yazılımı kullanılmış ve double pseudo-testcross haritalama stratejisi esas alınmıştır. Herhangi iki markör arasındaki genetik bağlılığı (linkage) belirlemede LOD = 5 skoru kabul edilmiştir.

Linkage haritalarının oluşturulmasında ideal olan; türün haploid kromozom sayısı kadar bağlantı grubunun elde edilmesidir. Bu çalışma ile, zeytinde ilk defa her iki ebeveynde de zeytinin haploid kromozom sayısı olan 23 linkage grubu elde edilmiştir. Bu konuda daha önce yapılan çalışmalarda; Leccino zeytin çeşidi için 39 linkage grubu, Dolce Agogia için 30 linkage grubu (De la Rosa et al., 2003); Kalamata çeşidi için 23 linkage grubu, Frantoio çeşidi için 27 linkage grubu (Wu et al., 2004); Gemlik çeşidi için 16 linkage grubu (İpek vd., 2008); Picholine Marocaine çeşidi için 40 linkage grubu, Picholine du Languedoc çeşidi için 38 linkage grubu (Aabidine et al., 2010); Oliviere çeşidi için 36 linkage grubu, Arbequina çeşidi için 31 linkage grubu (Khadari et al., 2010); Picual çeşidi için 47, Arbequina çeşidi için 39 linkage grubu (Dominguez-Garcia et al., 2012); Oliviere çeşidi için 25 linkage grubu, Arbequina çeşidi için 21 linkage grubu (Ben Sadok et al., 2013) elde edilmiştir.

İyi bir genetik haritanın tüm genomu kapsaması ve yüksek yoğunlukta markör içermesi gerekmektedir. Bu çalışmada, zeytinde daha önce yapılan genetik haritalama çalışmalarından oldukça fazla sayıda markör geliştirilmiştir. Memecik çeşidi için 2071 markör (2063 SNP, 8 SSR), Uslu çeşidi için ise 1836 markör (1827 SNP, 9 SSR) haritalanmıştır. Her iki ebeveynde haritalanan markör sayısı 13 SSR olmak üzere toplam 3903 olarak gerçekleşmiştir. Dört SSR markörü (Gapu71B, Gapu103A, ssrOeUA-DCA18, PA-ATT-2) hem anaya hem babaya ait haritada yer almıştır.

Linkage gruplarının toplam uzunluğu Memecik çeşidi için 2921.9 cM, Uslu çeşidi için ise 2543.2 cM olarak saptanmıştır. İki markör arası ortalama mesafe Memecik çeşidinde 1.41 cM, Uslu çeşidinde 1.38 cM bulunmuştur.

Zeytinde linkage haritalama konusunda daha önce yapılan çalışmalarda; Leccino çeşidi için harita uzunluğu 2.765 cM, linkage gruplarının içerdiği markör sayısı 249 ve iki markör arası mesafe 13.2 cM; Dolce Agogia çeşidi için harita uzunluğu 2.445 cM, linkage gruplarının içerdiği markör sayısı 236 ve iki markör arası mesafe 11.9 cM (De la Rosa et al., 2003); Frantoio ve Kalamata çeşitleri için harita uzunlukları sırasıyla 798 cM ve 759 cM, haritalamada kullanılan toplam markör sayısı 152 ve iki markör arası mesafe Frantoio çeşidinde 12.3 cM, Kalamata çeşidinde 11.5 cM (Wu et al., 2004); Gemlik çeşidi harita uzunluğu 2891 cM ve haritanın içerdiği toplam markör sayısı 105 (İpek vd., 2008); Picholine marocaine çeşidi için harita uzunluğu 1547.40 cM, linkage gruplarının içerdiği markör sayısı 175 ve iki markör arası mesafe 11.46 cM; Picholine du Languedoc çeşidi için harita uzunluğu 1428.0 cM, linkage gruplarının içerdiği markör sayısı 170 ve iki markör arası mesafe 10.8 cM (Aabidine et al., 2010); Oliviere çeşidi için harita uzunluğu 2210.20 cM, linkage gruplarının içerdiği markör sayısı 222 ve iki markör arası mesafe 11.2 cM, Arbequina çeşidi için harita uzunluğu 1966.2 cM, linkage gruplarının içerdiği markör sayısı 219 ve iki markör arası mesafe 10.3 cM (Khadari et al., 2010); Picual çeşidi için harita uzunluğu 1205.1 cM, linkage gruplarının içerdiği markör sayısı 257 ve iki markör arası mesafe 9.64 cM; Arbequina çeşidi için harita uzunluğu 1639.3 cM, linkage gruplarının içerdiği markör sayısı 392 ve iki markör arası mesafe 8.04 cM (Dominguez-Garcia et al., 2012); Oliviere çeşidi için harita uzunluğu 1745.3 cM, linkage gruplarının içerdiği markör sayısı 212 ve iki markör arası mesafe 8.23 cM; Arbequina çeşidi için harita uzunluğu 1597.6 cM, haritanın içerdiği markör sayısı 252 ve iki markör arası mesafe 6.34 cM (Ben Sadok et al., 2013) olarak belirlenmiştir.

Mevcut çalışma, diğer çalışmalarla kıyaslandığında zeytinde yüksek yoğunlukta genetik haritalama yapılan ilk araştırma niteliği taşımaktadır. Bu sonucun alınmasında, DArT-SNP markör teknolojisinin kullanılmasının oldukça etkili olduğu görülmektedir. Yeni nesil sekanslama teknolojilerindeki gelişmeler

sonucu ortaya çıkan DArT analizi ile çalışılan popülasyonda aynı anda binlerce SNP markörü belirlenmiştir. Bu teknoloji daha önce Dominguez-Garcia et al., (2012) tarafından Picual ve Arbequina zeytin çeşitlerine ait melez popülasyonunda denenmiş olup araştırmacılar toplam 1630 DArT-SNP markörü elde ettiklerini bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada ise toplam 22032 DArT-SNP markörü elde edilmiştir. İki çalışma arasında ortaya çıkan bu farkın ebeveynler arasındaki genetik uzaklıkların farklı olmasına, markör sistemindeki bazı modifikasyonlara ve DArT-SNP analizinde kullanılan DNA'nın miktar ve kalitesindeki değişikliklere bağlı olduğu düşünülmektedir.

Zeytinin kromozom sayısının yüksek olması ($2n=46$), yüksek derecede heterozigot yapı göstermesi ve açılım popülasyonlarındaki gençlik kısırlığı döneminin oldukça uzun olması kantitatif özellik lokuslarının belirlenmesinde en önemli problemi oluşturmaktadır (Bracci et al., 2011; Atienza et al., 2014). Bu nedenle, önemli özelliklerle ilgili çok az bir QTL bilgisi bulunmaktadır. Zeytinde literatüre geçen ilk yurtdışı QTL çalışması Ben Sadok et al., (2013) tarafından gerçekleştirilmiştir. Verime etki eden parametrelerin incelendiği bu çalışmada, 35 aday QTL saptayan araştırmacılar, zeytinde verimliliğin karışık bir genetik ve çevresel kontrol altında olduğunu belirtmişlerdir. Zeytinde QTL'lerin belirlenmesine yönelik yapılan bir diğer çalışma Atienza et al., (2014) tarafından yürütülmüştür. Ağaç kuvveti ve bazı meyve özelliklerinin incelendiği bu çalışma ile Arbequina için 22, Picual için ise 5 aday QTL bölgesi tanımlanmıştır. Araştırmacılar yağ içeriği, nem oranı, meyve et oranı, meyve ağırlığı ve gövde çapına ilişkin belirledikleri bu kantitatif özellik lokusları için açıklanan fenotipik varyasyonun % 12.70 ile % 30.40 arasında değiştiğini ifade etmişlerdir.

Türkiye'de ise zeytin genomu üzerinde QTL belirlemeye yönelik olarak sadece bir çalışma bulunmaktadır. İpek vd., (2008) tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada; Gemlik çeşidinde meyve çekirdek ağırlığı için 3, meyve ağırlığı için 1 ve yağ asitlerinin miktarını etkileyen 7 aday QTL belirlendiği açıklanmıştır ($LOD>2$).

QTL analizleri, fenotipik veriler ile DNA markörlerini birleştiren bir yöntemdir. Başarılı bir QTL haritalama için öncelikle varyasyon oranı yüksek

fenotipik verilere ve yüksek yoğunlukta linkage haritalara sahip olmak gerekmektedir. Toplam markör içeriği oldukça yüksek olan bu araştırma ile zeytinde meyve olgunlaşmasına etkili olduğu düşünülen 39 aday QTL bölgesi belirlenmiştir. Bunların 21'i Memecik çeşidinde (LG2, LG21), 18'i ise Uslu çeşidinde (LG1, LG2, LG8, LG12, LG17) tespit edilmiştir. Çalışmada iki ürün yılı için QTL analizi yapılmıştır.

Meyvede geç olgunlaşmayla ilişkili olan QTL bölgeleri her iki yılda da aynı linkage grupları üzerinde belirlenmiştir. Yıllar arasında QTL bölgeleri açısından bazı farklılıklar görülmekle birlikte 11 markör iki yılda da QTL olarak linkage gruplarında yer almıştır. Her iki yılda da ilk 4 markörün önem sıralamasının aynı olması bu lokusların meyvede geç olgunlaşma üzerinde oldukça etkili olduklarını göstermektedir. Bununla birlikte, çalışmanın ilk yılında geç olgunlaşmayla ilişkili olan 9 markör daha tespit edilmiştir.

Uslu çeşidinde meyvede erken olgunlaşmayla ilişkili olduğu düşünülen 18 markör belirlenmiştir. Bu markörler, genellikle LG1, LG2 ve LG17'de kümelenmişler ancak ikinci ürün yılında LG8 ve LG12'de 1 QTL bölgesi daha belirlenmiştir.

Çalışmada birçok markör iki farklı ürün yılında da aynı linkage grubunda belirlenmiştir. Bu markörlerin, incelenen özellikler bakımından QTL belirlenmesinde etkin oldukları düşünülmektedir. Herhangi bir karakter için aynı QTL'lerin farklı yıl ve çevre şartlarında belirlenmesi arzu edilen bir durumdur. Bununla birlikte, bazı markörler tek ürün yılında tespit edilmiştir. Bilindiği gibi kantitatif özellikler çoklu gen etkisinde olup çevresel faktörlerle birlikte fenotipi yansıtmaktadır. Zeytin meyvelerinin olgunlaşma süresi üzerinde de genetik ve çevresel faktörlerin etkisi yüksektir (Ripa et al., 2008; Inglese et al., 2011). Sıcaklık, toprak nemi, ürün miktarı gibi faktörlere bağlı olarak meyve olgunlaşma süresi değişim göstermektedir. Bu çalışmada da, yıllar arasında bazı markörlerin farklı bulunmasının genotip ve çevre interaksiyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim, popülasyonun kalıtım derecesi $h^2 = 0.77$ olarak belirlenmiş ve meyve olgunluğuna %23'lük bir çevresel etkinin olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak zeytinde yüksek yoğunlukta oluşturulan ilk linkage grupları bu çalışma ile elde edilmiştir. Memecik ve Uslu çeşitlerine ait linkage gruplarında toplam 3903 markör tespit edilerek gelecekte yapılacak genom araştırmaları ve markör destekli seleksiyon (MAS) çalışmaları için oldukça önemli bir zemin hazırlanmıştır. Ayrıca, zeytinde meyve olgunluğuna etki eden 39 aday QTL bölgesinin bulunması (LOD>2) araştırmanın diğer önemli bir çıktısını oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adam-Blondon, A.-F., Roux, C., Claux, D., Butterlin, G., Merdinoğlu, D. and This, P.,** 2004, Mapping 245 SSR Markers on The *Vitis vinifera* Genome: A Tool for Grape Genetics. *Theor. Appl. Genet.*, 109(5): 1017-1027.
- Ait Yacine Z., Hilali S. and Serhrouchni M.,** 2001, Olive harvest date in the Tadla Area: A study of some decisive parameters, *Olivae*, 88:39-45.
- Anonymous,** 2015, FAO Statistical Databases, www.fao.org.
- Anonymous,** 2015, https://www.diversityarrays.com/files/DArT_DNA_isolation.pdf.
- Akarsu, A.N.,** 2004, Psikiyatrik genetik araştırmalarda kullanılabilecek genetik yöntemler: II. Hastalıkların genetik modellemesi, *3P Dergisi*, 12(1), 8-19.
- Akyüz, M.A.,** 2012, Antepfıstığındasi Siirt X Bağyolu F1 Populasyonu Kullanılarak SSR Markörleri ile Genetik Haritalama. Çukurova Üniversitesi, Fenbilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Alba, V., Sabetta, W., Blanco, A., Pasqualone, A. and Montemurro, C.,** 2009, Microsatellite markers to identify specific alleles in DNA extracted from monovarietal virgin olive oils. *Eur Food Res Technol* 229:375–382.
- Altınkut, A.,** 2001, Bitki Biyogüvenlik Araştırmaları Eğitim Programı. Moleküler Biyolojiye Giriş, Cilt 1. Gen Müh. ve Biyoteknoloji Araş. Ens., 100 s.
- Arsel, A.H., Özahçı, E., Ersoy, M.N., Özyılmaz, H. ve Ersoy, B.,** 2001, Zeytinde adaptasyon. Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü. Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Bornova /İzmir.
- Asins, M.J.,** 2002, Present and Future of Quantitative Trait Locus Analysis in Plant Breeding. *Plant Breeding*, 121: 281-291.
- Aslan, N.,** 2012, Amasya elmasında SSR markörleri ile genetik haritalama. Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Atienza, S.G., Rosa, R. de la., Leo'n, L., Martı'n, A. and Belaj, A.,** 2014, Identification of QTL for agronomic traits of importance for olive breeding. *Mol Breeding* DOI 10.1007/s11032-014-0070-y.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Baldoni, L., Tosti, N., Ricciolini, C., Belaj, A., Arcioni, S., Panelli, G., Germana, MA., Mulas, M. and Porceddu, A.,** 2006, Genetic structure of wild and cultivated olives in the central Mediterranean basin. *Annals of Botany (Lond)* 98:935–942.
- Bartolini, G.,** 2008, Oleadatabases. Available at:<http://www.oleadb.it>.
- Beedanagari, S. R., Dove S. K., Wood B. W. and Conner, PJ.,** 2005, A first linkage map of pecan cultivars based on RAPD and AFLP markers. *Theor. Appl. Genet.* 110, 1127–1137.
- Belaj, A., Domínguez-García, M.C., Atienza, S.G., Martín-Urdíroz, N., De la Rosa, R., Satovic, Z., Martín, A., Kilian, A., Trujillo, I., Valpuesta, V. and Del Río, C.,** 2011, Developing a core collection of olive (*Olea europaea*L.) based on molecular markers (DArTs, SSRs, SNPs) and agronomic traits. *Tree Genet. Genomes*. Doi: 10.1007/s11295-011-0447-6.
- Ben Sadok, I., Celton, J-M., Essalouh, L., Zine El Aabidine, A., Garcia, G., Martinez, S., Grati-Kamoun, N., Rebai, A., Costes, E. and Khadari, B.,** 2013, QTL mapping of flowering and fruiting traits in olive. *PLoS ONE* 8(5):e62831.
- Besnard, G., Baradat, P. and Berville, A.,** 2001, Genetic relationships in the olive (*Olea europaea*L.) reflect multilocal selection of cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 251–258.
- Bitonti, M.B., Cozza, R., Chiappetta, A., Contento, A., Mineli, S., Ceccarelli, M., Gelati, M.T., Maggini, F., Baldoni, L. and Cionini, P.G.,** 1999, Amount and organization of the heterochromatin in *Olea europaea* and related species. *Heredity* 83:188–195.
- Boskou, D.,** 1996, Olive oil chemistry and technology. history and characteristics of the olive tree. AOCS Press, Champaign, Illinois: 1 - 6.
- Bracci, T., Busconi, M., Fogher, C. and Sebastiani, L.,** 2011, Molecular studies in olive (*Olea europaea* L.): overview on DNA markers applications and recent advances in genome analysis. *Plant Cell Reports* April 2011, Volume 30, Issue 4, pp 449-462.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Canözer, Ö.**, 1991, Standard Zeytin Çeşitleri Kataloğu. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Yayınları. No: 334, Seri :16.
- Carlier, JD., Reis, A., Duval, MF., d'Eeckenbrugge, GC. and Leitão, JM.**, 2004, Genetic maps of RAPD, AFLP and ISSR markers in *Ananas bracteatus* and *A. comosus* using the pseudo-testcross strategy. *Plant Breed* 123: 186–192.
- Carlier, JD., Nacheva, D., d'Eeckenbrugge, GC. and Leitão, JM.**, 2006, Genetic mapping of DNA markers in pineapple. *Acta Hort* 702: 79-86.
- Cervera, M.T., Storme, V., Ivens, B., Gusmao, J., Liu, B.H., Hostyn, V., Slycken, J.V., Montagu, M.V. and Boerjan, W.**, 2001, Dense Genetic Linkage maps of Three *Populus* Species (*Populus deltoides*, *P. nigra* and *P. trichocarpa*) Based on AFLP and Microsatellite Markers. *Genetics*, 158: 787–809.
- Collard, B.C.Y., Mackill, D.J.**, 2008, Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 57-572 363.
- Costaa, F., Cappellina, L., Farnetib, B., Tadielloa, A., Romanoa, A., Soukoulisa, C., Sansavinib, S., Velascoa, R. and Biasioli, F.**, 2014, Advances in QTL mapping for ethylene production in apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Postharvest Biology and Technology* 87 (2014) 126–132.
- Çetin, Ö.**, 2012, Zeytin (*Olea Europaea* L.) Genotiplerinin DNA Markörleri Yardımı ile Karakterizasyonu. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Doktora Tezi.
- D. Clark, M., A. Schmitz, C., Rosyara, UR., Luby, J. J. and Bradeen, J. M.**, 2014, A consensus ‘Honeycrisp’ apple (*Malus × domestica*) genetic linkage map from three full-sib progeny populations. *Tree Genetics & Genomes*. 10:627–639 DOI 10.1007/s11295-014-0709-1.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- De la Rosa, R., Angiolillo, A., Guerrero, C., Pellegrini, M., Rallo, L., Besnard, G., Bervillé, A., Martin, A. and Baldoni, L.,** 2003, A first linkage map of olive (*Olea europea* L.) cultivars using RAPD, AFLP, RFLP and SSR markers. *Theor. Appl. Genet*, 106: 1273–1282.
- Delgado-Martinez, J., Amaya, I., Sánchez-Sevilla, J.F. and Gomez-Jimenez, M.C.,** 2012, Microsatellite marker-based identification and genetic relationships of olive cultivars from the Extremadura region of Spain. *Genet. Mol. Res.* 11 (2): 918-932
- Dhanapal, AP., Martinez-Garcia, PJ., Gradziel, T. and Crisosto, CH.,** 2012, First genetic linkage map of chilling injury susceptibility in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) fruit with SSR and SNP markers. *J Plant Sci Mol Breed* 1:3.
- Dolezel, J., Bartos, J., Voglmayr, H. and Greilhuber, J.,** 2003, Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry Part A* 51A: 127–128.
- Doligez, A., Bouquet, A., Danglot, Y., Lahogue, F., Riaz, S., Meredith, C.P., Edwards, K.J. and This, P.,** 2002, Genetic Mapping of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. *Theor. Appl. Genet.*, 105: 780-795.
- Dominguez-Garcia, M.C., Belaj, A., de la Rosa, R., Satovic, Z., Heller-Uszynska, K., Kilian, A., Martin, A. and Atienza, S.G.,** 2012, Development of DArT markers in olive (*Olea europaea* L.) and usefulness in variability studies and genome mapping. *Scientia Horticulturae* (2012). 136, 50-60.
- Dondini, L., Lain, O., Vendramin, V., Rizzo, M., Vivoli, D., Adami, M., Guidarelli, M., Gaiotti, F., Palmisano, F., Bazzoni, A., Boscia, D., Geuna, F., Tartarini, S., Negri, P., Castellano, M. and Savino, V.,** 2010, Identification of QTL for resistance to plum pox virus strains M and D in Lito and Harcot apricot cultivars, *Mol Breeding*, DOI 10.1007/s11032-010-9431-3.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Douclet, M., Jin, Y., Gao, F., Riaz, S., Krivanek, A.F. and Walker, M.A.,** 2004, A Genetic Linkage Map of Grape, Utilizing *Vitis rupestris* and *Vitis arizonica*. Theor. Appl. Genet., 109: 1178-1187
- El Aabidine, A.Z.; Charafi, J.; Grout, C.; Doligez, A.; Santoni, S.; Moukhli, A.; Jay-Allemand, C.; El Modafar, C. and Khadari, B.,** 2010, Construction of a genetic linkage map for the olive based on AFLP and SSR markers, Crop Science Vol. 50, No. 6, pp. 2291-2302. ISSN 1435-0645.
- Ersoy B.,** 2005, Zeytinyağı Teknolojisi Kurs Kitabı, Zeytincilik Araştırma Enstitüsü, Bornova-İzmir. Pp: 18.
- Fanizza, G., Lamaj, F., Costantini, L., Chaabane, R. and Grando, M.S.,** 2005, QTL Analysis for Fruit Yield Components in Table Grapes (*Vitis vinifera*). Theor Appl. Genet., 111: 658-664.
- Fischer, B.M., Slakhutdinov, I., Akkurt, M., Eibach, R., Edwards, K.J., Töpfer, R. and Zyprian, E.M.,** 2004, Quantitative Trait 164 Locus Analysis of Fungal Disease Resistance Factor on a Molecular Map of Grapevine. Theor. Appl. Genet., 108: 501-515.
- Flahault, R.,** 1986, L' Olivier , Ann. Ecole Nat. Agric. t. II. Montpellier.
- Graham, J., Smith, K., MacKenzie, K., Jorgenson, L., Hackett, C. and Powell, W.,** 2004, The construction of a genetic linkage map of red raspberry (*Rubus idaeus* subsp. *idaeus*) based on AFLPs, genomic-SSR and EST-SSR markers. Theor Appl Genet 109:740-749
- Grando, M.S., Bellin, D., Edwards, K.J., Pozzi, C., Stefanini, M. and Velasco, R.,** 2003, Molecular Linkage Maps of *Vitis vinifera* L. and *Vitis riparia* Michx. Theor. Appl. Genet., 106 (7): 1213-224.
- Grattapaglia, D. and Sederoff, R.,** 1994, Genetic Linkage Maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using A Pseudo-Testcross: Mapping Strategy and RAPD Markers. Genet i cs, 137: 1121-1137.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Green, P.S. and Wickens, G.E.**, 1989, The *Olea europaea* complex. In: Kit Tan (ed) The Davis & Hedge Festschrift. Edinburgh University Press, Edinburgh, pp 287-299.
- Gülşen, O. ve Mutlu, N.**, 2005, Bitki biliminde kullanılan genetik markırlar ve kullanım alanları. Alatarım 4(2):27-37.
- Gulsen, O., Uzun, A., Seday, U. ve Kafa, G.**, 2011, QTL analysis and regression model for estimating fruit setting in young Citrus trees based on molecular markers. Scientia Horticulturae 130 (2011) 418–424.
- Harbi, I., Jaber Al-Awadi, S. and Mohammad Moner, A.**, 2012, Molecular Characterization of Olive Cultivars in Iraq Using SSR Markers and Compare with Phenotypic Characterization. Journal of Life Sciences 6 1343-1350.
- Hemmat, M., Weeden, N.F., Manganaris, A.G. and Lawson, D.M.**, 1994, Molecular Marker Linkage Map for Apple. J. Hered., 85: 4-11.
- Hippolyte, I., Bakry, F., Seguin, M., Garden, L., Rivallan, R., Risterucci, A.M., Jenny, C., Perrier, X., Carreel, F., Argout, X., Piffanelli, P., Khan, I.A., Miller, R.N.G., Pappas, G.J., Mbéguié-A-Mbéguié, D., Matsumoto, T., De Bernardinis, V., Huttner, E., Kilian, A., Baurens, F.C., D'Hont, A., Cote, F., Courtois, B. and Glaszmann, A.C.**, 2010, A saturated SSR/Dart linkage map of *Musa acuminata* addressing genome rearrangements among bananas. BMC Plant Biol.
- Hurtado, M.A., Westman, A., Beck, E., Abbott, G.A., Llacer, G. and Badenes, M.L.**, 2002, Genetic diversity in apricot cultivars based on AFLP markers. Euphytica 127 (2): 297–301.
- Inglese, P., Famiani, F., Galvano, F., Servili, M., Esposto, S. and Urbani, S.**, 2011, Factors Affecting Extra-Virgin Olive Oil Composition. Horticultural Reviews, Volume 38.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- İpek, A., Gülen, H., Barut, E., Yalçinkaya, E., Öz, A.T. ve A.Tangu, N.,** 2008, Moleküler markörler kullanılarak önemli bazı standart zeytin çeşit ve melezlerinin DNA profillerinin belirlenmesi ve gen haritasının çıkarılması. Proje No: TOVAG-105 O 071. 67s.
- İşçi, B.,** 2007, Asma (*Vitis Vinifera L.*)'da Genom Haritalaması: Önemli Morfolojik Karakterlere Ve Fungal Kökenli Hastalıklara Yönelik AFLP ve SSR Linkage Gruplarının Oluşturulması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Doktora Tezi.
- Janick, J. and Moore J.N.,** 1996, Fruit breeding, John Wiley and Sons, New York.
- Jun, J.H., Chung, K.H., Jeong, S.B. and Lee. H.J.,** 2002, Development of RAPD and SCAR markers linked to flesh adhesion gene in peach. XXVI International Horticultural Congress.
- Kenis, K. and Keulemans, J.,** 2005, Genetic linkage maps of two apple cultivars (*Malus x domestica* Borkh.) based on AFLP and microsatellite markers. Mol Breed 15: 205–219.
- Khadari, B., El Aabidine, A.Z. and Grout, C.,** 2010, A Genetic Linkage Map of Olive Based on Amplified Fragment Length Polymorphism, Intersimple Sequence Repeat and Simple Sequence Repeat Markers J. Am. Soc. Hort. Sci., 135(6):548-555.
- Khan, M.A., Duffy, B., Gessler, C. and Patocchi, A.,** 2006, QTL mapping of fire blight resistance in apple, Molecular Breeding, 17:299–306.
- Lambert, P., Hagen, L.S., Arús, P. and Audergon, J.M.,** 2004, Genetic Linkage Maps Of Two Apricot Cultivars (*Prunus Armeniaca L.*) Compared With The Almond Texas × Peach Earlygold Reference Map For *Prunus*. Theor Appl Genet 108, 1120-1130. Doi: 10.1007/S00122-003-1526-3.
- Lavee, S.,** 1998, Zeytinin biyoloji ve fizyolojisi. Dünya Zeytin Ansiklopedisi Uluslararası Zeytinyağı Konseyi, İspanya, s: 61-110.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Liu, Z., Guo, X., Guo, Y., Lin, H., Zhang, P., Zhao, Y., Li, K. and Li, C.,** 2013, Ssr And Srap Marker Based Linkage Map Of Vitis Amurensis Rupr. Pak. J. Bot., 45(1): 191-195.
- Loureiro, J., Rodriguez, E., Costa, A. and Santos, C.,** 2007, Nuclear DNA content estimations in wild olive (*Olea europaea* L. ssp. *europaea* var. *sylvestris* Brot.) and Portuguese cultivars of *O. europaea* using flow cytometry. Genet Resour Crop Evol 54:21–25.
- Malvolti, M.E., Fornari, B., Maccaglia, E. and Cannata, F.,** 2001, Genetic linkage mapping in an intraspecific cross of walnut (*Juglans regia* L.) using molecular markers. Act. Hort., 544: 179-185.
- Pacheco, I., Bassi, D., Eduardo, I., Ciacciulli, A., Pirona, R., Rossini, L. and Vecchietti, A.,** 2014, QTL mapping for brown rot (*Monilinia fructigena*) resistance in an intraspecific peach (*Prunus persica* L. Batsch) F1 progeny. Tree Genetics and Genomes DOI 10.1007/s11295-014-0756-7.
- Pour, E. Z. M.,** 2013, Mikrosatellit markörleri ile Amasya elmasının genetik bağlantı gruplarının oluşturulması. Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoteknoloji Bölümü. Biyoteknoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Potts, S. M., Khan, M.A., Han, Y., Kushad, M.M. and Korban, S.S.,** 2014, Identification of Quantitative Trait Loci (QTLs) for Fruit Quality Traits in Apple. Plant Molecular Biology Reporter .Volume 32, Issue 1, pp 109-116.
- Ravetti, L.,** 2008, Guide to efficient olive harvesting. Barton, A.C.T. : Rural Industries Research and Development Corporation.
- Ripa, V., Rose, F.D., Caravita, M.L., Parise, M.R., Perri, E., Rosati, A., Pandolfi, S., Paoletti, A., Pannelli, G., Padula, G., Giordani, E., Bellini, E., Buccoliero, A. and Mennone C.,** 2008, Qualitative evaluation of olive oils from new olive selections and effects of genotype and environment on oil quality. Adv. Hort. Sci. 22 (2):95–103.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Riaz, S., Dnagl, G.S., Edwards, K.J. and Meredith, C.P.,** 2004, A Microsatellite Marker Based Framework Linkage Map of *Vitis vinifera* L. Theor. Appl. Genet., 108: 864-872.
- Rugini, E., Panelli, G., Ceccarelli, M. and Muganu, M.,** 1996, Isolation of triploid and tetraploid olive (*Olea europaea* L.) plants from mixoploid cv. 'Frantoio' and 'Leccino' mutants by in vivo and in vitro selection. Plant Breed 115:23-27.
- Santos Antunes, A.F., Le'ón, L., De la Rosa, R., Alvarado, J., Mohedo, A., Trujillo, I. and Rallo, L.,** 2005, The length of juvenile period in olive as influenced by vigor of the seedlings and the precocity of parents. HortScience 40, 1213-1215.
- Semagn, K, Bjørnstad, A. and Ndjiondjop, M. N.,** 2006, An overview of molecular marker methods for plants. African Journal of Biotechnology Vol. 5 (25) pp. 2540-2568 29.
- Scott, L.J., Shepherd, M., Nikles, D.G. and Henry, R.J.,** 2005, Low efficiency of pseudo-test-cross mapping design was consistent with limited genetic diversity and low heterozygosity in hoop pine (*Araucaria cunninghamii* Araucariaceae). Tree Genet. Genomes 1:124-134.
- Silva, C., García-Mas, J., Sánchez A. M., Arús, P. and Oliveira M. M.,** 2005, Looking into flowering time in almond (*Prunus dulcis* (Mill) D. A. Webb): the candidate gene approach. Theor. Appl. Genet. 110, 959-968.
- Schouten, H.J., Van De Weg, W.E., Carling, J., Khan, A.S., McKay, S.J., Van, Kaauwen M.P.W., Wittenberg, A. H J., Putten, H J J K., Noordijk, Y., Gao, Z., Rees, D J G., Dyk, M M V., Jaccoud, D., Considine, M J. and Kilian, A.,** 2012, Diversity arrays technology (DArT) markers in apple for genetic linkage maps. Mol. Breed. 29: 645-660.
- Sun, L., Yang, W., Zhang, Q., Cheng, T., Pan, H., Xu, Z., Zhang, J. and Chen, C.,** 2013, Genome-wide characterization and linkage mapping of simple sequence repeats in Mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.). PLoS ONE 8(3):e59562. doi:10.1371/ journal.pone.0059562.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tavassolian, I., Rabiei, G., Gregory, D., Mnejja, M., Wirthensohn, MG., Hunt, PW., Gibson, JP., Ford, CM., Sedgley, M. and Wu, SB.,** 2010, Construction of an almond linkage map in an Australian population Nonpareil $\times$ Lauranne. BMC Genomics 2010, 11:551.
- Topuz, H. ve Durmuşoğlu, E.,** 2008, The effect of early harvest on infestation rate of *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) as well as yield, acidity and fatty acid composition of olive oil. - Journal of Plant Diseases and Protection, 115 (4): 186-191.
- Turunç, A. ve Kaçar, Y. A.,** 2013, Klemantin Mandarininde (*Citrus Clementina Blanco*) Ssr Markörleri İle Genetik Haritalama. Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi Yıl:2013 Cilt:29-2.
- Turrill, W.B.,** 1951, Wild and cultivated olives. Brit. Ass. Adv. Sci. Kew Bull., 3, 437.
- Türkeli, Y.,** 2010, Pistacia vera L. X Pistacia Atlantica Desf. Melez Populasyonunda Genetik Haritalama. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Doktora Tezi.
- Venkateswarlu, M., Raje, US., Surendra, NB., Shashidhar, HE., Maheswaran, M., Veeraiah, TM. and Sabitha, MG.,** 2006, A first genetic linkage map of mulberry (*Morus spp.*) using RAPD, ISSR and SSR markers and pseudotestcross mapping strategy. Tree Genet. Geno. 3:15-24.
- Vienne, D.,** 2003, Constructi on of Genet i c Linkage Maps. In: Mol ecular Markers in Plant Genet i cs and Bi otechnol ogy D. Vi enne (ed.) Sci ence Publishers Inc. pp. 47-79.
- Vieira, EA., Nodari, RO., Dantas, ACM., Ducroquet, JPHJ., Dalbó, M. and Borges, C.V.,** 2005, Genetic mapping of Japanese plum Crop Breeding and Applied Biotechnology 5: 29-37.
- Vilanova, S., Romero, C., Abbott, A.G., Llácer, G. and Badenes, M.L.,** 2003, An Apricot (*Prunus Armeniaca* L.) F2 Progeny Linkage Map Based On Ssr And Aflp Plum Pox Virus Resistance And Self-Incompatibility Traits. Theor Appl Genet 107, 239-247. Doi: 10.1007/S00122-003- 1243-Y.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Weber, C.A., Moore, G.A., Deng, Z. and Gmitter, F.G.,** 2003, Mapping freeze tolerance quantitative trait loci in a *Citrus grandis* x *Poncirus trifoliata* F1 pseudo-testcross using molecular markers. *Journal of the American Society of Horticultural Science*. 128/4: 508 -514.
- Wu, S-B., Collins, G. and Sedgley, M.,** 2004, A molecular linkage map of olive (*Olea europaea* L.) based on RAPD, microsatellite, and SCAR markers, *Genome* vol: 47. p: 26-35.
- Yaşa, Z.,** 2005, Asma (*Vitis Vinifera* L.)’da Önemli Vegetatif ve Generatif Karakterler İle Hastalıklara Dayanım Özelliklerine Yönelik Genom Haritalaması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı. Doktora Tezi.
- Zhao, Y., Lin, H., Guo, Y., Liu, Z., Guo, X. and Li, K.,** 2013, Genetic Linkage Maps Of Pear Based On Snp Markers. *Pak. J. Bot.*, 45(4): 1265-1271.
- Zhang, G., Sebolt, AM., Sooriyapathirana, SS., Wang, D., Bink, MCAM., Olmstead, JW. and Iezzoni, AF.,** 2010, Fruit size QTL analysis in an F1 population derived from a cross between a domesticated sweet cherry cultivar and a wild forest sweet cherry. *Tree Genetics and Genomes* 6:25-36.

ÖZGEÇMİŞ

Nurengin METE 1975 yılında Samsun’da doğdu. 1999 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü’nde lisans eğitimini, 2009 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü’nde Yüksek Lisans öğrenimini tamamlamıştır. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Zeytincilik Araştırma İstasyonu’nda 2002 yılından itibaren Islah bölümünde görev yapmaktadır. Yabancı dili İngilizce olup, evli ve iki çocuk babasıdır.