

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Filiz BAYSAL

**FARKLI ZEYTİN (*Olea europaea* L.) ÇEŞİTLERİNDE *OeCHLP* GENİ
EKSPRESYON SEVİYESİ İLE BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİN
BELİRLENMESİ**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2019

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

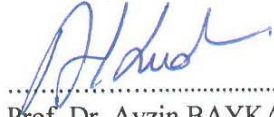
**FARKLI ZEYTİN (*Olea europaea* L.) ÇEŞİTLERİNDE *OeCHLP* GENİ
EKSPRESYON SEVİYESİ İLE BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİN
BELİRLENMESİ**

Filiz BAYSAL

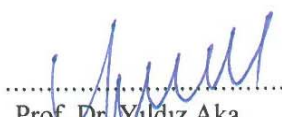
DOKTORA TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 04/01/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.



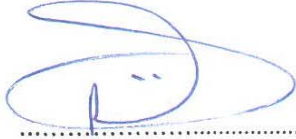
Prof. Dr. Ayzin BAYKAM
KÜDEN
DANIŞMAN



Prof. Dr. Yıldız Aka
KAÇAR
ÜYE



Doc. Dr. Mücahit Taha
ÖZKAYA
ÜYE



Prof. Dr. Ali KÜDEN
ÜYE



Prof. Dr. Celil TOPLU
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

FARKLI ZEYTİN (*Olea europaea* L.) ÇEŞİTLERİNDE *OeCHLP* GENİ EKSPRESYON SEVİYESİ İLE BAZI KİMYASAL ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ

Filiz BAYSAL

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Ayzin BAYKAM KÜDEN
Yıl: 2019, Sayfa: 123
Jüri : Prof. Dr. Ayzin BAYKAM KÜDEN
: Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Doç. Dr. Mücahit Taha ÖZKAYA
: Prof. Dr. Ali KÜDEN
: Prof. Dr. Celil TOPLU

Bu çalışma, 2017 ve 2018 yılları arasında Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nde yürütülmüştür. Çalışmada, “Zeytin Genetik Kaynakları Koruma Parseli'nde” yeralan 39 zeytin çeşidi örneklerinde geranylgeranyl reduktaz (*OeCHL P*) geninin ekspresyon seviyeleri iki olum aşamasında (yeşil ve siyah olum) belirlenmiştir. RT-PCR analizleri sonucunda *OeCHL P* transkripsiyon seviyesi en yüksek beş çeşitte fenolik bileşik (hydroxytyrosol, tyrosol ve oleuropein) ve α -tokoferol miktarları iki yıl süreyle araştırılmıştır.

2017 yılı yeşil olum döneminde Sinop No 5 (1,00) ve Uslu (3,01), siyah olum döneminde Girit Zeytini (1,17), İzmir Sofralık (1,07) ve Çilli (1,04) çeşitleri en yüksek gen ekspresyon seviyelerine sahip olmuşlardır.

2018 yılında Uslu (2,96) ve Sinop No 5 (2,52) çeşitleri yeşil olum döneminde, Çilli (2,75) ve Nizip Yağlık (2,05) çeşitleri siyah olum döneminde, Eşek Zeytini (Ödemiş) (1,60-2,95) ise her iki olum döneminde gen ekspresyonu yüksek çeşitler olarak bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda *OeCHL P* gen ekspresyon seviyelerinin yıllara, çeşitlere ve olgunluk aşamalarına göre değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca çeşitlerin fenolik bileşik içerikleri olgunlukla azalmış, α -tokoferol içerikleri ise çeşitlerin çoğunda olgunlukla azalırken, bazılarında artmıştır.

Anahtar Kelimeler: Zeytin, *OeCHL P*, qRT-PCR, α -tokoferol, fenolik bileşik

ABSTRACT

PhD THESIS

DETERMINATION OF *OeCHLP* GENE EXPRESSION LEVEL AND SOME CHEMICAL PROPERTIES ON DIFFERENT OLIVE (*Olea europaea L.*) VARIETIES

Filiz BAYSAL

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

Supervisor : Prof. Dr. Ayzin BAYKAM KÜDEN
Year: 2019, Pages: 123
Jury : Prof. Dr. Ayzin BAYKAM KÜDEN
: Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Assoc. Prof. Mücahit Taha ÖZKAYA
: Prof. Dr. Ali KÜDEN
: Prof. Dr. Celil TOPLU

Expression levels of geranylgeranyl reductase (*OeCHL P*) gene were determined in two maturation period (green and black) of 39 olive types obtained from Bornova Olive Research Center ‘‘Olive Genetic Resource Conservation Parcel’’ in 2017 and 2018. As a result of RT-PCR analysis, the phenolic compound and α -tocopherol contents were investigated in five types with the highest level of *OeCHL P* transcription for two years.

In 2017, the green maturation period Sinop No 5 (1,00) and Uslu (3,01), in the black maturation period Girit Olive (1,17), İzmir Table Olive (1,07) and Çilli (1,04) gave the highest gene expression levels.

In 2018, the highest gene expression was obtained from Uslu (2,96) and Sinop No 5 (2,52) in green maturation period, Çilli (2,75) and Nizip Oil Olive (2,05) in black maturation period, Eşek Olive (Ödemiş) (1,60-2,95) in both maturation periods.

In conclusion, it is found that *OeCHL P* gene expression depends on the years, varieties and maturation levels. Also, the amount of the phenolic compound of the varieties was decreased with the maturation period while a tokoferol content was increased in the main varieties except few others.

Key Words: Olive, *OeCHL P*, qRT-PCR, α -tocopherol, phenolic compounds

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bu çalışma, 2017 ve 2018 yılları arasında Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nde yürütülmüştür. Çalışmada, ‘‘Zeytin Genetik Kaynakları Koruma Parseli’nde’’ yeralan 39 zeytin çeşidi örneklerinde geranylgeranyl reduktaz (*OeCHL P*) geninin ekspresyon seviyeleri iki olum aşamasında (yeşil ve siyah olum) belirlenmiştir. RT-PCR analizleri sonucunda *OeCHL P* transkripsiyon seviyesi en yüksek beş çeşitte fenolik bileşik (hydroxytyrosol, tyrosol ve oleuropein) ve α -tokoferol miktarları iki yıl süreyle araştırılmıştır.

2017 yılı yeşil olum döneminde Sinop No 5 (1,00) ve Uslu (3,01), siyah olum döneminde Girit Zeytini (1,17), İzmir Sofralık (1,07) ve Çilli (1,04) çeşitleri en yüksek gen ekspresyon seviyelerine sahip olmuşlardır. Girit Zeytini (362,14 mg/kg (toplam yağ)) siyah olum döneminde α -tokoferol içeriği en yüksek çeşit olarak belirlenirken, en düşük çeşit olarak yeşil olum döneminde İzmir Sofralık (146,55 mg/kg (toplam yağ)) çeşidi belirlenmiştir. Oleuropein içeriğine en yüksek Girit Zeytin (65,67 mg/g) çeşidinin yeşil olum döneminde saptanmış olup, en düşük ise siyah olum döneminin Çilli (3,73 mg/g) çeşidinde belirlenmiştir. En yüksek hydroxytyrosol içeriğini siyah olum döneminde Uslu (2,87 mg/g) verirken, en düşük miktarı yeşil olum döneminde Sinop No 5 çeşidi (1,53 mg/g) vermiştir. En yüksek tyrosol içeriğine siyah olum döneminde Girit Zeytini (1,66 mg/g), en düşük değere ise, İzmir Sofralık (0,15 mg/g) çeşidi yeşil olum döneminde sahip olmuştur.

2018 yılında Uslu (2,96) ve Sinop No 5 (2,52) çeşitleri yeşil olum döneminde, Çilli (2,75) ve Nizip Yağlık (2,05) çeşitleri siyah olum döneminde, Eşek Zeytini (Ödemiş) (1,60-2,95) ise her iki olum döneminde gen ekspresyonu yüksek çeşitler olarak bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda *OeCHL P* gen ekspresyon seviyelerinin yıllara, çeşitlere ve olgunluk aşamalarına göre değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca çeşitlerin fenolik bileşik içerikleri olgunlukla azalmış, α -tokoferol içerikleri ise çeşitlerin çoğunda olgunlukla azalırken, bazılarında

artmıştır. İkinci yıl en yüksek α - tokoferol içeriği Eşek Zeytini (Ödemiş) (250,44 mg/kg (toplam yağ)) çeşidinin siyah olum döneminde belirlenirken, en düşük miktar Nizip Yağlık (175,13 mg/kg (toplam yağ)) çeşidinin yeşil olum döneminde saptanmıştır. En yüksek oleuropein içeriğine yeşil olum döneminde 43,11 mg/g ile Eşek Zeytini (Ödemiş) sahip olurken, en düşük miktara siyah olum döneminde 2,99 mg/g ile Çilli çeşidi sahip olmuştur. En yüksek hydroxytyrosol içeriğini Eşek Zeytini (Ödemiş) (2,60 mg/g) siyah olum döneminde gösterirken, en düşük değer yeşil olum döneminde yine Eşek Zeytininde (Ödemiş) (1,32 mg/g) olmuştur. En yüksek tyrosol içeriğine yeşil olum döneminde Uslu (1,06 mg/g), en düşük değere ise, Nizip Yağlık (0,09 mg/g) çeşidi yeşil olum döneminde sahip olmuştur.

Bu çalışma sonucunda *OeCHL P* gen ekspresyon seviyelerinin yıllara, çeşitlere ve olgunluk aşamalarına göre değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca çeşitlerin fenolik bileşik içerikleri olgunlukla azalmış, α - tokoferol içerikleri ise çeşitlerin çoğunda olgunlukla azalırken, bazılarında artmıştır.

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardımını esirgemeyen ve bana “Farklı Zeytin (*Olea europae* L.) Çeşitlerinde *OeCHL P* Geni Ekspresyon Seviyesi ile Bazı Kimyasal Özelliklerin Belirlenmesi” konulu doktora tezini veren, yapıcı ve yönlendirici fikirleri ile bana daima yol gösteren, en umutsuz olduğum zamanda bana yardım elini uzatan ve hakkını hiçbir zaman unutmayacağım Sevgili danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ayzin BAYKAM KÜDEN’e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Doktora Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın Prof Dr. Yıldız AKA KAÇAR’a çalışmamın tüm aşamalarında yönlendirici ve olumlu katkılarından dolayı teşekkür ederim. Yine Doktora Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın Doç. Dr. Mücahit Taha ÖZKAYA’ya verdiği yapıcı ve yönlendirici destek ve konuşmalarından dolayı sonsuz teşekkürleri bir borç bilirim. Ayrıca, diğer tez savunma jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. Ali KÜDEN ve Prof. Dr. Celil TOPLU’ya katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Doktora tez çalışmama genetik materyal sağlayan İzmir Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürü Dr. Ünal Kaya ve tezimin her aşamasında yanımda ve arkamda olan sevgili dostlarım ve meslektaşlarım Dr. Öznur ÇETİN ve Dr. Nurengin METE, Zir. Yük. Müh. Çiğdem CEREN ve Zir. Yük. Müh. Oktay Sezgin’e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezim süresince bana destek veren ve eşsiz bilgileriyle bu yolda ilerlememe destek veren Biyolog Dr. Sevinç SÜRER, Gıda Yük. Müh. Evren Çağlar EROĞLU ve Gıda Yük. Müh. Ali Tekin’e çok teşekkür ederim.

Doktora çalışmam esnasında bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanlığı’na içten teşekkürlerimi sunarım. Bu zorlu ama bir o kadarda öğretici süreçte her zaman yanımda olan ve bana maddi-manevi destek veren babam, annem ve kardeşlerime teşekkürlerimi, sevgi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	15
2.1. Fenolik Bileşikler ve Tokoferolün (Vitamin E) Bitki Metabolizmasındaki İşlevleri ve Bu Yönde Yapılan Çalışmalar.....	15
2.2. Zeytin ve Diğer Türlerde <i>OeCHL P</i> Geninin Bitki Metabolizmasındaki İşlevleri ve İfade Seviyelerine Yönelik Çalışmalar.....	21
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Materyal.....	29
3.2. Metot.....	50
3.2.1. Gen Ekspresyonu Analizleri	50
3.2.1.1. Total RNA İzolasyonu	50
3.2.1.2. RNA'ların Kalite Kontrolü	50
3.2.1.3. cDNA (Komplementer DNA) Sentezi	53
3.2.1.4. Real-Time (Gerçek Zamanlı) PCR reaksiyonu.....	54
3.2.2. Kimyasal Analizler	56
3.2.2.1. α -Tokoferol Analizi	56
3.2.2.2. Fenolik Bileşik Analizi	59
3.2.3. Verilerin İstatistiksel Analizi	61
4. BULGULAR.....	63

4.1. Real-time PCR Sonuçları.....	63
4.1.1. 2017 ve 2018 Yılları Gen Ekspresyon Çalışmalarına Ait Bulgular...	63
4.1.2. 2017 ve 2018 yılları <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde α -Tokoferol Miktarlarına Ait Bulgular	71
4.1.3. 2017 ve 2018 Yılları <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Oleuropein Miktarlarına Ait Bulgular	74
4.1.4. 2017 ve 2018 Yılları <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Hydroxytyrosol Miktarlarına Ait Bulgular.....	77
4.1.5. 2017 ve 2018 Yılları <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Tyrosol Miktarlarına Ait Bulgular.....	80
4.1.6. 2017 ve 2018 Yılları <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyon Seviyesi En Yüksek Çeşitlerde Fenolik Bileşik Miktarlarına (oleuropein, hydroxytyrosol ve tyrosol) Ait Bulgular.....	82
5. TARTIŞMA	85
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	103
KAYNAKLAR	111
ÖZGEÇMİŞ	123

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1.	İllere göre sofralık ve yağlık zeytin üretimi ve ağaç başına düşen verim miktarları	2
Çizelge 3.1.	Denemede Kullanılmış Çeşitler, Orijinleri, Coğrafi Dağılımı, Kullanım Şekli ve Sinonim Adları.....	30
Çizelge 3.2.	2017 ve 2018 Yıllarına Ait Aylara Göre Ortalama Sıcaklık Değerleri	32
Çizelge 3.3.	Denemede Kullanılan Çeşitlere Ait Yeşil ve Siyah Olum Dönemi Örnekleri	33
Çizelge 3.4.	Meyve Olgunluğu Grupları ve Olgunluk Dereceleri	47
Çizelge 3.5.	39 Çeşide Ait Çiçeklenme, Yeşil ve Siyah Olum Tarihleri	47
Çizelge 3.6.	2017 ve 2018 yıllarına ait yeşil ve siyah olum dönemindeki meyvelerin perikaplarından izole edilen RNA miktarları ve saflık dereceleri.....	52
Çizelge 4.1.	2017 Yılı İki Olum Döneminde Alınan Örneklerde Gen Ekspresyon Bulguları.....	65
Çizelge 4.2.	2017 Yılı Gen Ekspresyon Oranlarına Ait ANOVA Tablosu.....	67
Çizelge 4.3.	2018 Yılı İki Olum Döneminde Alınan Örneklerde Gen Ekspresyon Sonuçları	69
Çizelge 4.4.	2018 Yılı Gen Ekspresyon Oranlarına Ait ANOVA Tablosu.....	71
Çizelge 4.5.	2017 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde α - tokoferol Miktarları (mg/kg (toplam yağ)).....	72
Çizelge 4.6.	2017 Yılı α - tokoferol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu.....	73
Çizelge 4.7.	2018 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde α - tokoferol miktarları (mg/kg (toplam yağ))	74
Çizelge 4.8.	2018 Yılı α - tokoferol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu.....	74
Çizelge 4.9.	2017 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Oleuropein Miktarları (mg/g (kuru madde)).....	75

Çizelge 4.10. 2017 Yılı Oleuropein Oranlarına Ait ANOVA Tablosu.....	76
Çizelge 4.11. 2018 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Oleuropein Miktarları (mg/g (kuru madde)).....	76
Çizelge 4.12. 2018 Yılı Oleuropein Oranlarına Ait ANOVA Tablosu.....	77
Çizelge 4.13. 2017 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Hydroxytyrosol Miktarları (mg/g (kuru madde))	78
Çizelge 4.14. 2017 Yılı Hydroxytyrosol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu.....	78
Çizelge 4.15. 2018 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Hydroxytyrosol Miktarları (mg/g (kuru madde))	79
Çizelge 4.16. 2018 Yılı Hydroxytyrosol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu.....	79
Çizelge 4.17. 2017 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Tyrosol Miktarları (mg/g (kuru madde))	80
Çizelge 4.18. 2017 Yılı Tyrosol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu	81
Çizelge 4.19. 2018 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Tyrosol Miktarları (mg/g (kuru madde))	81
Çizelge 4.20. 2018 Yılı Tyrosol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu	82

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1.	SYBR Green tekniği.....	7
Şekil 1.2.	Erime eğrisi analizi	8
Şekil 1.3.	Bitkilerde Klorofil ve Tokoferol Biyosentez Yollarının Şeması.....	12
Şekil 3.1.	Zeytin Örneklerinin Alındığı Zeytin Genetik Kaynakları Koruma.....	29
Şekil 3.2.	RNA izolasyonu aşamaları.....	51
Şekil 3.3.	Denemede kullanılan RT-PCR ve cDNA Sentez Kiti.....	54
Şekil 3.4.	Yeşil ve siyah olum dönemleri standart dilüsyonlar için gerçek zamanlı amplifikasyon eğrileri.....	55
Şekil 3.5.	α -tokoferol analizi için örneklerin hazırlanması.....	57
Şekil 3.6.	α -tokoferol analizi	57
Şekil 3.7.	Zeytin örneklerine ait α -tokoferol kromatogramları.....	58
Şekil 3.8.	Zeytin örneklerine ait fenolik bileşik kromatogramları.....	61
Şekil 4.1.	39 Çeşide Ait 2017 yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyon Düzeyleri.....	67
Şekil 4.2.	39 Çeşide Ait 2018 yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyon Düzeyleri.....	71
Şekil 4.3.	2017 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Fenolik Bileşik Miktarları (mg/g (kuru madde)).....	83
Şekil 4.4.	2018 Yılı <i>OeCHL P</i> Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Fenolik Bileşik Miktarları (mg/g (kuru madde)).....	84



SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLP	: Amplified Fragment Length Polymorphism
BHT	: Bütillenmiş Hidrosi Toluen
BLAST	: The Basic Local Alignment Search Tool
CAE	: kafeik asit
cDNA	: Tamamlayıcı DNA
CHL P	: Geranyl geranyl redüktaz
Ç	: Çizmelik
DAF	: Çiçeklenmeden sonraki gün
DPPH	: 2,2- difenil-1-pikrilhidrazil
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
Gly	: glisin
HL	: Yüksek ışık
KO	: Kareler Ortalaması
KT	: Kareler Toplamı
LL	: Düşük ışık
LSD	: Least Significant Difference
M.V.A.	: Meyve veren ağaç
RAPD	: Rapid Amplified Polymorphic DNA
RNA	: Ribonükleik asit
RNAi	: RNA interference
RT-PCR	: Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu
S	: Sofralık
SS	: Siyah Sofralık
SD	: Serbestlik Derecesi
Ser	: Serin
SRAP	: Sequence Related Amplified Polymorphism
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

Y : Yağlık
YS : Yeşil Sofralık



1. GİRİŞ

Dünyanın en eski kültür bitkilerinden olan zeytin; *Oleaceae* familyasının, *Olea* cinsinin, *Olea europa* türünün, *Olea europa sativa* alt türünde yer almaktadır (Kiritsakis ve Markakis, 1987). Herdem yeşil bir bitki olan zeytinin dünya üretiminin tamamına yakın bölümü Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde gerçekleşmektedir. Ülkemizde *Oleaceae* familyasına ait 7 cins yayılış göstermektedir. Bu cinsler arasında yağlık cinsler *Olea* cinsine bağlı olup bu cinse bağlı 20 kadar değişik tür, tropik ve subtropik iklim şartlarında yetişmektedir. Bu kadar tür arasında ticari anlamda zeytin ve zeytinyağı üretimini mümkün kılan tek tür *Olea europaea*'dır (Anonim, 2018).

Dünya genelindeki zeytin yetiştiriciliğinin %90'lık bir kısmının Akdeniz havzası, geriye kalan kısmının ise Latin Amerika ülkelere yayıldığı görülür. Dünyada yaklaşık 10.650.068 hektar alandan 19.267.493 ton zeytin üretimi yapılmaktadır (FAO, 2018). Önemli zeytin üreticisi ülkeler arasında İspanya, İtalya, Yunanistan, Türkiye ve Tunus ilk sıraları almaktadır. Bunların yanı sıra son yıllarda Avustralya, Japonya ve Arjantin gibi ülkelere de zeytin üretimine başlanmıştır.

Türkiye'de ise zeytin üretimi açısından önemli bölgeler Ege, Akdeniz ve Marmara Bölgeleri; önemli iller ise Manisa, Aydın, Balıkesir, İzmir ve Hatay'dır. Türkiye'nin 2017 yılı TÜİK verilerine göre toplamda 8.460.619 dekar alanda zeytin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Bunun 460.000 tonunu sofralık, 1.640.000 tonunu yağlık zeytinler oluşturmaktadır (TÜİK, 2018). Çizelge 1.1.'de görüldüğü üzere sofralık zeytinlerde meyve veren ağaç başına en yüksek verime sahip il Çanakkale'dir. Ancak üretim miktarına bakıldığında Manisa en çok üretimi yapan il durumundadır. Yağlık zeytin yetiştiriciliği yapılan illerde meyve veren ağaç başına en yüksek verim Manisa iline ve üretim miktarı ise Aydın iline aittir.

Çizelge 1.1. İllere göre sofralık ve yağlık zeytin üretimi ve ağaç başına düşen verim miktarları (TUIK, 2018)

İller	(Sofralık Zeytinler) Verim Üretim Miktarı (kg/M.V.A.) (ton)		(Yağlık Zeytinler) Üretim Miktarı Verim (ton) (kg/M.V.A.)	
Aydın	14	63.182	392.196	22
Balıkesir	15	32.764	221.436	26
Bursa	8	92.706	51.0000	9
Gaziantep	3	1.603	15.435	2
Hatay	3	7.640	139.554	14
Manisa	9	121.066	145.666	31
Mersin	15	37.391	105.478	22
Muğla	20	15.929	196.180	13
Çanakkale	23	7.703	61.722	14
İzmir	16	24.752	164.756	11

Zeytin, genetik özelliğinin yanı sıra kültürel işlemlerin tam olarak uygulanamayışı nedeniyle periyodisite gösteren bir türdür. Bitkinin periyodisite eğilimi, üretici ülkelerin yetiştirme politikalarında yer aldığı öneme göre değişen unsurlardan biridir. Anadolu koşullarında kültürel işlemlerin yetersizliğinden kaynaklanan nedenlerle periyodisite eğilimi artmaktadır. Dünya’da ve Türkiye’de üretilen dane zeytinin yaklaşık %65-70’i yağa, %30-35’i ise sofralık zeytine işlenmektedir (Sakar ve Ünver, 2011).

Besin içeriği açısından oldukça değerli bir ürün olan zeytinin tanesinin kimyasal bileşiminin önemli bir kısmını su ve yağ oluşturur. Bunların yanında protein, selüloz, şeker, mineral maddeler, hidrokarbonlar, fenolik bileşikler ve tokoferoller de bileşiminde yer almaktadır. Zeytinin bileşimini etkileyen faktörler arasında; olgunluk derecesi, yetiştirildiği bölge ve çeşit bulunmaktadır (Vinha ve ark., 2005). Özellikle fenol bileşenleri, besinsel değere sahip olmamakla birlikte

sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle çok önemli sekonder bileşiklerdir. Bu bileşikler insan vücudu tarafından sentezlenemezler ve günlük diyet ile alınmaları gerekir. Fenol bileşenleri ve ligninlerin en önemli özelliklerinin; kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkileri, tümör oluşumunu teşvik eden singlet oksijen ve çeşitli serbest radikalleri yok etme etkileri, metallerle şelat oluşturma ve lipoksigenaz enzimini inaktive etmeleri olduğu bildirilmesi de bu türün önemini bir kez daha attırmaktadır (Serteser ve Gök, 2003).

Zeytinin eşsiz karakteristik özelliklerine ek olarak, zeytinyağı gıdalarda pişirme sırasında kullanılan diğer bitkisel yağlardan daha stabil olması yönünden avantajlıdır. Zeytinyağının stabilitesinin diğer yağlara oranla daha yüksek olması, yüksek oleik asit, tokoferol ve diğer fenolik maddeleri içermesinden kaynaklanır (Schaich, 2006). Zeytinyağı kalitesini zeytin çeşidi, yetiştirilen bölgenin coğrafik durumu, iklim özellikleri, kullanılan gübre, ağacın beslenme durumu, zeytinin olgunluk derecesi, hasat dönemi, toplama şekli ve depolama koşulları, zeytinin yağa işleme tekniği ve mekanik ezme makinelerinin özellikleri de etkilemektedir (Güler ve ark, 2006).

Oksidasyon, yağların bozulmasında temel etkenlerden biridir ve ortam koşullarının (ısı, ışık, nem, metal kaplar) uygun olmadığı durumlarda bu durum daha da kötü bir hal almaktadır. Bunun sonucunda yağ asitlerinin yapısı bozulur ve acılaşma meydana gelir (Altan, 2004). Lipit oksidasyonu gıdaların rengini, lezzetini, tekstürünü ve özellikle besin değeri gibi gıdanın kalitesini olumsuz yönde etkileyen ve istenmeyen ürünlerin oluşmasına yol açan bir reaksiyondur (Kıralan ve Bayrak, 2005). Zeytinde bulunan fenol bileşikleri renk, tat ve aroma üzerine olan etkilerinin yanı sıra, zeytinin besin ve biyolojik değerin üzerine olan etkileri ve antioksidan etkileri ile de çok önemlidirler. Fenolik bileşiklerinin lipid oksidasyonu üzerindeki etkileri, peroksit kökü ile reaksiyona girmeleri sonucunda elektron transferi yoluyla hidroksil ve süper oksit köklerini yakalamalarıyla ilişkilidir (Koca ve Karadeniz, 2005). Bu sayede zeytinyağının hem besinsel değerini arttırıp hem de raf ömrünü uzatmaktadır.

Zeytinde meyve olgunlaşması, 6-8 ay içerisinde meydana gelen uzun bir süreçtir. Meyvenin iriliği, sonbaharda nem içeriğine bağlı olarak artar ve zeytin hücrelerindeki yağ, Haziran sonlarına doğru meyve belli bir büyüklüğe eriştiğinde ve çekirdek sertleşmeye başladığında oluşmaya başlar (Kritsakis, 1998). Optimum hasat zamanı, zeytinin değerlendirme amacına göre farklılıklar gösterir (Anonim, 2006a). Eğer yeşil sofralık zeytin yapılacaksa meyveler sarımsı-yeşil renge döndüğü (Eylül-Ekim), siyah sofralık zeytin yapılacaksa kararmanın kabuktan meyve etine geçtiği (Kasım-Aralık), yağlık olarak değerlendirilecekse ağaçta yeşil meyve kalmadığı zaman hasat edilmelidir (Anonim, 2006b).

Zeytinin olgunluk derecesi hasat zamanının belirlenmesinde en önemli bir faktördür. Zeytinyağı için zeytinin olgunlaşması yağ randımanını arttıran bir faktördür. Ancak hasat için tarih çok önemlidir. Yetiştiricilerin karşılaştığı ve en çok sorduğu soru olan hasat zamanı aslında “meyve yağ için en uygun olgunluğa geldiği” zamandır. Aynı ağaçtan birer hafta aralıklarla hasat edilen zeytinlerin tadı ve yağ kalitesi birbirinden oldukça farklıdır. Daha yeşil renkli meyveler daha yüksek miktarda polifenol formunda antioksidanlar içerdiğinden bu zeytinlerden elde edilen zeytinyağının raf ömrü daha uzundur. Ancak tadı daha acıdır ve tüketilebilmesi için depo tanklarında aylarca bekletilmesi gerekir. Olgunlaşmış meyveler ise tatlılaşır, meyvede alkoller, esterler ve aldehitler daha çok gelişmektedir. Meyvenin olgunlaşması sıcaklık, güneş ışığı ve sulama ile yakından ilişkilidir. Sıcak sonbahar günleri meyvenin erken olgunlaşmasına neden olur ve optimum hasat için kısa bir süre söz konusudur. Ancak havaların serin geçmesi meyvelerin daha uzun süre, hatta kışa kadar yeşil kalmalarına neden olabilir. Bu durumda, kışın olabilecek don zararına karşı meyveler yeşil olarak hasat edilerek gerekli önlemin alınması gerekmektedir. Hasat edilmesi yaklaşan ağaçlardan rastgele örneklenen zeytinler bir kapta toplanır ve toplama kabından rastgele 100 zeytin danesi seçilir. Örneklemede zeytinlikten rastgele belirlenen, kısa ve uzun tüm ağaçların her tarafından örnek alınmalıdır (sadece alt dallardan değil). Seçilen zeytinlerin renkleri referans zeytin renklerine göre 0-7 arasında puanlanır. Her bir

olgunluk grubuna düşen zeytinler sayılarak bir frekans tablosu hazırlanır (Cebeci, 2007).

Ülkemiz zeytinin anavatanıdır ve zeytin çeşitleri bakımından oldukça zengindir. Zeytin genetik kaynaklarının koruma altında olması bu türün üzerinde yapılacak ıslah çalışmalarına oldukça zengin bir genetik taban oluşturmaktadır. Özellikle son dönemdeki teknolojik ilerlemeler, biyolojik ve patolojik durumlarla ilgili transkripsiyonel cevaplardan sorumlu binlerce genin hızla değerlendirilmesine imkan vermektedir (Stanton, 2001). Pek çok kültür bitkisine ait genlerin büyük çoğunluğunun sekanslarının bulunması, biyolojik regülasyonun temelini teşkil eden kompleks genetik ve protein etkileşmelerinin araştırılmasına olanak sağlamıştır. Bitki bünyesinde devam eden düzenleyici metabolik ağın anlaşılması için, her bir genin ekspresyon zamanının ayrıntılı bir şekilde bilinmesi de üzerinde çalışılan türün ne yönde biyolojik ve fonksiyonel savunma geliştirdiğini bildirmektedir.

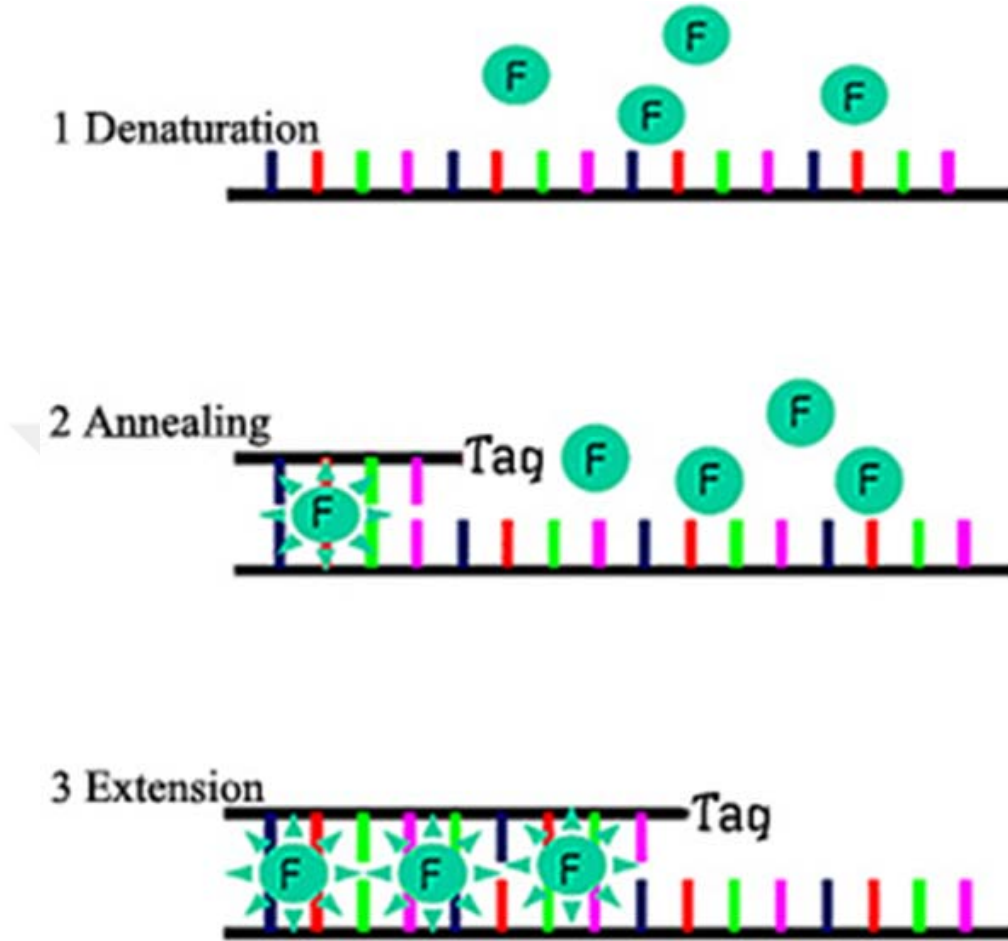
Gen ekspresyonu, DNA’da mevcut olan genetik bilginin mRNA ve protein düzeyinde ifade edilmesidir. Bir başka tanım ile gen dizilerinin, fonksiyonel protein yapılarına dönüşmesi sürecidir. Aslında bu durum genlerin açık (işlevsel) olup olmadıkları olarak da tanımlanır. Hücrelerde genetik bilgi akışı DNA=RNA=Protein şeklindedir (Yüzbaşıoğlu, 2008). Günümüzde protein yapısındaki modifikasyonlar ve protein-protein etkileşimlerinin incelenmesi amacıyla protein çalışmaları kullanılırken, hücre ve dokularda fizyolojik veya patolojik bir etkinin cevabının incelenebilmesi amacıyla mRNA ekspresyon çalışmalarına başvurulmaktadır.

mRNA ekspresyon analizleri “Northern blot, RT-PCR ve mikroarray” tekniği ile gerçekleştirilebilmektedir. Northern blot tekniği, mRNA’ların bir membrana transferi sonrası, radyoaktif işaretli probalar ile hibridizasyonu esasına dayanmaktadır. RT-PCR (Revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu) tekniğinde ise mRNA üzerinden revers transkriptaz enzimi ile cDNA sentezlenir ve gene özgül primerler ile PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) gerçekleştirilir. Bu

teknik ile gen ekspresyonu semikantitatif veya kantitatif olarak analiz edilebilir. Kantitatif RT-PCR analizleri, özellikle RT-PCR cihazları kullanılarak gen ekspresyon miktarının sayısal olarak belirlendiği çalışmalardır (Yüzbaşıoğlu, 2008).

Real Time PCR, nükleik asit amplifikasyonunun eş zamanlı olarak gözlenmesini sağlayan bir PCR teknolojisidir. DNA sarmalına bağlanarak floresan ışıma yapan özel boyalarla (SYBR Green, SYTO9 gibi) veya yıkıma bağlı sinyal oluşturan prob diziler aracılığı ile amplifikasyon miktarının tespit edilmesini sağlar. Her PCR döngüsü sonunda tüp içinde oluşan çift zincirli ürün miktarının ölçülebilmesini ve kantitatif analizlerin yapılmasını sağlar (Bustin ve ark. 2005; Nolan ve ark. 2006).

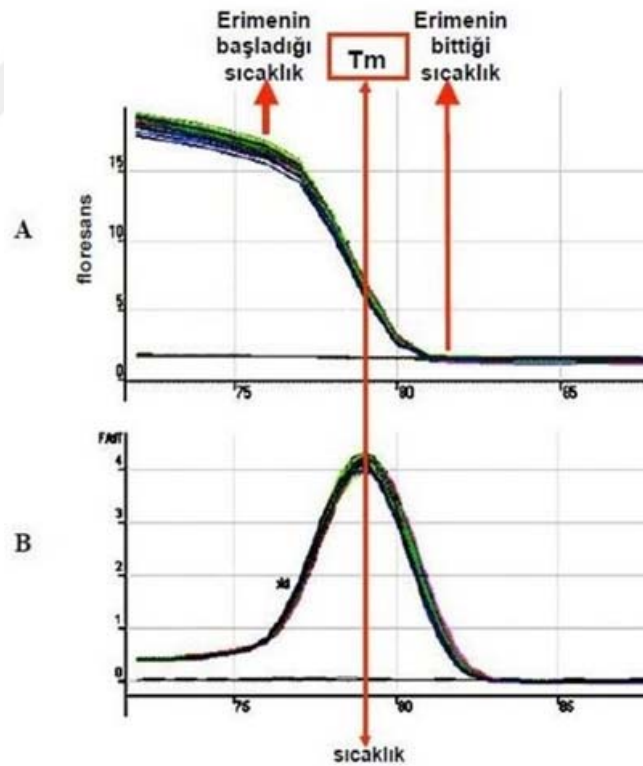
SYBR Green I, gen ekspresyonu kantitasyonunda sıklıkla kullanılan, çift zincirli DNA'ya bağlanarak floresan özellik kazanan bir boyadır ve bu boyanın çift zincirli PCR ürününe bağlanması ürün miktarı ile orantılı olarak floresans açığa çıkmasını sağlar (Şekil 1.1.). SYBR Green tekniği ile gen ekspresyonu kantitasyonu için uygun primer seçimi en önemli aşamadır. Bu tekniğin başarıyla uygulanabilmesi için PCR primerlerinin sadece özgül cDNA'ya bağlanması, primer-dimer veya özgül olmayan amplifikasyon ürünü oluşturmaması gereklidir. RNA izolasyonu sırasında sıklıkla gözlenen genomik DNA kontaminasyonu SYBR Green tekniğinin başarısını aksatan unsurlardan biridir. Özgül amplifikasyon ürünü elde etmek için, cDNA amplifikasyon primerlerinin farklı ekzonlardan seçilmesi, ampikon uzunluklarının kısa tutulması (120-250 baz) ve primerlerin bağlandığı ekzonların uzak seçilmesi dikkat edilmesi gereken püf noktalardır (Yüzbaşıoğlu, 2008).



Şekil 1.1. SYBR Green tekniği **1.** Başlangıç aşaması: Reaksiyonun başlangıcında ortamda SYBR Green, primerler ve tek zincirli DNA bulunduğu için floresans sinyal yoktur. **2.** Primerin hedef moleküle bağlanması: Primerin bağlanması ile amplifikasyon sonucu SYBR Green oluşan çift zincirli DNA'ya bağlanır ve az miktarda floresans sinyal açığa çıkar. **3.** Primer uzaması: Amplifikasyon oranına bağlı olarak çift zincirli DNA'nın yapısına daha fazla boya katılarak floresans sinyal artar (Anonim, 2018).

SYBR Green I, primer dimerleri ve özgül olmayan PCR ürünleri gibi çift zincirli DNA moleküllerine de bağlanabilir (Bustin ve Mueller, 2005). Bu nedenle floresans artışı her zaman özgül amplifikasyonu göstermez. Amplifikasyon ürününün özgül olup olmadığı, agaroz jel elektroforezi ile incelenir. Bununla

birlikte RT-PCR cihazlarında primer dimer oluşumu ve özgül olmayan amplifikasyon ürünlerinin tespiti için “melting curve” (erime eğrisi) analizi yapılabilmektedir (Şekil 1.2.). Her çift zincirli DNA kendine spesifik bir “melting temperature, T_m ” (Çift zincirli DNA’nın %50’sinin tek zincirli hale geçmesi için gerekli olan sıcaklık) değerine sahiptir. Amplifikasyondan sonra sıcaklık yavaş yavaş yükseltilerek belirli aralıklar ile floresans miktarı tespit edilir. Çift zincirli DNA denatüre olmaya başlayınca interkale olan boya serbest kaldığı için ölçülen floresans miktarı azaldığı gözlenir. Bu şekilde elde edilen erime eğrisinden yararlanılarak amplifikasyonun özgüllüğü belirlenir. T_m değerinin tam olarak saptanabilmesi için erime eğrisinin zamana karşı türevi çizilir ve bu analiz, sıklıkla başvurulan bir yöntemdir.



Şekil 1.2. Erime eğrisi analizi (Yüzbaşıoğlu, 2008).

Eşik döngü değeri (threshold cycle = Ct) RT-PCR uygulamalarında önemli bir parametredir ve Ct değeri, amplifikasyon sırasında tespit edilen floresan ışınım eşik değerinin aşıldığı döngü sayısıdır. Başka bir ifade ile ürünün ilk anlamlı artışı olduğu noktayı belirtir. Farklı PCR reaksiyonlarında yer alan kalıp örneklerin miktarı Ct değerleri karşılaştırılarak tahmin edilebilir (Wong ve Medrano, 2005). Florimetrik PCR yöntemi ile yapılan kantitasyon çalışmalarında, kalıp DNA miktarı bilinen standart örneklerle ait Ct değerleri ile incelenen örneğin Ct değeri karşılaştırılarak kantitasyon yapılmaktadır. Bu nedenle, kantitatif PCR analizlerinde standart olarak tanımlanan kontrol örneklerine mutlaka ihtiyaç vardır. Standart örnek olarak içinde bulunan kalıp DNA miktarı bilinen örneklerle yapılan çalışmalara “mutlak kantitasyon” adı verilir. Bir örneğin içinde yer alan kalıp miktarının diğer bir örnek ile karşılaştırıldığı durumlarda mutlak kantitasyona gerek yoktur. Bu durumda, standart örneğin içinde bulunan kalıp DNA miktarının bilinmesi önemli değildir. İyi ekspresyon sağlayan bir örneğin seri dilüsyonları standart olarak kullanılabilir. Bu çalışmalarda önemli olan standartlar arasındaki kalıp oranının tekrarlanabilir ve ölçülebilir olmasıdır. Bu tip çalışmalara göreceli kantitasyon (relative quantitation) denir (Pfaffl, 2001). Bir standart örnekten seri dilüsyonlar hazırlanır. Standart dilüsyonlara varsayılan bir konsantrasyon miktarı atfedilir ve genellikle bu miktar “varsayılan birim” (arbitrary unit) olarak tanımlanır. Bu standartlar kullanılarak, atfedilen konsantrasyon değerlerine karşılık gelen dilüsyonların Ct değerleri belirlenerek kantitasyon için gerekli olan regresyon eğrisi hazırlanır. Bu eğri standart eğri olarak da ifade edilebilmektedir. Kantitasyon aşamasında, örneklerin Ct değerlerinin regresyon eğrisi üzerinde hangi atfedilen değeri temsil ettiklerine bakılarak göreceli bir miktar belirlenir ve bu şekilde kantitatif PCR verilerinin analizinde; mutlak ve göreceli kantitasyon kullanılır.

Kantitatif RT-PCR uygulamalarında normalizasyon amacı ile çeşitli koşullarda ekspresyonu değişmediği bilinen veya en az etkilenen bir referans gene ihtiyaç vardır (Bustin, 2002). Özellikle farklı bireylerden alınan ya da aynı

bireyden farklı dönemlerde alınan örneklerle yapılan çalışmalarda, ilgilenilen genin ekspresyon düzeyinin incelenebilmesi için dokularda ekspresyonu değişmediği varsayılan bir başka gen ürünü mRNA ile normalizasyon yapılması gereklidir. İlgilenilen genin ekspresyon düzeyi, referans gen olarak kullanılan housekeeping genin ekspresyon düzeyine oranlanır. Bu oranlamayla amaçlanan izole edilen RNA miktarı ve sentezlenen cDNA miktarının getirdiği örnekler arası başlangıç farklılıklarını, deneysel hataları normalize etmektir. Bu nedenle farklı doku ve hücre tiplerinde, hedef genlerin ekspresyon düzeyinin kantitatif olarak belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, önce referans olarak kullanılacak housekeeping genin doğru seçilmesi gereklidir. Çalışmalarda kullanılacak housekeeping genin ekspresyon düzeyi, ne kadar az değişkenlik gösterir ve sabit kalırsa, hedef genin ekspresyon düzeyinin belirlenmesi için o kadar güvenilir bir referans olacaktır.

Son yıllarda yapılan araştırmalarda zeytin meyve gelişimi ve olgunlaşması sırasında bazı referans genler tanımlanmıştır. Bu genler içinde NADPH-dependent geranylgeranyl reductase geni (*OeCHLP*), oluşan meyvenin besinsel değeri yanında bitkinin verim ve strese tepkisi ile ilgili metabolik yollar için gerekli olan klorofil, tokoferoller ve plastoquinone bileşiklerinin oluşumunu katalizler (Muzzalupo ve akr.,2011). Bu bileşiklerin oluşumunu katalizleyen genin özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar neticesinde kuraklık, ışık, düşük sıcaklık, yüksek sıcaklık ve hastalıklar, yaralanma gibi biyotik ve abiyotik stresler karşısında ekspresyon seviyesini arttırdığı yapılan pek çok çalışma ile belirlenmiştir.

Meyve içindeki tokoferol ve fenol bileşiminin hem farklı doku hem de farklı olgunluk dönemlerine bağlı ve çok kompleks bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Ancak tokoferol ve fenol bileşiklerinden sorumlu metabolik olayların düzenleyici mekanizması hakkında yeteri kadar çalışma şimdiye kadar yapılmamıştır. Tokoferol ve fenollerin antioksidant ve serbest radikalleri uzaklaştırma görevleri yanında özellikle insan sağlığı açısından kardiyovasküler hastalıklar ve kanseri önleme gibi yararlı etkileri bu bileşiklerin önemini daha da arttırmaktadır. Ayrıca bu bileşikler zeytinyağında meydana gelen oksidatif

bozulmanın da önüne geçerek zeytinyağının hem kalitesini hem de raf ömrünü uzatmaktadır.

Zeytinde meyve büyümesi ve gelişmesi çiçeklenmeden 120-150 gün sonra meydana gelmektedir. Bu durumu iklim şartları, çeşit ve içerisinde bulunduğu hücre bölünmesi aşamasına göre değişmektedir (Lavee, 1996; Lombardo ve ark. 2006). Olgunlaşma aşamasında perikarp yoğunluğu ve kıvamı değişir. Çünkü başlangıçta perikarpı ezmek ve suyunu çıkarabilmek (yeşil olum dönemi) kolay değildir. Meyve tekstüründe değişiklikler başladığında yani meyve renginin %50'sinden fazlasının renk değiştirdiği (mor olduğu) dönemde ezmek ve suyunu çıkarmak kolaylaşır. Perikarp olgunlaştıkça kuru madde yağ ile birlikte artmaya devam eder. Meyve eti hem besinsel hem de oksidatif stabilite açısından iyi bir yağ asidi dengesine sahip olduğu dönem en iyi hasat dönemi ve bu iki aşamanın ortası olarak kabul edilir (Rotondi ve ark., 2004). Kantitatif olarak perikarpların en büyük bileşenleri; su (%40-70) ve yağ (%6-25)' dir (Lavee, 1996). Ancak ikincil bileşenlerin miktarı çeşit, ekim, toprak ve iklim gibi etmenlere bağlı olarak değişir.

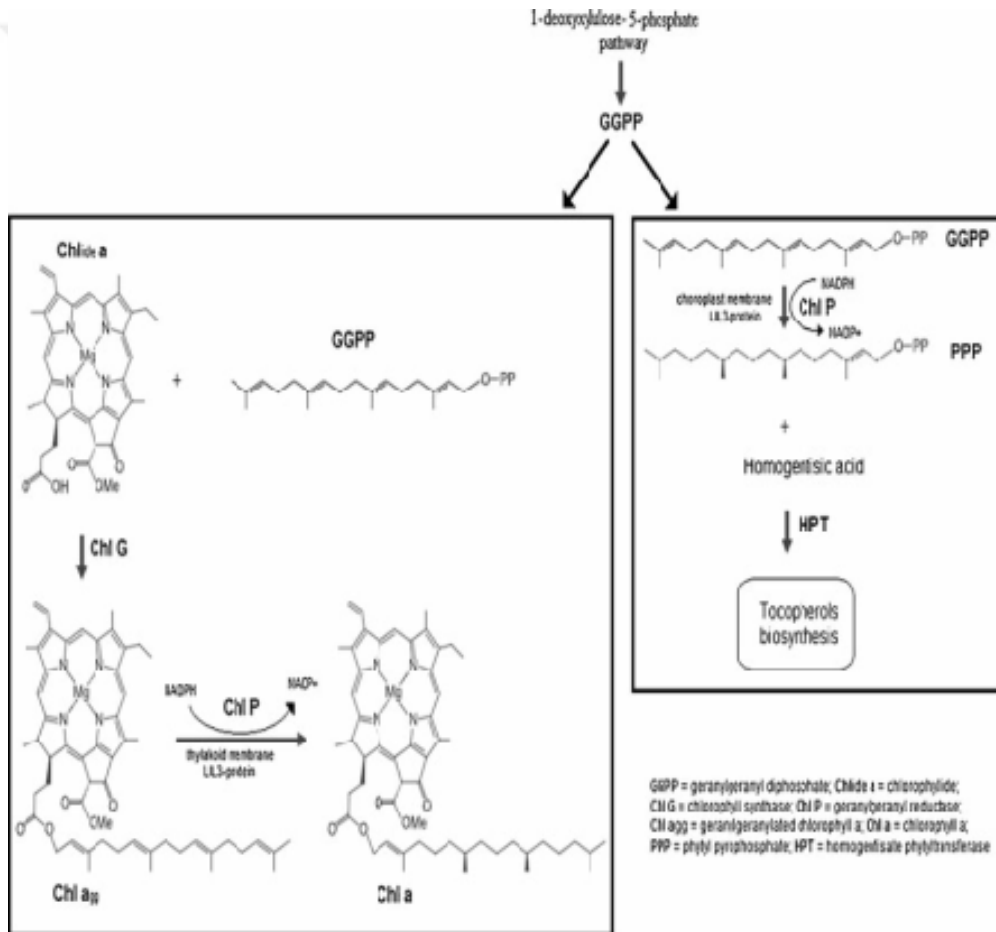
Tokoferol biyosentezi, kloroplastların iç zar membranlarında gerçekleşir. Bitkilerde tokoferollerin başlıca rolü lipit peroxyl radikalleri ve reaktif oksijen türevlerini süpürerek lipit peroksidasyonunu önlemektedir. Bu nedenle fotosentetik dokularda fotoooksidatif zarardan kloroplast membranlarını koruyarak fotosentetik yapılar için optimal bir ortam oluşturur. Perikarp ve tohumlarda tokoferoller sadece besinsel bir öge değil aynı zamanda depo yağları oksidatif zarardan koruyarak ürün stabilitesi ve raf ömrüne katkı sağlar (Munnè-Bosch ve Alegre, 2002) .

Zeytinde tokoferol ve fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi hem meyve etinde hem de yağda görülmüştür (Cinquanta, 2007). Meyve eti (drupe) içindeki tokoferol ve fenolik bileşiklerin kompozisyonu için sorumlu metabolik yolların düzenleyici mekanizması henüz geniş çapta araştırılmamıştır.

Geranylgeranyl redüktaz (*CHL P*) enzimi, klorofil, phylloquinone ve tokoferollerin sentezi için gerekli geranylgeranyl diphosphate'ın phytyl diphosphate'a indirgenmesini katalizler. Şekil 1.3.'de görüldüğü üzere *CHL P*

enzimi, phytl-diphosphate zincirini ve klorofil a'yı oluşturmak için geranylgeranyl diphosphate ve geranylgeranyl' le edilmiş klorofil ile reaksiyona girmiştir.

Bitkilerde, tokoferol seviyesi ve kompozisyonu farklı dokularda değişen miktarlarda bulunur. Bu durumu abiyotik stres şartları ve gelişme esnasındaki dalgalanmalar oluşturur. Yaşlanma ve strese girmiş bitkilerde tokoferol biyosentezinin düzenlenmesi çok farklı yollarla gerçekleşmektedir (Collakova ve Dellapenna, 2003).



Şekil 1.3. Bitkilerde Klorofil ve Tokoferol Biyosentez Yollarının Şeması (Muzzalupo ve ark., 2011).

Son yapılan çalışmalarda *CHL P* geni *Olea europaea* türlerinde de karakterize edilmiştir. Farklı stres şartları ve gelişimsel aşamalarda zeytin yaprak ve perikarpında oluşan *OeCHL P* mRNA seviyeleri belirlenmiştir (Bruno ve ark., 2009). Çalışmalar sonucunda farklı çeşitler aynı iklim şartlarında yetiştirse bile bu genin transkripsiyon miktarlarına ait farklı sonuçlar belirlenmiştir.

Bitki metabolizmasında çok farklı görevlerin yerine getirilmesinde kilit rol oynayan *OeCHL P* geninin RT-PCR uygulamalarıyla ekspresyon düzeyi araştırıldığı bu çalışmada materyal olarak şimdiye kadar üzerinde bu konuya dair çalışma yapılmamış ülkemiz ‘‘Zeytin Genetik Kaynakları Koruma’’ parselinde yer alan ve tescili yapılmış 39 çeşit kullanılmış olup, hem yeşil hem de siyah olum döneminde alınan perikarp örneklerinde analizler yürütülmüştür. Çalışma için seçilen hem ticari ve hem de yöresel olarak önemli 39 çeşit daha önce yapılmış düşük sıcaklık stresi çalışmalarında kullanılmışlardır. Bu 39 zeytin çeşidi perikarp olgunlaşma aşamasında *OeCHL P* geni transkript seviyelerinin açısından kıyaslanmış olup *OeCHL P* mRNA seviyesi ile α -tokoferol ve bazı önemli fenolik bileşik içerikleri (oleuropein, hydroxytyrosol ve tyrosol) açısından değerlendirilmiştir.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bitki metabolizmasında önemli işlevleri olan fenolik bileşikler, tokoferoller ve gen ekspresyon çalışmaları zeytin ve diğer bazı önemli türlerde bölümler halinde sunulmuştur.

2.1. Fenolik Bileşikler ve Tokoferolün (Vitamin E) Bitki Metabolizmasındaki İşlevleri ve Bu Yönde Yapılan Çalışmalar

Harborne ve Dey (1989), fenolikleri bir veya daha fazla sayıda hidroksil (OH) grubunun bağlandığı benzen halkasına sahip maddeler olarak tanımlanmışlardır. Zeytin, meyve etinin % 1-3'ünü oluşturacak düzeyde, yüksek konsantrasyonlarda fenolik madde içerir. Zeytinin temel fenolikleri; fenolik asitler, fenolik alkoller, flavonoidler ve sekoiridoitler olarak sınıflandırılır. Fenolik asitler, fenolik alkoller ve flavonoidler farklı botanik familya içerisinde sınıflandırılan pek çok meyve ve sebze de bulunabilirken, sekoiridoitler sadece *Olea europaea L.* türünün içinde sınıflandırıldığı *Oleaceae* familyasında bulunurlar. Sekoiridoit sınıfı altında gruplandırılan fenolik maddeler yapılarında elenolik asit ya da elenolik asit türevi içermeleriyle diğerlerinden ayrılır (Diez ve Adamos, 1997).

Fenolik bileşiklerin, bitkilerde aromatik aminoasit metabolizması sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitler olduğu düşünülmektedir. Gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; insan sağlığı açısından işlevleri, tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumu ve değişimine katılmaları, antimikrobiyal ve antioksidatif etki göstermeleri, enzim inhibisyonuna neden olmaları, değişik gıdalarda saflık kontrol kriteri olmaları gibi birçok özelliklerinden dolayı önem taşırlar. Fenolik bileşiklerin antioksidatif etkisi fenol grubundaki OH grubu sayısı arttıkça artmaktadır (Saldamlı, 1998).

Gutiérrez ve ark. (2002)'nin zeytinyağında raf ömrünü belirleyen göstergeleri belirledikleri çalışmada, 1996-1997 yılları arasında Picual, Hojiblanca ve Arbequina isimli İspanyol zeytin çeşitlerinden aldıkları örneklerde devamlı üçlü

faz kullanarak yağ elde etmişlerdir. Çeşitlerin toplam tokoferol içeriği 261,03 ppm (Picual), 229,88 ppm (Hojiblanca) ve 157,94 ppm (Arbequina); toplam fenol içeriği 219,00 ppm (Picual), 217,00 ppm (Hojiblanca) ve 85,30 ppm (Arbequina); orthodiphenol içeriği ise 18,92 ppm (Picual), 18,67 ppm (Hojiblanca) ve 3,99 ppm (Arbequina) olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda oksidasyonla birlikte ana ve yan bileşiklerin miktarlarında değişiklikler belirlenmiştir. Ancak özellikle ilk önce yıkıma uğradığı için ortalama zeytinyağı ömrünü belirleyen bileşiklerin tokoferol ve orthodiphenoller olduğu bildirilmiştir.

Oksidasyon, yağların bozulmasında temel etkenlerden biridir ve ortam koşullarının (ısı, ışık, nem, metal kaplar) uygun olmadığı durumlarda bu durum daha da kötü bir hal almaktadır. Garcia ve ark (2003), 2000-2001 yılları arasında ticari marketlerden temin ettikleri Picual, Hojiblanca, Cornicabra ve Arbequina çeşitlerinden elde edilmiş sızma zeytinyağı numunelerini analizlere kadar -3°C’de saklamışlardır. Analizler Kasım, Mart, Haziran ve Eylül aylarında yapılmıştır. 1 yılın üzerinde muhafaza edilmiş yağlarda Mart ayında yapılan analizlerde en düşük polifenol içeriği saptanmıştır. Tokoferol içeriği ise örnekleme tarihlerinden etkilenmemiştir. Çeşitler arasında polifenol içeriği, Picual ve Cornicabra çeşitlerine ait yağlarda Hojiblanca ve Arbequina yağlarına göre kısmen daha yüksek belirlenmiştir. Tokoferol içeriği açısından ise Arbequina çeşidi en düşük orana sahip olurken, diğer çeşitler birbirine yakın ve yüksek değerler vermişlerdir.

Şimdiye kadar zeytin çeşitleri üzerine pek çok çalışma yapılmış ve özellikle meyve bünyesinde içerdiği antioksidan bileşikler üzerinde durulmuştur. Boskou ve ark. (2004), Yunanistan’a özgü sofralık zeytin çeşitlerinin toplam fenol bileşimi ve antioksidan etkileri üzerine yaptıkları çalışmada; her tip sofralık zeytinin bileşimindeki polifenollerin nitel ve nicel içeriğinin zeytinlerin toplam antioksidan kapasitesini değiştirmekte olduğunu ve her tip sofralık zeytinin, çeşide göre değişen miktarlarda fenolik bileşiklere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Morello ve ark. (2004), İspanya’nın Les Garrigues bölgesindeki 3 farklı yağ değirmeninden elde edilmiş Arbequina zeytin çeşidine ait yağ örneklerini 12

ay depolamadan sonra yağ substratları, minör bileşikler ve özellikle fenolik fraksiyonlardaki değişiklikleri belirledikleri çalışmada yağ asidi kompozisyonunun oleik asit yüzdesini arttırdığını bildirmişlerdir. Ancak önemli miktarda klorofil, karotenoid ve toplam fenolik miktarında azalma olmuştur. α - tokoferol miktarı ise bütün yağ numunelerinde depolamadan sonra tamamen tükenmiştir.

Tiryaki ve Karaman (2004), kaliteli bir yağın 200 mg/kg'ı aşan bir fenolik madde içeriğine sahip olduğunu vurgulamıştır. Bu durum çalışmada kullandıkları Doğu Karadeniz'e özgü çeşitlerin toplam fenol içeriği bakımından yeterli sınırlar içerisine girdiğini göstermiştir. Çalışmada α - tokoferol miktarı en yüksek Satı (98,54 mg/kg) çeşidinde belirlenirken, sırasıyla Otur (88,45 mg/kg) ve Butko (54,66 mg/kg) çeşitleri izlemiştir.

Jiang ve ark. (2005), Japonya'nın Shodo adasında yetişen Manzanillo (1), Lucca (2), Nevadillo Blanco (3) ve Mission (4) çeşitlerinin 3 farklı olgunluk döneminde (yeşil, kırmızı ve siyah) topladıkları meyvelerden elde ettikleri yağda toplam tokoferol ve fenolik madde tayini yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda yeşil olum döneminde toplam fenolik madde miktarları: 1 (7,9 mg/100 g), 4 (7,4 mg/100 g), 2 (5,1 mg/100 g), 3 (4,3 mg/100 g); kırmızı olum döneminde 1 (6,3 mg/100 g), 4 (4,4 mg/100 g), 2 (3,5 mg/100 g), 3 (2,6 mg/100 g); siyah olum döneminde 2 (3,7 mg/100 g), 1 (3,2 mg/100 g), 4 (2,4 mg/100 g), 3 (0,7 mg/100 g) şeklinde sıralanmıştır. Toplam fenol içeriğinin yeşil olum döneminde en yüksek olduğu ve sonra azaldığı bildirilmiştir. Tokoferol içeriği ise yeşil olum döneminde: 1 (33,02 mg/100 g), 4 (32,5 mg/100 g), 3 (32,4 mg/100 g), 2 (24,00 mg/100 g); kırmızı olum döneminde; 4 (27,5 mg/100 g), 3 (27,5 mg/100 g), 1 (25,2 mg/100 g), 2 (20,7 mg/100 g); siyah olum döneminde; 1 (24,6 mg/100 g), 2 (23,5 mg/100 g), 4 (22,2 mg/100 g), 3 (21,8 mg/100 g) şeklinde sıralanmıştır.

Kıralan ve ark (2008), Doğu Akdeniz Bölgesinin farklı kesimlerinden topladıkları Kilis Yağlık, Halhalı, Karamani, Haşebi ve Nizip Yağlık çeşitleri ile yaptıkları çalışmada zeytinyağındaki oksidatif stabiliteyi etkileyen bazı kimyasal özellikleri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda Halhalı çeşidi (Nizip- Gaziantep) en

yüksek toplam fenol içeriğine (495,42 mg /kg), Kilis Yağlık çeşidi ise en düşük içeriğe (38,31 mg/kg) sahip olmuştur. Halhalı'yı sırasıyla Nizip Yağlık (241,55 mg/kg), Karamani (161,38 mg/kg), Halhalı (Hatay) (138,03 mg/kg) ve Haşebi (114,08 mg/kg) çeşitleri izlemiştir.

Pirgün ve Keçeli (2008), Hatay'da yetiştirilen Halhalı ve Gemlik zeytin çeşitlerinden olgunluk başı ve sonunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi sentetik bir antioksidan olan Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT) ile karşılaştırılarak incelenmiştir. Zeytinden elde edilen fenolik ekstraktlar ve BHT'nin antioksidan aktiviteleri, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) kullanılarak metanol yağ ve suda-yag emülsiyonunun kullanıldığı sistemlerde değerlendirilmiştir. Zeytinlerin toplam fenol içeriklerinin 206 mg/100g ile 315 mg/100g (CAE) arasında çeşide bağlı olarak değiştiği ve toplam fenol içeriğinin olgunlaşma ilerledikçe azaldığı saptanmıştır.

Tokoferoller hassas organik bileşiklerdir ve genotip x çevre interaksiyonundan oldukça etkilenirler. Bu durumun etkisinin incelendiği çalışmada Arslan (2010), Ayvalık, Gemlik, Kilis Yağlık ve Sarı Ulak zeytin çeşitlerinin toplam fenol ve tokoferol içeriklerini belirlemek adına farklı lokasyonlardan 2 yıl süreyle veri elde etmişlerdir. Toplam fenolik madde içeriği bakımından Ayvalık ve Gemlik çeşitlerinde Antalya, Sarı Ulak çeşidinde Ceyhan ve Alanya, Kilis Yağlık çeşidinde Urfa en iyi değerleri göstermiştir. Yağışın ve rakımın diğer lokasyonlara göre daha fazla olduğu lokasyonlara ait yağ örneklerinde toplam fenolik bileşiklerin düşük ve α -tokoferolün daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tokoferol içeriği bakımından Sarı Ulak ve Kilis Yağlık çeşitleri daha yüksek değerler göstermiştir. Ayvalık ve Sarı Ulak çeşitlerinin meyvelerinde fenolik bileşikler en yüksek, Gemlik çeşidinde ise en düşük olarak belirlenmiştir.

Zeytin meyvesinin sofralık tüketimin yanı sıra zeytinyağı olarak da kullanılması içerisinde barındırdığı bileşiklerin ortaya konulmasını gerektirmiştir. Zeytinyağı kalitesinin botanik ve coğrafi orijin ile ilişkili olması ile zeytinyağının

çeşit ve bölgesel karakterizasyonu önem kazanmıştır. İlyasoğlu ve Çelik (2010), yaptıkları çalışma ile Anadolu'nun ekonomik açıdan en önemli zeytinyağlarından birisi olan Memecik zeytinyağlarının kalite parametreleri, yağ asitleri, triaçilgliserol ve sterol kompozisyonu, α -tokoferol ve toplam fenolik madde içerikleri, fenolik madde ve aroma profilini belirlemişlerdir. Memecik zeytinyağlarında tespit edilen başlıca yağ asitleri oleik asit (% 73.37-75.64), palmitik asit (% 11.45-13.84) ve linoleik asittir (% 7.33-8.91). Triolein (% 63.50-68.32), palmitodiolein (% 18.25-25.82) ve dioleolinolein (% 6.01-9.18) zeytinyağı örneklerinde tespit edilen başlıca triaçilgliserollerdir. Sterol kompozisyonu oluşturan başlıca steroller, b-sitosterol (% 80.76-83.00), D5-avenasterol (% 11.02-12.78) ve kampesteroldür (% 4.01-4.97). Memecik çeşidi zeytinyağlarının fenolik madde profilinde, hidroksitirozol, tirozol, ferulik asit, p-kumarik asit, apigenin ve luteolin ve aroma profilinde hekzanal, hekzanol, E-2-hekzenal, E-2-hekzenol ve Z-3-hekzenol tespit edilmiştir.

Zeytinyağında fenol içeriği; zeytin çeşidi, olgunlaşma düzeyi, hastalıklar ve iklimi de kapsayan birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Kaleci (2010), farklı yetiştirme şartlarının meyve ve yağ kalitesi üzerine etkisini incelediği çalışmasında organik ve konvansiyonel şartlarda yetiştirilen Ayvalık zeytin çeşidini kullanmıştır. Araştırma sonucunda organik olarak yetiştirilen meyve örneklerinde 1 kg'daki meyve sayısı, konvansiyonel olarak yetiştirilenlerden daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu durum meyve 100 dane ağırlığında da belirlenmiştir. Ayrıca meyve büyüklüğü açısından organik şartlarda yetiştirilen meyvelerin daha büyük olduğu belirlenmiştir. Organik şartlarda yetiştirilen meyvelerde ki yağ oranı (%31,46), konvansiyonel şartlarda yetiştirilenlerden (%33,33) daha az bulunmuştur. Tokoferol içeriği açısından organik şartlarda yetiştirilen meyvelerdeki α -tokoferol miktarı (119,9 mg/kg), konvansiyonel şartlarda yetiştirilen meyvelerden (134,15 mg/kg) daha az bulunmuştur. Pek çok araştırmacı yüksek kalitedeki zeytinyağı tokoferol içeriğinin 300 mg/kg olduğu, düşük kaliteli ve yüksek asitli zeytinyağında bu değerin 5 mg/kg' a kadar düştüğünü bildirmiştir. Sonuçta,

Ayvalık zeytin çeşidinin organik şartlarda yetiştirildiğinde yağ kalitesinin iyi olması organik yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılmasında etkili olabileceğini düşündürmüştür.

Aşık ve Özkan (2011), Aydın ili çevresinden topladıkları Memecik zeytin çeşidine ait örnekleri et ve kabuk rengi dikkate alınarak olgunluk indeksinin son safhasında (OI: 6.91) elle hasat etmişlerdir. Örneklerden laboratuvar koşullarında iki fazlı kesikli bir sistem kullanılarak mekanik yoldan yağ elde etmişlerdir. Örneklerin içerdiği α -tokoferol miktarını analitik olarak belirlemek için 4 farklı lokasyon kullanmışlardır. Çalışma sonucunda lokasyonların toplam tokoferol içeriği 157,71 mg/kg, 121,13 mg/kg, 130,00 mg/kg ve 65,49 mg/kg olarak belirlenmiştir. Yağların toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi sırasıyla 169,25 mg gallik asit eşdeğeri/kg ve %85,55 (DPPH radikalinin yüzde inhibisyonu) olarak bulunmuştur.

Sevim ve ark (2013), Erkence zeytin çeşidinin hurmalaşmış ve hurmalaşmamış meyvelerinde yaptıkları çalışmada bazı kimyasal özelliklerin kalite üzerine etkisini araştırmışlardır. Erkence zeytin çeşidinde görülen bu hurmalaşma durumu İzmir'in sadece Seferihisar ve Karaburun ilçelerinin bazı kesimlerinde görülmektedir ve iklimsel koşullar nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Araştırma sonucunda yağ oranı bakımından farklılık görülmezken, hurmalaşmamış zeytinyağı örneklerinde toplam fenol miktarı 87,14 mg/kg olarak belirlenirken, hurmalaşmış örneklerin yağında ise 69,80 mg/kg olarak belirlenmiştir. Bu durumun hurmalaşmış zeytinlerin daha olgun ve şekerli olmasından kaynaklanabileceği vurgulanmıştır. Tokoferol içeriği bakımından ise önemli bir farklılık belirlenmemiştir.

Türkiye'de uzun bir geçmişe sahip olan zeytin yetiştiriciliği, zaman içerisinde bölgelerin kendisine özgü yöresel çeşitlerinin ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Şeker ve ark (2013), Doğu Karadeniz Bölgesi'ne özgü Butko, Otur ve Satı zeytin çeşitleri üzerinde yaptıkları çalışmada bu çeşitlerden Kasım-Aralık ayında aldıkları örneklerden zeytinyağı kalitesini belirlemişlerdir. Çalışmada

toplam fenol içeriği açısından en yüksek değeri Butko (89,00 mg/kg) çeşidi alırken, sırasıyla Sati (79,00 mg/kg) ve Otur (78,00 mg/kg) çeşitleri izlemiştir.

Natürel zeytinyağının kalitesini belirleyen kriterlerden biri de tokoferol içeriğidir. En aktif formu ise (%90) α -tokoferol (Vit E9)'dür. Natürel sızma zeytinyağında 151-178 mg/kg miktarında α -tokoferol olduğu belirtilmektedir. Ayrıca zeytinyağında tokoferolün dışında klorofil, karotenoid, fenolik bileşikler gibi çeşide, iklime, yetiştirilme koşullarına göre değişen pek çok minör bileşik bulunmaktadır. Sevim ve ark (2016), Türkiye için önemli Ayvalık, Gemlik ve Uslu zeytin çeşitlerinden elde edilen yağlarda tokoferol ve toplam fenolik madde miktarlarını tespit etmişlerdir. Toplam fenolik madde miktarı 383,67 mg CAE/kg ile en yüksek Gemlik çeşidinde, 46,15 mg CAE/kg ile en düşük Ayvalık çeşidinde belirlenmiştir. Gemlik çeşidini sırasıyla Memecik (304,94 mg CAE/kg) ve Uslu (162,56 mg CAE/kg) izlemiştir. α -Tokoferol içeriği en yüksek 340,44 mg/kg ile Memecik iken, en düşük 194,99 mg/kg ile Gemlik çeşidi sahip olmuştur. Memecik'i sırasıyla Uslu (297,18 mg/kg) ve Ayvalık (243,19 mg/kg) çeşitleri izlemiştir.

2.2. Zeytin ve Diğer Türlerde *OeCHL P* Geninin Bitki Metabolizmasındaki İşlevleri ve İfade Seviyelerine Yönelik Çalışmalar

CHL P geni tütün, *Arabidopsis*, soya fasulyesi, *Carpobrotus edulis*, fotosentetik bakterilerde detaylı olarak araştırılmıştır. Son zamanlarda ise tütün ve şeftalide ışık ile bu genin ekspresyon seviyesinin arttığı bildirilmiştir. Ancak çok az çalışmada *CHL P* geni ekspresyonunda fitohormonlar ve ışık miktarının etkileri üzerinde durulmuştur.

Zeytin meyvesinin moleküler yönlerinin karakterizasyonu ile gelişme, olgunlaşma ve strese olan tepkisine yönelik artan miktarda veri elde edilmektedir. Son zamanlarda zeytinde bir dizi farklı şekilde ifade edilen genlerin sayısı farklı gelişimsel ve fizyolojik durumlardaki meyve, yaprak ve köklerde belirlenmiştir. Böyle büyük bir sekans dizisinin varlığı hedeflenen gen ekspresyon çalışmalarını önemli ölçüde teşvik etmektedir. Sistematik/hedeflenmemiş ve hedefe yönelik

transkripsiyonel çalışmalar hassas ve güvenilir araçlar için kullanılabilirlik gerektirir. Sistematik yaklaşımlar transkripsiyon düzenleyici bir bakış açısı sağlarken, verilerin içten kaynaklanan geniş deneysel değişkenliğinden olumsuz etkilenmektedir. Dolayısıyla daha fazla kesin nicel yaklaşımlar ile ilgili seçilmiş genlerin diferansiyel transkript akümüülasyonunun doğrulanmasına ihtiyaç vardır.

Tanaka ve ark (1999), Arabidopsis ve bakteriyel *CHL P*'ye homolog olan bir 52-kD prekürsor proteinini kodlayan tütün cDNA sekansını tanımlamışlardır. Tokoferol ve klorofil içeriği açısından yetersiz transgenik (transformant) bitkilerde yapılan çalışmada *CHL P* ifadesinin azaldığı belirlenmiştir. Sonuçta büyümesi gecikmiş ve soluk/rengarenk bir fenotip belirlenmiştir. Yüksek (500 photon $\mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$; HL) ve düşük (70 photon $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$; LL) ışıktaki yetişen transformantlar yaprak gelişimi sırasında düşük bir tokoferol içeriği göstermiştir. Ancak yüksek ışık şartlarında yabani tip (wild-type) bitkilerinin büyümesi esnasında tokoferol içeriği 2 kat artış göstermiştir. Toplam klorofil içeriği yüksek ışık şiddeti şartlarında düşük ışık şiddeti şartlarına göre daha hızlı düşmüştür. Klorofil içeriğinin %58'den fazlası düşük ışık şiddeti şartları altında fitol yerine geranil-geraniyol ile esterlenmiştir. Çalışmanın sonucunda zararlı çevre koşullarına karşı modifiye edilmiş tokoferol seviyeleriyle bitkilerin adaptasyonunun araştırılması için transformantların değerli bir model olduğunu ve *CHL P* geninin, tokoferol ve klorofil sentezi için fitol sağladığı belirlenmiştir.

Giannino ve ark (2004) şeftalide tek kopya geni olan *PpCHL P*, stoplazma kloroplast transportando nikotinamid bağlama bölgesi için transit bir peptidi barındıran 51,68 kD'lık bir ürünü kodladığını bildirmişlerdir. *PpCHL P* mesajının, klorofil içeren doku ve çiçek organlarında bol miktarda, olgunlaşan meyvelerin mezokarpları ve köklerinde ise nadiren bulunduğunu belirlemişlerdir. Bu durum transkripsiyonun plastid tipi ve olgunlaşma aşaması ile ilgili olabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca bu mesaj, sürgün uç meristemlerinde ortaya çıkmamış ancak erken safhalarda yaprak hücrelerinde baştan uca yayılmış ve esas olarak genç yaprakların palisadı içinde yer almıştır. Bu nedenle *PpCHL P* geninin

transkripsiyonu yaprak gelişimi sırasında düzenlenmiş olmasının muhtemel olacağı bildirilmiştir. Gen ifadesi doğal karanlık, suni karanlık, soğuk, yaralanma ve yaprak kıvrıkcıklaşma gibi stres faktörleri sırasında da izlenmiştir. Transkripsiyonu ışık uyarırken karanlık ve soğuk stresi baskılamıştır. Karanlıkta bırakılmış yapraklarda *PpCHL P* mesajı katalaz enzimi ile eş zamanlı olarak artmıştır. Yaralı yapraklarda bu mesaj azalmış ancak hızlı bir iyileşme görülmüştür. Kıvrıkcıklaşma görülen yapraklarda ise, gen ifadesinin azalmasının yaprak hasarı yoğunluğu ile ilişkilendirilmiştir. Ancak doğal, mekanik (iğne yardımı ile) ve *Taphrina deformans* isimli patojenik bir mantar tarafından zarar verilmiş hücreler incelendiğinde transkripsiyon sinyallerinin arttığı görülmüştür. Sonuçlar *PpCHL P* ifadesinin fotosentez aktivitesi ile regüle edildiği ve savunma mekanizmasında görev yaptığını göstermiştir.

Lee ve ark (2007), erken dönemde meyve gelişimine katılan genleri belirlemek için, Fuji elma çeşidinin genç ve yaşlı bireylerinden toplanan 6,253 cDNAs kullanmışlardır. Bu cDNAs dizilerinden 3,484 cDNA mikrodizisi kalite kontrolünden sonra seçilmiş ve farklı doku ve genç meyvelerin arasındaki diferansiyel gen ekspresyon modelleri için analizler yapılmıştır. Bunlar arasında 192 cDNA, genç meyvelerde diğer dokulara göre iki kattan daha fazla bir sinyal değeri göstermiştir. Blast analizi ile 192 cDNA klonunun bilinen fonksiyona sahip proteinlerini kodlayan 88 anlamlı grubu ve bilinmeyen fonksiyona sahip 50 anlamlı grubu tanımlanmıştır. Varsayılan protein grupları; fotosentez (%16,7), protein sentezi (%12,3), hücre çoğalması ve farklılaşması (%10,9), hücre genişlemesi (%5,8), metabolizma (%8), strese tepki (%7,2), diğerleri (%2,9) ve bilinmeyen fonksiyonlar (%32,2). Çalışma sonucunda *CHL P* geni metabolizmada görev yapan 7 genden biri olarak belirlenmiştir.

OeCHL P gen ekspresyonu modülasyonu, bitki gelişimi ve stres şartları altında kompleks bir genetik network izlemektedir. Bruno ve ark (2009), zeytinde organ gelişimi ve stresten sorumlu geranyl geranyl redüktaz geninin rolünü araştırdıkları çalışmada “Coralea” çeşidini kullanmışlardır. *OeCHL P*

transkripsiyonunun sitolojik örnekleri ve seviyeleri *in situ* hibridizasyon ve kantitatif RT-PCR yolu ile araştırdıkları çalışmada, bu genin tanımlanmış iki kopyasının Coralea çeşidinin her haploid kopyasını taşıdığını bildirmişlerdir. Yaprak ve meyvelerin farklı gelişimsel aşamalarında *OeCHL P* geni morfo-fizyolojik özellikleri ile ilişkili olarak farklı ifade edilmiştir. Soğuğa maruz kalmış (4°C) farklı yaşlardaki yapraklar ve mekanik olarak zarara uğramış meyvelerde gen transkripsiyonunun erken ve geçici olarak geliştiği tespit edilmiş ve ayrıca *OeCHL P* transkripsiyonu *Bactrocera olea*. patojeni tarafından zarar gören meyvelerin spesifik hücrelerinde lokal olarak arttığı belirlenmiştir. Bütün veriler incelendiğinde *OeCHL P* geni ifadesinin erken dönemde biyotik ve abiyotik stres faktörlerine yanıt verdiğini ve stres altındayken gen aktivitesinin tokoferol aktivitesi ile ilgili olabileceğini bildirmişlerdir.

Galla ve ark (2009), yaptıkları çalışmada gelişmekte olan zeytin meyvelerindeki en çok ifade edilen genlerin tanımlanması ve farklı yazılımlar aracılığıyla hesaplamaların yapılmasıyla ilgili çalışmalarında, Leccino çeşidinin 3 farklı gelişim aşamasından (tam çiçeklenmeden 30 gün sonra (DAF) A, çukur sertleşmesi B (90 DAF), ben düşme C (130 DAF)) dönemlerinde aldıkları örneklerde total RNA ekstraksiyonu yapmışlardır. Elde edilen cDNA'lar meyve gelişimi, büyümesi ve olgunlaşmasını karakterize eden ana süreçlerde, esas olarak söz konusu olan farklı şekilde ifade edilen genlerin tanımlanması için kullanılmıştır. yukarı ve aşağı yönde regüle edilen genleri izole etmek için 4 subtraktif (çıkarmalı süreç) hibridizasyon kütüphanesi inşa edilmiş; forward ve reverse A ve B arasında; forward ve reverse B ve C arasında. Bütün diziler BlastX programı ile analiz edilmiş ve yaklaşık %60'ı bilinen proteinlerle benzerlik göstermiştir. Kütüphaneye özgü cDNA repertuarları gen ontolojisinin (GO) 3 ana kelimesine göre açıklanmıştır. 1) hücresel bileşen 2) biyolojik süreç 3) moleküler fonksiyon. BlastX analizi GO term haritalama ve ek açıklama analizi Blast2GO yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

Bruno ve ark. (2010), son yıllarda *Posidonia oceanica* L. (deniz çayırı) türünün azalmasını Akdeniz Havzası'ndaki ışık mevcudiyetinin azalmasına bağlamışlardır. Bu deniz yosunundaki fotoaklimasyonun moleküler mekanizmalarını araştırmak için *CHL P* genini ışık varlığına cevap veren bir markır olarak seçmişlerdir. *PoCHL P* geni karakterize edildikten sonra daha önce katagorize edilmiş 2 farklı çayırdan yaprak örnekleri alınmıştır. Bitkiler farklı mevsimlerde ve ışık mevcudiyetinin 1 yıl boyunca görüntülediği çayırardan alınmıştır. Sonuçlar *PoCHL P* geninin yaprak gelişim dönemlerine göre farklı ifade edilmiş ve *P. oceanica* için belirlenen kompasyon değerinin çok altındaki ışık şartlarında ekspresyon seviyesi çabuk değişmiştir. Bu nedenle bu genin tanımlanması, stresle ilişkili fonksiyonel karakterizasyonuna doğru önemli bir model olmuştur.

Farklı ışık dalgaları etkisinde kalmış bitkilerde *CHL P* gen aktivitesi de değişmektedir. Park ve ark. (2010), Japonya'nın Jeonju bölgesinden çiçeklenmeden 14 ve 28 gün sonra topladıkları susam kapsüllerinin içindeki tohumları ayırmışlardır. Ayrılan tohumlar 7 gün sonra çimlenmiştir. Fideler büyüdüktan sonra kotiledon, hipokotil ve köklere ayrılmıştır. *SiCHL P* geninin ekspresyonunun kotiledonlarda ışıkla arttığını ancak kırmızı ışıkta, koyu kırmızı ve mavi ışıktan daha yüksek bir seviyeye çıktığını ancak karanlık ortam, etilen ve absisik asit ile azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca ekspresyon seviyesi yapraklarda ve gelişen tohumlarda ışıkla birlikte artarken, karanlık ortam, etilen ve ABA seviyesi ile azalmıştır.

Muzzalupo ve ark. (2011), İtalya'ya özgü soğuğa dayanıklı 11 zeytin çeşidinde iki farklı dönemde (yeşil ve siyah olum) aldıkları meyve örneklerinde *CHL P* geninin transkripsiyon seviyelerini belirlemişlerdir. Zeytinde perikarp olgunlaşması sırasında *CHL P* geni ekspresyonunu belirledikleri çalışmada yeşil dönemde yapılan analizleri meyvenin 129. gününde, siyah dönemi ise 190. günde almışlardır. Farklı perikarp olgunluk aşamalarında alınan örneklerde aynı çeşitlerin antioksidan kapasitelerinde önemli farklılıkların olduğunu belirlemişlerdir.

Çalışmanın sonucunda tokoferol ve *CHL P* geni arasında bir bağlantı olduğunu bildirmişlerdir. Meyve örneklerinde yeşil ve siyah olum dönemlerinde meyve bünyesindeki fenolik madde içeriği değişmiştir.

mRNA ölçümü için en çok kullanılan qPCR tekniğinde ekstraksiyon için sağlam yöntemler oluşturmak için ön çalışma yapılması gerekmektedir. Tam olarak fonksiyonel RNA'nın ve transkriptlerin güvenilir miktarının elde edilmesi için en iyi referans genlerin tanımlanması gerekir. Nonis ve ark (2012), zeytin yaprağı ve meyvesinden aldıkları örnekler de en uygun RNA ekstraksiyon metodlarını belirleyerek, yaralanmaya maruz kalmış ve meyve gelişim/olgunlaşma serilerine ait 21 RNA örneği üzerinde potansiyel aday referans genlerini değerlendirmişlerdir. İki farklı algoritma yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçlara göre GAPDH2 ve PP2A1' in en iyi referans genler olduğunu belirlemişlerdir.

CHL P geni 2012 yılına kadar monokotiledon bitkilerde tanımlanmamıştır. Ancak sonunda Zhou ve ark. (2013), ⁶⁰Co radyasyonu uygulanmış *Japonica rice* ZH11'in nesillerinden bir yellow leaf mutantını (lyl1) izole etmişlerdir. Lyl1 mutantının fenotipi harita bazlı klonlama ve RNA interference (RNAi) yaklaşımları ile *CHL P* için LOC_Os02g51080 geninde bir nokta mutasyonu ile oluştuğunu bildirmişlerdir.

Wang ve ark (2014), 502ys pirinç mutantından klorofil sentezinin gen seviyesindeki sayısal değeri için *CHL P* genini tanımlamışlardır. Sarı-yeşil yaprak mutantı izole edilmiş ve bu mutant düşük klorofil miktarı sergilemiştir. Bunun sonucunda kloroplastların gelişimi durmuş ve büyüme hızı gecikmiştir. 502ys mutantının fenotipinin, 2 kromozomun uzun kolundaki bir nükleer gende bir resesif mutasyonla kontrol edildiğini belirtmişlerdir. Mutantın harita bazlı klonlanması *OsCHL P* (LOC-Os02g51080) geninin tanımlamasıyla sonuçlanmıştır. 502ys mutantında genin DNA sekansında 1279 kalıntıda tek bir baz çifti mutasyonu belirlenmiştir. Bu da, kodlanmış proteinde bir amino asit değişimi (Gly-206- Ser) ile sonuçlanmıştır. klorofillerin HPLC analizi, klorofil moleküllerinin çoğunluğunun mutant içinde az miktarda normal klorofile ek olarak doymamış bir

geranylgeraniol yan zinciri ile konjuge edildiğini göstermiştir. Ayrıca mutant fenotip yabani tip (wild-type) geninin transformasyonu ile tamamlanmıştır. Çalışmanın sonucunda *OsCHL P* genindeki bir tek baz çifti mutasyonundan kaynaklanan 502ys mutantını doğrulamıştır.

Liu ve ark (2015), domateste önceden yaptıkları bir çalışmada soğuk stresinin *CHL P* gen aktivitesini baskıladığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise *ShCHL P* gen aktivitesinin yaprak ve gövdede yüksek, köklerde çok az ifade olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında düşük-yüksek sıcaklıklar, kuraklık, tuz ve oksidatif stres ile de baskılandığı belirlenmiştir. Transgenik domates bitkilerinde aşırı ifade olan *ShCHL P* geninin, yapraklarda α -tokoferol ve klorofil seviyesini arttırdığı gözlenmiştir. Kloroz gösteren co-suppresyon bitkilerinde klorofil ve α -tokoferol içerikleri azalmıştır. Bu sonuçlar önceki çalışmalarda da ifade edilen tokoferol ve klorofil sentezi için *CHL P* geni ifadesinin gerekli olduğunu doğrulamıştır. Aynı zamanda *ShCHL P* geninin, aşırı ifade ve baskılama hatlarının yabani tip ile kıyaslandığında normal, tuzlu ve ozmatik şartlar altında büyüyen erken fide dönemindeki bitkileri iyileştirdiği belirlenmiştir.

Vinutha ve ark (2017), yaptıkları çalışmada tokoferollerin ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) biyosentezini yöneten enzimlerin çalışma prensibini anlamak için iki soya fasulyesi çeşidi kullanmışlardır. Sonuçlar 5 genin önemli derecede diferansiyel ekspresyonunu göstermiştir. Bragg çeşidi, DS74 çeşidine göre *CHL P* transkripsiyonunda kayda değer bir artış (2 kat) göstermiştir.



3. MATERYAL VE METOT

Araştırma 2017 ve 2018 yıllarında Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü ve İzmir Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nde yürütölmüştür. Çalışmanın ilk yılında (2016-2017) araştırmada kullanılan çeşitlerden meyve örnekleri İzmir Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nde bulunan Şekil 3.1.'de yeralan Zeytin Genetik Kaynakları Koruma parselinden alınmış ve soğuk zincir ile Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsüne taşınmıştır. İkinci yılda da (2018-2019) aynı işlemler tekrarlanmıştır. Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsüne getirilen örneklerin kimyasal analizleri Enstrümental Analiz laboratuvarında ve gen ekspresyon çalışmaları ise Biyoteknoloji laboratuvarında iki yıl üst üste yapılmıştır.



Şekil 3.1. Zeytin Örneklerinin Alındığı Zeytin Genetik Kaynakları Koruma Parseli, Kemalpaşa.

3.1. Materyal

Araştırmada, 39 adet farklı zeytin çeşidi materyal olarak kullanılmıştır. Bu çeşitlerin seçilmesinin sebebi ölkemize özgü ticari ve yöresel çeşitler olmalarıdır. Ayrıca, bu çeşitler arasında son yıllarda tamamlanan çalışmalar sonucunda soğuğa dayanıklı olduğu saptanan çeşitler de yer almaktadır. Çizelge 3.1.'de çalışmada kullanılan çeşitlere ait orijinleri, coğrafi dağılımı, kullanım şekli ve sinonim adlarına dair detaylı bilgiler verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede Kullanılmış Çeşitler, Orijinleri, Coğrafi Dağılımı, Kullanım Şekli ve Sinonim Adları

No	Çeşitler	Orijin	Coğrafi Dağılım	Kullanım Şekli *	Sinonim
1	Ayvalık	Edremit	Çanakkale, Körfez, İzmir, Mersin, Adana, Kahramanmaraş, Mardin	Y, Ç, SS	Edremit Yağlık, Şakran, Midilli, Ada zeytini
2	Butko	Artvin	Artvin ve civarı	S, Y	-
3	Çakır	İzmir	İzmir ve çevresi	Y	-
4	Çekişte	Ödemiş	Kiraz, Torbalı, Ödemiş, Nazilli, Sultanhisar, Yenipazar	YS	-
5	Çelebi (İznik)	İznik- Bursa	Marmara Bölgesi	YS	İznik Çelebi
6	Çilli	Kemalpaşa-İzmir	Kemalpaşa civarı	YS	Tekir, Provens, Goloz
7	Domat	Akhisar	Akhisar, Turgutlu, Saruhanlı, İzmir, Kemalpaşa, Söke, Selçuk, Aydın, Karacasu, Kuyucak	YS	-
8	Edincik su	Balıkesir	Edincik, Erdek, Bandırma	SS	Su Zeytini
9	Erkence	İzmir	İzmir ve çevresi	Y, SS	İzmir Yağlık, Yerli Yağlık, Hurma Zeytin
10	Eşek zeytini (Ödemiş)	Ödemiş-İzmir	Ege, Marmara Bölgesi	YS	Çelebi, Palamut, Bey Zeytini, Kalamata
11	Gemlik	Gemlik, Bursa	Bursa, Tekirdağ, Mersin, Bilecik, Kocaeli, Adana, Kastamonu, Sinop, Zonguldak, Samsun, Trabzon, İzmir, Aydın, Balıkesir, Manisa, Akhisar, Antalya	SS	Trilye, Kaplık, Kıvırcık, Kara
12	Girit Zeytini	Bodrum-Muğla	Ege Bölgesi	Y	-
13	Görvele	Artvin	Artvin ve civarı	Y	-
14	İzmir sofralık	İzmir	İzmir ve çevresi	YS	-
15	Kan Çelebi	Nizip	Gaziantep	S	-
16	Kara yaprak	Aydın	Aydın, Manisa	Y	-
17	Kilis yağlık	Gaziantep, Nizip	Gaziantep, Kilis, Şanlıurfa, Kahramanmaraş, Mardin	Y	

Çizelge 3.1. Devamı

No	Çeşitler	Orijin	Coğrafi Dağılım	Kullanım Şekli *	Sinonim
18	Kiraz	Akhisar, Yayaköy	Manisa ve çevresi	Y, S	-
19	Marantelli	Trabzon	Akçaabat ve civarı	S	-
20	Mavi	Derik	Mardin	Y	-
21	Memecik	Muğla	İzmir, Aydın, Sinop, Manisa, Denizli, Muğla, Kastamonu, Antalya, Kahramanmaraş	S, Y	Aşı Yeli, Gülümbe, Şehir, Tekir, Taşarası, Yağlık
22	Memeli	Menemen	Menemen, Turgutlu, Kemalpaşa	YS, Y	Ak zeytin, Emiralem, Çekişte
23	Nizip Yağlık	Gaziantep, Nizip	Nizip, Kahramanmaraş, Mardin-Cizre	Y, S	-
24	Otur	Artvin	Artvin ve civarı	S, Y	-
25	Patos	Trabzon	Trabzon ve civarı	S, Y	-
26	Saçaklı otur	Artvin	Karadeniz Bölgesi	Y, S	Otur
27	Samsun tuzlamalık	Samsun	Samsun ve civarı	S	-
28	Samsun yağlık	Samsun	Samsun ve civarı	SS, Y	-
29	Sarı ulak	Tarsus-Mersin	Mersin, Tarsus, Kozan, Erdemli, Gülnar, Yumurtalık, Adana-Seyhan	S	-
30	Satı	Artvin	Artvin ve civarı	S, Y	-
31	Saurani	Hatay, Altunözü	Hatay ve çevresi	Y, S	Savrani
32	Sinop no 1	Sinop	Sinop ve civarı	S, Y	-
33	Sinop no 4	Sinop	Sinop ve civarı	S, Y	-
34	Sinop no 5	Sinop	Sinop ve civarı	S, Y	-
35	Sinop no 6	Sinop	Sinop ve civarı	S, Y	-
36	Tekirdağ çizmelik	Tekirdağ, Şarköy	Marmara Bölgesi	YS, Ç	Goloz
37	Trabzon yağlık	Trabzon	Trabzon civarı	Yağlık	-
38	Uslu	Akhisar	Akhisar, Muğla, Selçuk, Yatağan, Turgutlu, Kemalpaşa	SS	-
39	Yün çebebi	Nizip	Güneydoğu Anadolu Bölgesi	S	-

*Y: Yağlık, S: Sofralık, YS: Yeşil Sofralık, SS: Siyah Sofralık, Ç: Çizmelik

Denemeye materyallerinin temin edildiği Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü “Zeytin Genetik Kaynakları Koruma Parseli’nin bulunduğu ilçenin iki yıla ait aylara göre sıcaklık ve yağış ortalamaları Çizelge 3.2.’de verilmiştir. Bu veriler Kemalpaşa Meteoroloji İstasyonu’ndan temin edilmiştir.

Çizelge 3.2. 2017 ve 2018 Yıllarına Ait Aylara Göre Ortalama Sıcaklık Değerleri

Ay	Yıl	Ortalama Sıcaklık (°C)	Ortalama Yağış (mm)	Yıl	Ay	Ortalama Sıcaklık (°C)	Ortalama Yağış (mm)
1	2017	3,3	246,4	2018	1	6,1	81,8
2	2017	7,9	50,2	2018	2	9,8	119,6
3	2017	11,0	88,0	2018	3	13,0	58,4
4	2017	14,2	15,4	2018	4	17,2	10,0
5	2017	19,2	43,4	2018	5	21,5	26,2
6	2017	24,4	18,4	2018	6	24,1	46,8
7	2017	27,7	13,0	2018	7	27,3	24,0
8	2017	27,2	0,0	2018	8	27,4	6,6
9	2017	22,9	0,0	2018	9	23,1	6,6
10	2017	16,2	0,0	2018	10	16,6	61,6
11	2017	10,0	72,2	2018	11	12,4	83,0
12	2017	9,1	116,0	2018	12	8,7	108,4

Denemede yer alan çeşitlere ait yeşil ve siyah olum dönemi örnekleri resimleri Çizelge 3.3.’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Denemede Kullanılan Çeşitlere Ait Yeşil ve Siyah Olum Dönemi Örnekleri

Çeşidin Adı	Yeşil ve Siyah Olum Dönemi
Ayvalık	
Butko	

Çizelge 3.3. Devamı

Çakır	
Çekişte	
İznik Çelebi	

Çizelge 3.3. Devamı

Çilli	
Domat	
Edincik su	

Çizelge 3.3. Devamı

Erkence	
Eşek Zeytini (Ödemiş)	
Gemlik	

Çizelge 3.3. Devamı

Girit Zeytini	
Görvele	
İzmir Sofralık	

Çizelge 3.3. Devamı

Kan Çelebi	
Kara Yaprak	
Kilis Yağlık	

Çizelge 3.3. Devamı

Kiraz	
Marantelli	
Mavi	

Çizelge 3.3. Devamı

Memecik	
Memeli	
Nızıp Yağlık	

Çizelge 3.3. Devamı

Otur	
Patos	
Saçaklı Otur	

Çizelge 3.3. Devamı

Samsun Tuzlamalık	
Samsun Yağlık	
Sarı Ulak	

Çizelge 3.3. Devamı

Satı	
Saurani	
Sino No 1	

Çizelge 3.3. Devamı

Sinop No 4	
Sinop No 5	
Sinop No 6	

Çizelge 3.3. Devamı

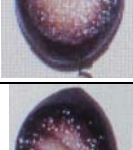
Tekirdağ Çizmelik	
Trabzon Yağlık	
Uslu	

Çizelge 3.3. Devamı

Yün Çelebi	
---------------	--

Zeytinin olgunluk derecesi hasat zamanının belirlenmesinde önemli faktördür (Cebeci, 2007). Örnekler arasında olgunluk farkından kaynaklanacak problemi çözmek için bütün çeşitlerden meyve örnekleri tüm ağacı temsil edecek şekilde alınmıştır. Yeşil olum dönemi meyveleri Çizelge 3.4.'de verilen olgunluk tayininde kullanılan 0-7 skalasında 1'i ve siyah olum dönemi meyveleri 6'yı temsil edecek şekilde ve Çizelge 3.5.'de verilen tarihlerde alınmıştır.

Çizelge 3.4. Meyve Olgunluğu Grupları ve Olgunluk Dereceleri

Meyve Kabuğu	Koyu Yeşil	0	
Meyve Kabuğu	Sarı, Sarımsı Yeşil	1	
Meyve Kabuğu	Renk Değişimi (kızarma-morarma) yarıdan az	2	
Meyve Eti	Renk Değişimi (kızarma-morarma) yarıdan fazla	3	
Meyve Eti	Kabuk siyah-mor, et beyaz	4	
Meyve Eti	Kabuk siyah-mor, et morluğu yarıdan az	5	
Meyve Eti	Kabuk siyah-mor, et morluğu yarıdan fazla	6	
Meyve Eti	Kabuk siyah-mor, et çekirdeğe kadar siyah-mor	7	

Çizelge 3.5. 39 Çeşide Ait Çiçeklenme, Yeşil ve Siyah Olum Tarihleri

Çeşitler	2017 Çiçeklenme Tarihleri	Yeşil Olum Dönemi (129. Gün)	Siyah Olum Dönemi (190. Gün)	2018 Çiçeklenme Tarihleri	Yeşil Olum Dönemi (129. Gün)	Siyah Olum Dönemi (190. Gün)
Ayvalık Yağlık	21 Mayıs 2017	27 Eylül 2017	27 Kasım 2017	19 Mayıs 2018	25 Eylül 2018	25 Kasım 2018
Domat	19 May 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Memecik	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	19 Mayıs 2018	25 Eylül 2018	25 Kasım 2018
Uslu	13 Mayıs 2017	19 Eylül 2017	19 Kasım 2017	12 Mayıs 2018	14 Eylül 2018	18 Kasım 2018
Memeli	21 Mayıs 2017	27 Eylül 2017	27 Kasım 2017	20 Mayıs 2018	26 Eylül 2018	26 Kasım 2018
Çilli	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Çekişte	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Çelebi	20 Mayıs 2017	26 Eylül 2017	26 Kasım 2017	20 Mayıs 2018	26 Eylül 2018	26 Kasım 2018
İzmir Sofralık	20 Mayıs 2017	26 Eylül 2017	26 Kasım 2017	20 Mayıs 2018	26 Eylül 2018	26 Kasım 2018
Kiraz	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Çakır	20 Mayıs 2017	26 Eylül 2017	26 Kasım 2017	19 Mayıs 2018	25 Eylül 2018	25 Kasım 2018
Erkence	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Gemlik	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	17 Mayıs 2018	23 Eylül 2018	23 Kasım 2018
Edincik su	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Sarı Ulak	15 Mayıs 2017	21 Eylül 2017	21 Kasım 2017	13 Mayıs 2018	19 Eylül 2018	19 Kasım 2018
Kan Çelebi	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Nizip Yağlık	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Kilis Yağlık	15 Mayıs 2017	21 Eylül 2017	21 Kasım 2017	14 Mayıs 2018	20 Eylül 2018	29 Kasım 2018
Saurani	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	17 Mayıs 2018	23 Eylül 2018	23 Kasım 2018
Samsun Tuzlamalık	15 Mayıs 2017	21 Eylül 2017	21 Kasım 2017	15 Mayıs 2018	21 Eylül 2018	21 Kasım 2018
Mavi	15 Mayıs 2017	21 Eylül 2017	21 Kasım 2017	15 Mayıs 2018	21 Eylül 2018	21 Kasım 2018
Görvele	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Marantelli	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018

Çizelge 3.5. Devamı

Çeşitler	2017 Çiçeklenme Tarihleri	Yeşil Olum Dönemi (120. Gün)	Siyah Olum Dönemi (190. Gün)	2018 Çiçeklenme Tarihleri	Yeşil Olum Dönemi (120. Gün)	Siyah Olum Dönemi (190. Gün)
Patos	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Butko	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Otur	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Saçaklı Otur	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	17 Mayıs 2018	23 Eylül 2018	23 Kasım 2018
Sinop No 5	15 Mayıs 2017	21 Eylül 2017	21 Kasım 2017	15 Mayıs 2018	21 Eylül 2018	21 Kasım 2018
Satı	15 Mayıs 2017	21 Eylül 2017	21 Kasım 2017	15 Mayıs 2018	21 Eylül 2018	21 Kasım 2018
Sinop No 4	16 Mayıs 2017	22 Eylül 2017	22 Kasım 2017	16 Mayıs 2018	22 Eylül 2018	26 Kasım 2018
Sinop No 6	20 Mayıs 2017	26 Eylül 2017	26 Kasım 2017	19 Mayıs 2018	25 Eylül 2018	25 Kasım 2018
Sinop No 1	20 Mayıs 2017	26 Eylül 2017	26 Kasım 2017	19 Mayıs 2018	25 Eylül 2018	25 Kasım 2018
Tekirdağ Çizmelik	15 Mayıs 2017	21 Eylül 2017	21 Kasım 2017	14 Mayıs 2018	20 Eylül 2018	20 Kasım 2018
Eşek Zeytini (Ödemiş)	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	17 Mayıs 2018	23 Eylül 2018	23 Kasım 2018
Yün Çelebi	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	19 Mayıs 2018	25 Eylül 2018	25 Kasım 2018
Girit Zeytini	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Kara Yaprak	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Trabzon Yağlık	19 Mayıs 2017	25 Eylül 2017	25 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018
Samsun Yağlık	20 Mayıs 2017	26 Eylül 2017	26 Kasım 2017	18 Mayıs 2018	24 Eylül 2018	24 Kasım 2018

3.2. Metot**3.2.1. Gen Ekspresyonu Analizleri****3.2.1.1. Total RNA İzolasyonu**

Total RNA izolasyonu Avison (2007)'nın oluşturduğu ve üzerinde modifikasyonlar yaptığımız aşağıdaki protokole göre yapılmıştır:

- Zeytin meyvelerinin perikarp dokularından alınan 100 mg örnekler roller press altında 1 ml trizol (TRI®Reagent T9424 SIGMA) ile iyice ezilmiş ve 1.5 ml'lik eppendorf mikro santrifüj tüplerinde toplanmış ve homojen bir solüsyon olması için vortekslenmiştir.
- Eppendorf mikro santrifüj tüplerine alınan tüm örnekler oda ısısında 15 dakika bekletilmiş ve ara ara vortekslenmiştir.
- Tüplerdeki örnekler trizolün 1 ml'si başına 0,2 ml chloroform:isoamylalcohol (24:1) eklenmiş ve 15 saniye vortekslenmiştir.
- Örnekler 13 000 rpm'de 10 dakika +4 °C'de santrifüjlenmiştir.
- Tüm örnekler ait tüplerde üstte oluşan sıvı faz başka bir tüpe alınmıştır.
- RNA'nın çöktürülmesi için tüplerdeki sıvı fazın üzerine 1 ml trizol başına 0,5 ml isopropanol eklenmiş ve oda ısısında 10 dakika bekletilmiştir.
- Örnekler 13 000 rpm'de 10 dakika + 4 °C'de santrifüjlenmiştir.
- Tüplerde üstte biriken süpernatant atılmış ve altta kalan pelet 1 ml %80'lik EtOH ile yıkanmış ve vortekslenmiştir.
- Örnekler 13 000 rpm'de 10 dakika +4 °C'de santrifüjlenmiştir.
- Süpernatant atıldıktan sonra pelet 5-10 dakika oda ısısında kurutulmuş ve ardından 20-50 µl distile su içinde çözündürülmüştür.

3.2.1.2. RNA'ların Kalite Kontrolü

RNA izolasyon süreci tamamlandıktan sonra numunelerin kalitesi ve miktarı Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Biyoteknoloji laboratuvarında

NanoDrop LITE Spektrofotometre (Thermo Scientific) ile belirlenmiştir (Şekil 3.2.). İki yıla ait meyve perikarplarından izole edilen RNA'ların miktarları ve saflık dereceleri Çizelge 3.6.'da verilmiştir. Total RNA ekstraksiyonu bütün çeşitlerde başarıyla elde edilmiştir.



Şekil 3.2. RNA izolasyonu aşamaları

a: Perikarpların 'roller pres' ile ezilmesi; b: Örneklerin vortekslenmesi; c: Örneklerle isopropanol eklenmesi; d: RNA'ların üst fazda toplanması; e: RNA tüplerinin kurutulması; f: RNA örneklerinin Nanodrop'da kalite ve miktar kontrollerinin yapılması

Çizelge 3.6. 2017 ve 2018 yıllarına ait yeşil ve siyah olum dönemindeki meyvelerin perikarplarından izole edilen RNA miktarları ve saflık dereceleri

Çeşitler	ng/µl	A _{260/280}	ng/µl	A _{260/280}	ng/µl	A _{260/280}	ng/µl	A _{260/280}
Ayvalık	53,5	1,8	479,6	1,93	246,3	1,71	426,45	1,98
Butko	111,5	1,74	1064,6	1,75	133,5	1,7	998,36	1,76
Çakır	92	1,87	388,8	1,77	431,1	1,73	488,56	1,81
Çekişte	48,4	1,82	435,6	1,76	488,3	1,76	524,95	1,86
Çelebi (İznik)	61,3	1,77	235,6	1,84	314,9	1,75	335,76	1,81
Çilli	173,6	1,73	388,7	1,85	133,1	1,77	476,2	1,8
Domat	94	1,76	629,4	1,85	89,6	1,82	458,67	1,77
Edincik su	65,3	1,8	727,8	1,9	101,4	1,82	645	1,76
Erkence	114,5	1,78	894,1	2,06	268,4	1,77	768,25	1,9
Eşek Zeytini (Ödemiş)	215,9	2,05	685,4	1,91	66,4	1,74	777,56	1,9
Gemlik	31,8	1,76	701,29	1,73	100,9	1,8	886,35	1,8
Girit Zeytini	50,7	1,84	1232,5	2,35	559	1,81	873,9	1,79
Görvele	113,9	1,8	400,5	1,7	112	1,76	386,26	1,8
İzmir Sofralık	574,4	1,81	470,26	1,83	1501,7	2,05	567,37	1,8
Kan Çelebi	105,3	1,87	465,7	1,76	424,6	1,73	156,79	1,7
Kara Yaprak	150,9	1,78	238,9	1,85	680,9	1,86	332,56	1,9
Kilis Yağlık	30,2	1,73	475,2	1,75	110,3	1,74	478,26	1,77
Kiraz	66,9	1,78	718,3	1,73	116,4	1,87	567,43	1,77
Marantelli	127,2	1,81	204,8	1,78	128	1,75	378,19	1,86
Mavi	296,7	1,81	1348,9	2,16	525	1,88	997,76	2,14
Memecik	86,5	1,84	1460,4	2,43	116	1,75	889,26	1,88
Memeli	139,2	1,82	873,7	2,03	809,7	1,9	675,33	1,75
Nizip Yağlık	83,8	1,78	669,9	1,86	453,1	1,87	765,67	1,77
Otur	47,7	1,77	470,6	1,75	90,3	1,76	546,88	1,89
Patos	77,1	1,84	368,8	1,7	164,9	1,74	357,41	1,86

Çizelge 3.6. Devamı

Çeşitler	ng/µl	A _{260/280}	ng/µl	A _{260/280}	ng/µl	A _{260/280}	ng/µl	A _{260/280}
Saçaklı Otur	87,5	1,81	456,9	1,74	86,6	1,77	423,36	1,86
Samsun Tuzlamalık	60,1	1,74	828,1	1,89	812,6	1,86	912	1,7
Samsun Yağlık	107	1,84	410,3	1,83	99,5	1,78	526,19	1,83
Sarı Ulak	38,1	1,77	200,3	1,87	460,4	1,75	367,76	1,78
Satı	78,6	1,83	314,7	1,81	691,5	1,82	457,45	1,9
Saurani	39	1,83	949,1	2,1	375,6	1,85	768,24	1,9
Sinop No 1	114,2	1,78	520,7	1,76	180,3	1,77	478,19	1,83
Sinop No 4	61,2	1,86	94,1	1,79	158,9	1,74	126,67	1,76
Sinop No 5	119,1	1,74	505,1	1,91	626,2	1,87	770,23	1,9
Sinop No 6	60	1,73	521,1	1,85	567,1	1,71	513,9	1,8
Tekirdağ Çizmeli	35,5	1,78	87,7	1,85	701,3	1,74	126,98	1,78
Trabzon Yağlık	60,5	1,89	89,4	1,77	92,7	1,78	215,13	1,89
Uslu	269,8	1,7	471,9	1,7	646	1,8	367,29	1,76
Yün Çelebi	368,4	1,73	199,2	1,8	1239,6	1,91	267,48	1,83

3.2.1.3. cDNA (Komplementer DNA) Sentezi

İzole edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi yapılmıştır. cDNA sentezinin ilk dizisi High Reverse Transcriptase cDNA synthesis kit 200 rxn kullanılarak uygulanmıştır. cDNA'yı elde etmek için deney iki aşamaya bölünmüştür. İlk aşamada 5µl RNA, 0,5 µl oligo-dT ve 1µl ddH₂O toplam hacim 6,5 µl olarak denatürasyon için 10 dakika 65°C'de tutulmuştur. İkinci aşama, 5X tampon, 0,25µl Rnase inhibitor, 1µl deoxyribonucleoside trifosfat (dNTP) ve ddH₂O ile 20µL 0,25µl ters transkriptaz enzim ile tamamlanmıştır. Bu karışım 55°C'de 30 dakika ve 85°C'de 5 dakika tutularak amplifiye edilmiştir.

3.2.1.4. Real-Time (Gerçek Zamanlı) PCR reaksiyonu

Real-time PCR reaksiyonu SYBR yeşil boya aracılığı ile gözlemlenmiştir. Bu amplifikasyon sırasında çift zincirli DNA'ya bağlanan SYBR Green I miktarı florimetrik deteksiyon filtresiyle ölçülmektedir (Şekil 3.4.). Bu ölçümlerde floresans, DNA ürünü ile orantılı olarak değişmektedir. Rotor-gene 6000 cihazı, erime eğrisi analizi yapabilme özelliği ile primer dimer oluşumu ve özgül olmayan amplifikasyon ürünleri gibi hataları gözlemlemeye de olanak sağlamaktadır.

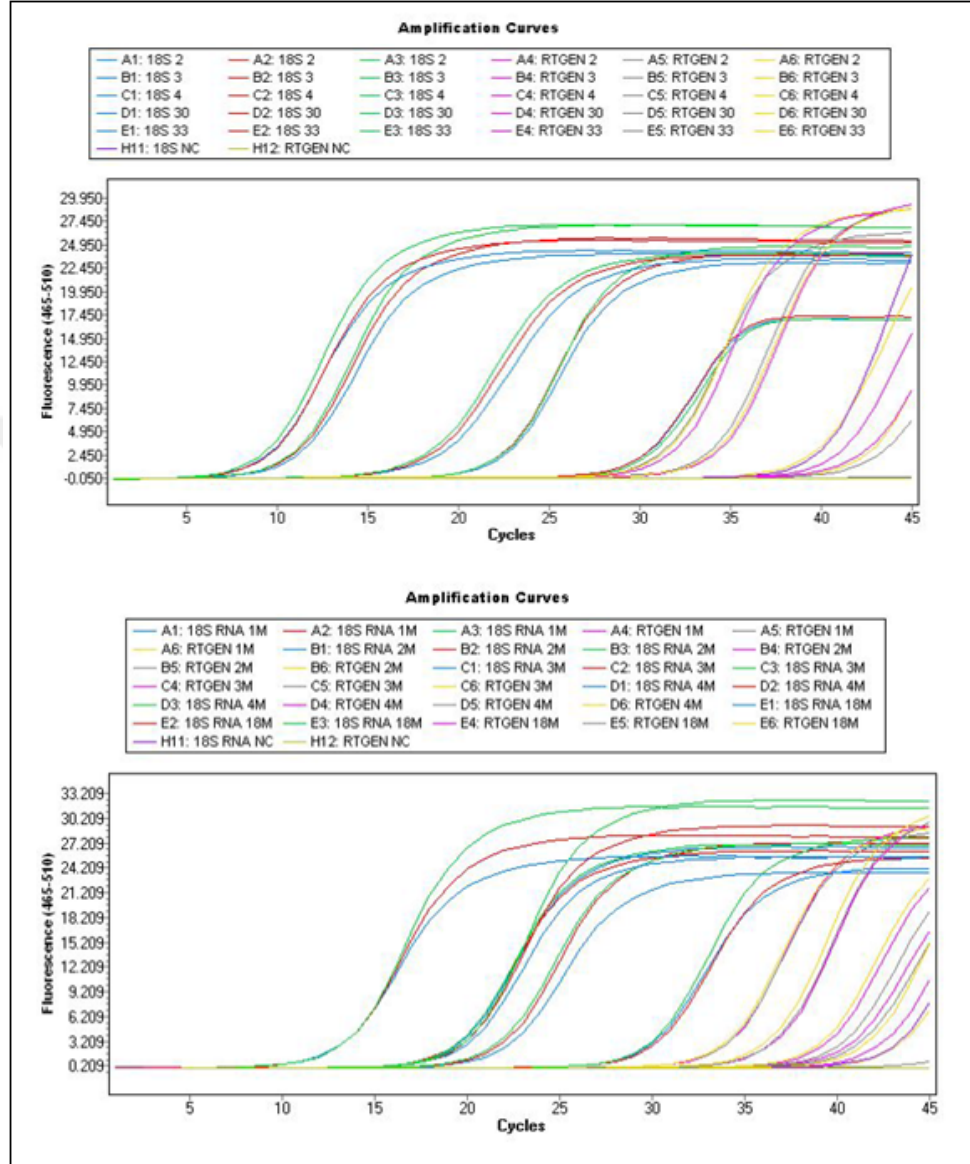
2X SYBR Green karışımı	10 µl
Forward primer	0,5 µl
Revers primer	0,5 µl
cDNA	5 µl
Distile su	4 µl
Toplam	20 µl

Real Time PCR reaksiyonunun gerçekleştiği program;

- 1 döngü Taq enzim aktivasyonu için 95 °C' de 3 dakika,
- 40 döngülük denatürasyon için 95 °C' de 10 saniye,
- annealing- extension ise 58° C' de 30 saniye şeklinde olmuştur.



Şekil 3.3. Denemede kullanılan RT-PCR ve cDNA Sentez Kiti



Şekil 3.4. Yeşil ve siyah olum dönemleri standart dilüsyonlar için gerçek zamanlı amplifikasyon eğrileri

3.2.2. Kimyasal Analizler**3.2.2.1. α -Tokoferol Analizi**

α -tokoferol analizi ‘‘Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi’’ kullanılarak (Abidi, 2000; Ruperez ve ark., 2001) gerçekleştirilmiştir. 2017 ve 2018 yıllarına ait *OeCHL P* gen ekspresyon seviyesi en yüksek beşer çeşitte;

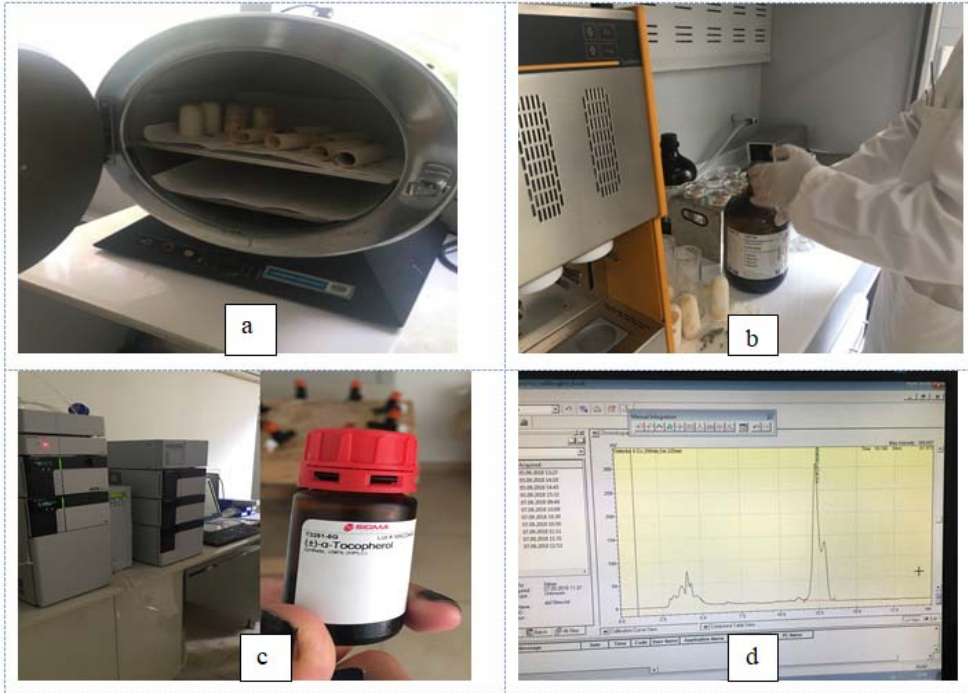
1. 5 mg kuru örnek alınarak havan içerisinde her dioxane’den (n- hexane (1:1)) 35 ml konularak 4 sefer ekstrakte edilmiştir.
2. Örnekler evapore ve santrifüj edilerek temizlenmiştir. Kalan tortu 10 ml dioxane’ da (n- hexane (3:97, v:v)) çözdürülmüş,
3. Bu çözelti, dioxane (n-hexane (3:97, v:v) ile akış oranı 1,5 ml/min’ da C18 Nucleosil 50 ile doldurulmuş bir kolon (4.6x250 mm) kullanılarak HPLC’de analiz edilmiştir.

α -tokoferol konsantrasyonu, ticari standartdan elde edilen bir standart eğrisi kullanılarak belirlenmiştir. α -tokoferol analizi için 7 farklı standart (5,10,20,40,60,80,100) aralığı hazırlanmıştır. Standart eğrisine ait R değeri 0,999 bulunmuştur. α -tokoferol içeriği, florasen detektör kullanılarak 295 nm_{ex} ve 325 nm_{ex}’de tahmin edilmiştir.



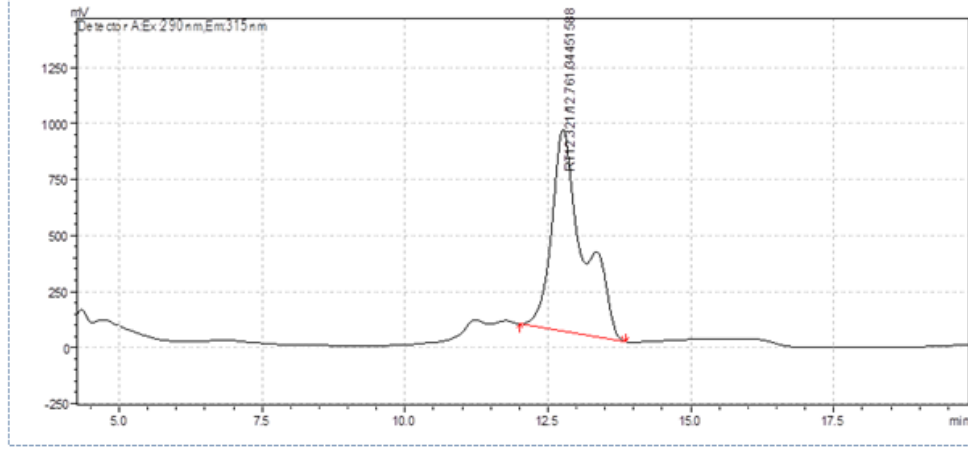
Şekil 3.5. α -tokoferol analizi için örneklerin hazırlanması

- a.Meyve örneklerinin belirlenmesi
b.Perikarpların çekirdekten ayrılması



Şekil 3.6. α -tokoferol analizi

- a.Perikarpların kurutulması
b.Perikarpların n-hekzan ile muamelesi
c. α -tokoferolün HPLC cihazına tanıtılması
d.Pick görüntüsünün alınması



Şekil 3.7. Zeytin örneklerine ait α - tokoferol kromatogramları

Zeytin örneklerinin α - tokoferol dağılımı Shimadzu marka HPLC’de gerçekleştirilmiştir. HPLC sisteminin özellikleri aşağıda verilmiştir:

Sistem kontrolör: CPD-20A

Gradient pompa: LC-20AD

Dedektör: Diode Array Detector SPD-M20A

Kolon fırını: CTO-20A

Degazör: DGU-20A5

Zeytin örneklerinin fenolik dağılımının tespitinde kullanılan çalışma koşulları şu şekildedir:

Kolon: Inertsil (250×4.6 mm, ODS-3, 5µm partikül büyüklüğü, Tokyo, Japonya)

Kolon sıcaklığı: 30°C

Akış hızı: 1,00 mL/dk

Dalga boyu: 290- 315 nm

Mobil faz: Methanol, acetonitril (1:1) (A, %50), Metanol (B, %50)

3.2.2.2. Fenolik Bileşik Analizi

Vinha ve ark., (2005), tarafından geliştirilen yönteme göre yapılmıştır. 2017 yılına ve 2018 yıllarına ait *OeCHL P* gen ekspresyon seviyesi en yüksek beş çeşitte;

Zeytinden fenolik maddelerin ekstraksiyonunda çekirdeği uzaklaştırılan ve kahve değirmeninde ezilen zeytinden 1,5 g tartılmış, üzerine 20 mL metanol/su (80:20, v/v) karışımı ilave edilmiştir. Homojenizatörde 3 dakika homojenize edildikten sonra, azot altında manyetik karıştırıcıda 3 dakika bekletilmiştir. Ardından ekstrakt Whatman 40 filtre kâğıdından süzölmüş ve süzöntüye 20 mL hekzan eklenmiştir. Azot altında manyetik karıştırıcıda 3 dakika bekletilen karışımdan ayırma hunisi kullanılarak metanol:su fazı ayrılmıştır. Metanol:su fazının hacmi volumetrik olarak belirlenmiştir. Bu ekstrakt fenolik madde miktarının ve bileşiminin belirlenmesinde kullanılmıştır. Zeytin örneklerinin fenolik dağılımı Shimadzu marka HPLC’de gerçekleştirilmiştir. HPLC sisteminin özellikleri aşağıda verilmiştir:

Sistem kontrolör: CBM-20A

Gradient pompa: LC-20AD

Dedektör: Diode Array Detector SPD-M20A

Kolon fırını: CTO-20A

Degazör: DGU-20A5

Zeytin örneklerinin fenolik dağılımının tespitinde kullanılan çalışma koşulları şu şekildedir:

Kolon: Inertsil (250×4.6 mm, ODS-3, 5µm partikül büyüklüğü, Tokyo, Japonya)

Kolon sıcaklığı: 40°C

Akış hızı: 0.9 mL/dk

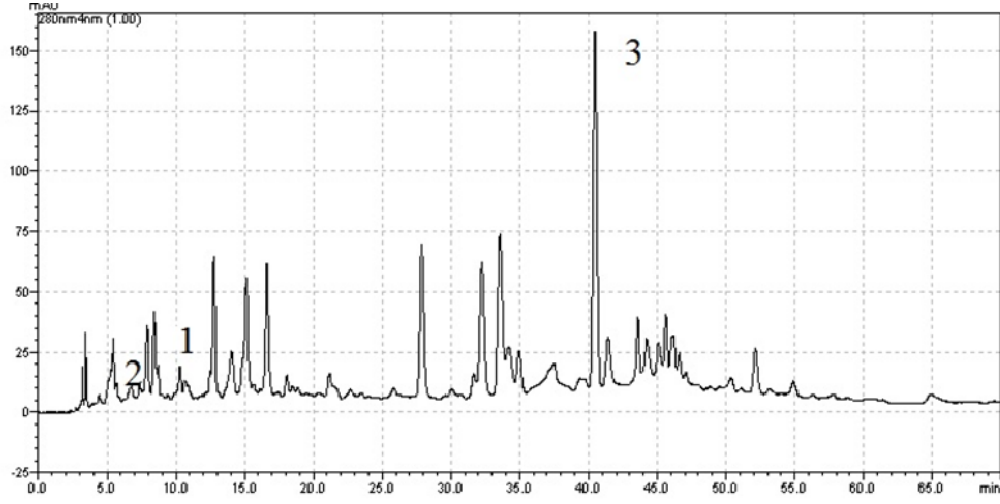
Dalga boyu: 280 nm

Mobil faz: Su-formik asit (19:1) (A, % 95), Metanol (B, % 5)

Gradient Programı:

	B (%)
Başlangıç	5
3 dakika	15
13 dakika	25
25 dakika	30
35 dakika	35
39 dakika	40
42 dakika	45
45 dakika	45
50 dakika	47
60 dakika	48
64 dakika	50

Fenolik madde miktarları belirlenirken pik alanları standart pik alanlarına oranlanıp seyreltme faktörüyle çarpılarak hesaplama yapılmış ve sonuçlar mg/g (kuru madde) olarak ifade edilmiştir. Standart madde olarak hydroxytyrosol, tyrosol ve oleuropein (Extrasynthese, France) kullanılmıştır.



Şekil 3.8. Zeytin örneklerine ait fenolik bileşik kromatogramları

- 1) Hydroxytyrosol,
- 2) Tyrosol,
- 3) Oleuropein

3.2. 3. Verilerin İstatistiksel Analizi

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre tüm analizlerde üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. Gen ekspresyonu ve kimyasal analizler sonucu elde edilen verilerin istatistiksel analizleri JMP 5.0.1. paket programında yapılmıştır. Ortalamalar %5 önem seviyesinde LSD testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Çizelgelerde aynı harf ile gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır.



4. BULGULAR

Çalışmada kullanılan 39 zeytin çeşidi İzmir Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü “Zeytin Genetik Kaynakları Koruma Parseli’nden” temin edilmiştir. Yapılan düzenli seyahatlerde çeşitlerin farklı dönemlerde çiçek açtığı belirlenmiştir. Bundan dolayı örnek alma işlemi kademeli yapılmıştır. Toplanan meyve örneklerinde bozulma meydana gelmemesi için sıvı azot tankına yerleştirilmiş ve Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Biyoteknoloji Laboratuvarına taşınmıştır.

4.1. Real-time PCR Sonuçları

2017 ve 2018 yıllarında alınan örneklerin meyve perikarp dokularında total RNA izolasyonu yapılmıştır. *OeCHL P* geninin transkript ifade düzeyinde değişimi kantitatif Real time PCR tekniğı ile analiz edilmiştir.

4.1.1. 2017 ve 2018 Yılları Gen Ekspresyon Çalışmalarına Ait Bulgular

OeCHL P geninin RNA ifade düzeyleri, aynı yetiştirme alanlarından alınan 39 zeytin çeşidinde iki farklı olum döneminde Real-time PCR cihazı ile belirlenmiştir. *OeCHL P* ve aktin (18S endojen gen) gen ekspresyon düzeylerinin stabilite ve sonuçlarını değerlendirmek için tüm deneyler numunelerin karşılaştırmalı analizine göre üç kez yapılmıştır. Bütün çeşitlerden elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Livak ve Schmittgen (2001)’in $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre yapılmıştır. 2017 yılında kalibratör çeşit olarak yeşil olum döneminde Sinop No 5 (1,00) ve siyah olum döneminde Girit zeytini (1,17) seçilmiştir. Çizelge 4.1.’de veriler incelendiğinde siyah olum (0,16) dönemi çeşitleri, yeşil olum (0,14) dönemi çeşitlerine göre daha yüksek ortalamaya sahip olmuştur. Çeşitler ortalamasına bakıldığında zaman en yüksek ekspresyon ortalamasına Uslu (1,507) sahip olurken, en düşük Sinop No 6 (0,008), Saurani

(0,008), Çakır (0,007), Çekişte (0,006), Çelebi (0,005), Yün Çelebi (0,005), Ayvalık (0,005), Trabzon Yağlık (0,005), Kan Çelebi (0,004), Sarı Ulak (0,003) ve Sinop No 4 (0,001) çeşitleri sahip olmuştur.

Olum dönemi ve çeşitler arası interaksiyon incelendiği zaman ise yeşil olum döneminde Uslu en yüksek değer ile göze çarptı, en düşük değerleri Sinop No 6 (0,011), Edincik su (0,01), Girit Zeytini (0,01), Çekişte (0,01), Saçaklı Otur (0,01), Gemlik (0,01), Tekirdağ Çizmelik (0,01), Samsun Tuzlamalık (0,01), Çakır (0,01), Samsun Yağlık (0,001), Nizip Yağlık (0,001), Sinop No 1 (0,00), Yün Çelebi (0,000), Çelebi (0,00), Ayvalık (0,00), Kilis Yağlık (0,00), Saurani (0,00), Sarı Ulak (0,00), Trabzon Yağlık (0,00), Kan Çelebi (0,00), Kara Yaprak (0,00), Marantelli (0,00), Sinop No 4 (0,00), Butko (0,00), Otur (0,00), Görvele (0,00) ve Satı (0,00) çeşitleri vermiştir. Siyah Olum döneminde en yüksek interaksiyon ortalamasını Girit Zeytini (1,17), en düşük ortalamayı ise Eşek Zeytini (Ödemiş) (0,011), Samsun Yağlık (0,011), Görvele (0,01), Ayvalık (0,009), Memecik (0,009), Çelebi (0,009), Trabzon Yağlık (0,009), Yün Çelebi (0,009), Uslu (0,008), Samsun Tuzlamalık (0,008), Domat (0,008), Mavi (0,008), Erkence (0,008), Kan Çelebi (0,008), Sinop No 6 (0,005), Çakır (0,004), Sarı Ulak (0,004), Sinop No 4 (0,001), Çekişte (0,001), Sinop No 5 (0,00) ve Memeli (0,00) çeşitleri göstermiştir.

Çizelge 4.1. 2017 Yılı İki Olum Döneminde Alınan Örneklerde Gen Ekspresyon Bulguları

No	Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
		Yeşil		Siyah			
1	Ayvalık	0,00	N	0,00	N	0,005	M
2	Butko	0,00	N	0,01	IJ	0,050	IJ
3	Çakır	0,01	N	0,00	N	0,007	M
4	Çekişte	0,01	N	0,00	N	0,006	M
5	Çelebi	0,00	N	0,01	N	0,006	M
6	Çilli	0,02	LMN	1,04	CD	0,533	C
7	Domat	0,01	N	0,01	N	0,010	LM
8	Edincik su	0,01	N	0,09	JK	0,049	IJK
9	Erkence	0,91	E	0,01	N	0,459	E
10	Eşek Zeytini (Ödemiş)	0,03	LMN	0,01	N	0,019	LM
11	Gemlik	0,01	N	0,02	LMN	0,017	LM
12	Girit Zeytini	0,01	N	1,17	B	0,590	B
13	Görvele	0,00	N	0,01	N	0,005	M
14	İzmir Sofralık	0,03	LMN	1,07	C	0,548	C
15	Kan Çelebi	0,00	N	0,01	N	0,005	M
16	Kara Yaprak	0,00	N	0,24	H	0,119	H
17	Kilis Yağlık	0,00	N	0,74	JK	0,038	JKL
18	Kiraz	0,00	N	0,05	KLM	0,029	JKLM
19	Marantelli	0,00	N	0,10	IJ	0,050	IJ
20	Mavi	0,03	LMN	0,01	N	0,019	LM
21	Memecik	0,10	J	0,01	N	0,053	IJ
22	Memeli	0,14	I	0,00	N	0,007	I
23	Nizip Yağlık	0,94	E	0,01	N	0,472	E

Çizelge 4.1. Devamı

No	Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
		Yeşil		Siyah			
24	Otur	0,00	N	0,57	F	0,285	F
25	Patos	0,06	JKL	0,08	JK	0,070	I
26	Saçaklı Otur	0,01	N	0,42	G	0,215	G
27	Samsun Tuzlamalık	0,01	N	0,01	N	0,009	LM
28	Samsun Yağlık	0,01	N	0,01	N	0,010	LM
29	Sarı Ulak	0,00	N	0,00	N	0,003	M
30	Satı	0,00	N	0,10	IJ	0,050	IJ
31	Saurani	0,00	N	0,14	MN	0,008	M
32	Sinop No 1	0,00	N	0,02	LMN	0,012	LM
33	Sinop No 4	0,00	N	0,00	N	0,001	M
34	Sinop No 5	1,00	D	0,00	N	0,502	D
35	Sinop No 6	0,01	N	0,01	N	0,008	M
36	Tekirdağ Çizmelik	0,01	N	0,03	LMN	0,021	KLM
37	Trabzon Yağlık	0,00	N	0,01	N	0,005	M
38	Uslu	3,01	A	0,01	N	1,507	A
39	Yün Çelebi	0,00	N	0,01	N	0,005	M
Ortalama		0,14	B	0,16	A		

LSD_{çeşit}***:0,03; LSD_{olum dönemi}***:0,01; LSD_{çeşitxolum dönemi}***: 0,04; cv: 1,17

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): ÖD: Önemli Değil, ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

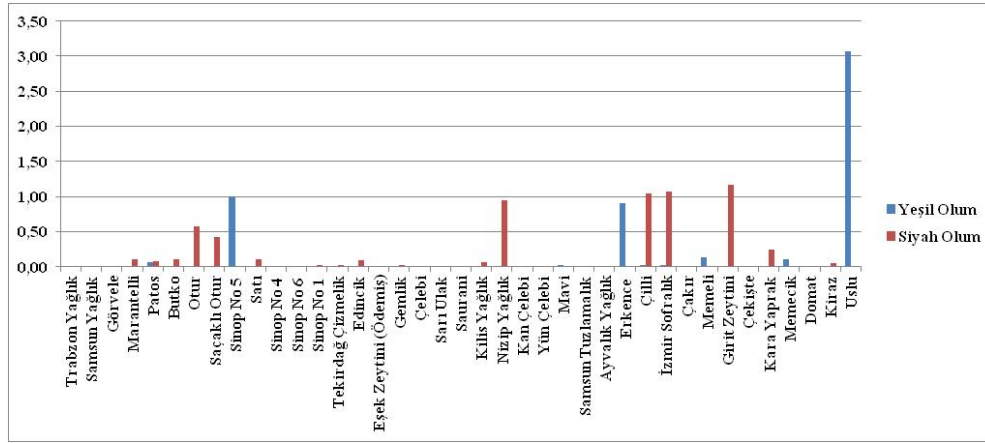
Gen ekspresyon değerleri belirlenen çeşitlerde olum dönemi, çeşit ve olum dönemi x çeşit interaksyonu ortalamaları arasındaki farklılıkları görebilmek için JMP 5.0.1. paket programında Student's *t*-test yapılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Elde edilen

veriler sonucunda çeşitler, olum dönemleri ve çeşitler x olum dönemleri interaksyonu arasındaki farklar çok önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. 2017 Yılı Gen Ekspresyon Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	19,06	0,50	38	805,92	<.0001
Olum Dönemi	0,025	0,025	1	39,92	<.0001
ÇeşitlerxOlum	23,61	0,62	38	998,23	<.0001
Hata	0,097	0,0006	79	Prob > F	
Toplam	42,79		233	<.0001	

2017 yılında *OeCHL P* gen ekspresyon düzeyi en yüksek değere sahip çeşitler Şekil 4.1. incelendiğinde yeşil olum döneminde Uslu (3,01), Sinop No 5 (1,00), Erkence (0,91) ve Memeli (0,14) çeşitleri olurken, siyah olum döneminde ise Girit Zeytini (1,17), İzmir Sofralık (1,07), Çilli (1,04), Nizip Yağlık (0,94) ve Otur (0,57) çeşitleri olmuştur. Diğer çeşitlerde önemli bir artış gözlenmemiştir.



Şekil 4.1. 39 Çeşide Ait 2017 yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyon Düzeyleri

Denemenin 2018 yılına ait meyve örnekleri, bir önceki yıla göre havaların erken ısınmasından dolayı çiçeklenme birkaç gün öne kaydığından beklenenden önce toplanmıştır. Bir önceki yılın protokolüne uygun olarak RNA izolasyonu tamamlanan örneklerden cDNA elde edilmiş ve *OeCHL P* geninin çeşitlere göre ekspresyon düzeyleri real-time PCR cihazı ile analiz edilmiştir. *OeCHL P* ve aktin (18S endojen gen) geninin ekspresyon düzeylerinin stabilite ve sonuçlarını değerlendirmek için tüm deneyler numunelerin karşılaştırmalı analizine göre üç kez yapılmıştır. Bütün çeşitlerden elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Livak ve Schmittgen (2001)'in $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre yapılmıştır. Kalibratör çeşit olarak yeşil olum döneminde Uslu (2,96) ve siyah olum döneminde Eşek Zeytini (Ödemiş (2,95)) seçilmiştir.

Gen ekspresyon değerleri belirlenen çeşitlerde olum dönemi, çeşit ve olum dönemi x çeşit etkileşimi ortalamaları arasındaki farklılıkları görebilmek için JMP 5.0.1. paket programında Student's *t*-test yapılmıştır. Çizelge 4.3.'de veriler incelendiğinde siyah olum (0,84) dönemi, yeşil olum (0,52) dönemi ortalamasından daha yüksek bir değer almıştır. Çeşit ortalamalarında ise Eşek Zeytini (Ödemiş) (2,28) en yüksek değeri alırken, Trabzon Yağlık (0,06), Çakır (0,06), Sarı Ulak (0,05) ve Memecik (0,04) en düşük değerleri almışlardır.

Çeşit x olum etkileşiminde en yüksek değeri yeşil olum döneminde Uslu (2,96), en düşük değeri Kiraz (0,01) almıştır. Siyah olum döneminde ise Eşek Zeytini (Ödemiş) (2,95) yeşil olum döneminden Uslu ile aynı gruba girerek en yüksek değeri alırken, en düşük değeri Trabzon Yağlık (0,003) çeşidi sahip olmuştur.

Çizelge 4.3. 2018 Yılı İki Olum Döneminde Alınan Örneklerde Gen Ekspresyon Sonuçları

No	Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
		Yeşil		Siyah			
1	Ayvalık	0,05	bcd	0,86	Q	0,455	TU
2	Butko	0,10	/j^	1,77	G	0,938	J
3	Çakır	0,06	‘abcd	0,05	bcd	0,056	Z{
4	Çekişte	0,84	Q	0,05	abcd	0,448	UV
5	Çelebi	0,05	bcd	0,09	]^_	0,071	YZ
6	Çilli	0,05	abcd	2,75	B	1,401	D
7	Domat	0,98	N	0,03	defg	0,508	RS
8	Edincik su	0,91	P	1,75	GH	1,329	E
9	Erkence	0,92	OP	0,09	]^_ ’	0,501	S
10	Eşek Zeytini (Ödemiş)	1,60	J	2,95	A	2,277	A
11	Gemlik	0,55	U	0,98	N	0,763	O
12	Girit Zeytini	0,04	cde	1,76	GH	0,900	L
13	Görvele	0,01	fgh	0,12	[/	0,066	YZ
14	İzmir Sofralık	0,05	abcd	1,98	E	1,017	İ
15	Kan Çelebi	0,05	bcd	0,98	N	0,517	QRS
16	Kara Yaprak	0,76	R	1,10	L	0,909	KL
17	Kilis Yağlık	0,05	bcd	1,01	M	0,531	Q
18	Kiraz	0,01	gh	0,94	O	0,472	I
19	Marantelli	0,10	/j^	0,29	X	0,196	X
20	Mavi	1,95	F	0,09	]^_	1,020	I
21	Memecik	0,08	_ ’a	0,01	gh	0,043	{
22	Memeli	1,25	K	0,40	W	0,828	N
23	Nizip Yağlık	0,07	_ ’ab	2,05	D	1,062	H
24	Otur	0,14	Z[	2,04	D	1,094	G
25	Patos	0,17	Y	1,02	M	0,597	P

Çizelge 4.3. Devamı

No	Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
		Yeşil		Siyah			
26	Saçaklı Otur	0,65	S	1,75	H	1,198	F
27	Samsun Tuzlamalık	1,70	İ	0,04	def	0,868	M
28	Samsun Yağlık	0,15	yz	0,02	efgh	0,084	Y
29	Sarı Ulak	0,05	bcd	0,06	abcd	0,054	Z{
30	Satı	0,08	^ _ ’	1,76	GH	0,922	JK
31	Saurani	0,05	abcd	0,07	_ ’ab	0,063	Z
32	Sinop No 1	0,07	_ ’ab	0,47	V	0,269	W
33	Sinop No 4	0,16	YZ	1,07	L	0,612	P
34	Sinop No 5	2,52	C	0,59	T	1,555	B
35	Sinop No 6	0,78	R	0,09	] ^ _ ’	0,436	V
36	Tekirdağ Çizmelik	0,06	‘abc	0,85	Q	0,457	TU
37	Trabzon Yağlık	0,11	/]	0,00	H	0,057	Z{
38	Uslu	2,96	A	0,01	fgh	1,486	C
39	Yün Çelebi	0,04	cde	1,00	M	0,520	QR
Ortalama		0,52	B	0,84	A		

LSD_{çeşit} **:0,018; LSD_{olum dönemi} **:0,004; LSD_{çeşitxolum dönemi} **: 0,03; cv: 0,23

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

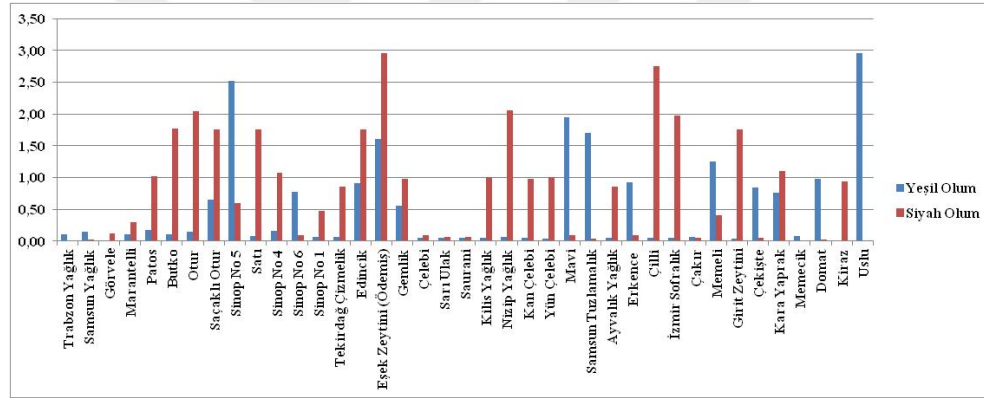
(2): ÖD: Önemli Değil, **:p<0.001; *:p<0.01; * :p<0.05

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü yürütülmüştür. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda çeşitler, olum dönemleri ve çeşitler x olum dönemleri interaksyonu arasındaki farklar çok önemli bulunmuştur (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. 2018 Yılı Gen Ekspresyon Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	59,27	2252,26	38	6008,492	<.0001
Olum Dönemi	6,14	6,14	1	23645,62	<.0001
ÇeşitlerxOlum	83,55	3174,9	38	8470,471	<.0001
Hata	0,041	3,24	79	Prob > F	
Toplam	148,99		233	<.0001	

Çeşitlere ait *OeCHL P* gen ekspresyon ortalamaları Şekil 4.2. incelendiğinde, en yüksek değere sahip çeşitler yeşil olum döneminde Uslu (2,96), siyah olum döneminde ise Eşek Zeytini (Ödemiş) (2,96) olarak saptanırken, 2017 yılına göre 2018 yılında diğer bütün çeşitlerde kayda değer bir artış gözlenmiştir.

Şekil 4.2. 39 Çeşide Ait 2018 yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyon Düzeyleri

4.1.2. 2017 ve 2018 yılları *OeCHL P* Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde α -Tokoferol Miktarlarına Ait Bulgular

Zeytin meyvesinin lipit fraksiyonunda tokoferoller, polar fraksiyonunda ise fenolik bileşikler ana antioksidan maddeleri oluşturmaktadır. Bunların yağa geçme oranları zeytin çeşitlerine, ekolojiye, kültürel işlemlere, meyvenin içinde bulunduğu olgunluk seviyesine ve zeytin işleme teknolojilerine göre değişmektedir.

2017 yılı iki olum döneminde üç tekerrürlü olarak yapılan α -tokoferol analizi için *OeCHL P* gen ekspresyon seviyesi en yüksek beş çeşit dikkate alınmıştır. A-tokoferol miktarı toplam yağın mg/kg'ı cinsinden ifade edilmiştir. Çizelge 4.5. incelendiğinde siyah olum dönemi ortalaması (275,96 mg/kg toplam yağ) yeşil olum dönemi ortalamasına (218,56 mg/kg toplam yağ) göre daha yüksek çıkmıştır.

Çizelge 4.5. 2017 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde α -tokoferol Miktarları (mg/kg (toplam yağ))

Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
	Yeşil		Siyah			
Çilli	207,11	C	238,71	E	222,91	D
Girit Zeytini	257,16	C	362,14	A	309,65	A
İzmir Sofralık	146,55	J	349,75	B	248,15	B
Sinop No 5	247,66	D	215,99	G	231,83	C
Uslu	234,34	F	213,23	H	223,79	D
Ortalama	218,56	B	275,96	A		

LSD_{çeşit}***: 1,77 ; LSD_{olum dönemi}***:1,12; LSD_{çeşitxolum dönemi}***:2,50 ; cv: 0,006

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): ÖD: Önemli Değil, ***:p<0.001; **:p<0.01; * :p<0.05

Çeşitlerin ortalamasında ise sırasıyla en yüksekten en düşüğe Girit Zeytini (309,65 mg/kg toplam yağ), İzmir Sofralık (248,15 mg/kg toplam yağ), Sinop No 5 (231,83 mg/kg toplam yağ), Uslu (223,79 mg/kg toplam yağ) ve Çilli (222,91 mg/kg toplam yağ) çeşitleri sahip olmuştur. Çeşit olum x olum dönemi interaksiyonunda ise en yüksek α -tokoferol içeriği 362,14 mg/kg (toplam yağ) ile Girit Zeytininin siyah olum döneminde belirlenirken, en düşük α -tokoferol içeriği 146,55 mg/kg (toplam yağ) ile İzmir Sofralık çeşidinin yeşil olum döneminde belirlenmiştir. Aynı alanda yetiştirilen çeşitlerdeki bu farklılık genotip özellikleri

ile alakalı olabileceği gibi metabolik davranışları veya olgunlaşma periyodunun bulunduğu nokta ile alakalı olabileceği düşünülmüştür.

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü yürütülmüştür. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda çeşitler, olum dönemleri ve çeşitler x olum dönemleri interaksyonu arasındaki farklar çok önemli bulunmuştur (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. 2017 Yılı α -tokoferol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	31650,70	7912,68	4	3694,81	<.0001
Olum Dönemi	24709,78	24709,78	1	11538,19	<.0001
ÇeşitlerxOlum	57424,01	14356,002	4	6703,51	<.0001
Hata	42,83	2,14	20	Prob > F	
Toplam	113827,31		29	<.0001	

2018 yılı *OeCHL P* gen ekspresyon seviyesi en yüksek çeşitlerde α -tokoferol miktarları toplam yağın mg/kg'ı cinsinden ifade edilmiştir. Çizelge 4.7. incelendiğinde siyah olum dönemi ortalaması (225,89 mg/kg (toplam yağ)) yeşil olum dönemi ortalamasına (213,94 mg/kg (toplam yağ)) göre daha yüksek çıkmıştır. Çeşitlerin ortalamasında ise sırasıyla en yüksekten en düşüğe Eşek Zeytini ((Ödemiş) 236,43 mg/kg toplam yağ), Sinop No 5 (224,73 mg/kg toplam yağ), Uslu (221,01 mg/kg toplam yağ), Çilli (212,49 mg/kg toplam yağ) ve Nizip Yağlık (204,93 mg/kg toplam yağ) çeşitleri sahip olmuştur. Çeşit x olum dönemi interaksyonunda ise en yüksek α -tokoferol içeriği 250,44 mg/kg (toplam yağ) ile Eşek Zeytini (Ödemiş) siyah olum döneminde belirlenirken, en düşük α -tokoferol içeriği 175,13 mg/kg (toplam yağ) ile Nizip Yağlık çeşidinin yeşil olum döneminde belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. 2018 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde α -tokoferol miktarları (mg/kg (toplam yağ))

Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
	Yeşil		Siyah			
Çilli	198,17	H	226,81	D	212,49	D
Eşek Zeytini (Ödemiş)	222,41	E	250,44	A	236,43	A
Nizip Yağlık	175,13	İ	234,72	C	204,93	E
Sinop No 5	245,25	B	204,22	G	224,73	B
Uslu	228,76	D	213,26	F	221,01	C
Ortalama	213,94	B	225,89	A		

LSD_{çeşit}***:2,10; LSD_{olum dönemi}***:0,48; LSD_{çeşitxolum dönemi}***: 0,58; cv:0,008

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): ÖD: Önemli Değil, ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü yürütülmüştür. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda çeşitler, olum dönemleri ve çeşitler x olum dönemleri interaksyonu arasındaki farklar çok önemli bulunmuştur (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. 2018 Yılı α -tokoferol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	3460,87	865,22	4	285,28	<.0001
Olum Dönemi	1069,80	1069,80	1	352,74	<.0001
ÇeşitlerxOlum	9550,86	2387,72	4	787,28	<.0001
Hata	60,66	3,03	20	Prob > F	
Toplam	14142,184		29	<.0001	

4.1.3. 2017 ve 2018 Yılları *OeCHL P* Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Oleuropein Miktarlarına Ait Bulgular

Zeytinyağında yüksek konsantrasyonda bulunan fenolik bileşikler oleuropein, hydroxytyrosol, tyrosoldur (Amiot ve ark., 1996). 2017 yılı iki olum (yeşil ve siyah olum) döneminde üç tekerrürlü olarak yapılan oleuropein analizi için *OeCHL P* gen ekspresyon seviyesi en yüksek beş çeşit dikkate alınmıştır.

Çeşitlerin oleuropein içerikleri kuru maddenin mg/g'ı cinsinden ifade edilmiş olup bütün çeşitlerde olgunlukla azalmıştır. Çizelge 4.9.'da olum dönemi ortalamaları incelendiğinde en yüksek oleuropein içeriğine 33,32 mg/g (kuru madde) miktarı ile yeşil olum dönemi sahip olurken, 16,82 mg/g (kuru madde) ile siyah olum dönemi daha düşük bir değere sahip olmuştur. Çeşitlerin ortalamaları incelendiğinde ise sırasıyla Girit Zeytini (57,69 mg/g), İzmir Sofralık (24,66 mg/g), Sinop No 5 (16,61 mg/g), Uslu (14,06 mg/g) ve Çilli (12,32 mg/g) olarak saptanmıştır. Çeşit x olum dönemi interaksiyonları kıyaslandığında ise yeşil olum döneminde en yüksek oleuropein içeriğine 65,67 mg/g ile Girit Zeytini sahip olurken, en düşük miktara siyah olum döneminde 3,73 mg/g ile Çilli çeşidi sahip olmuştur.

Çizelge 4.9. 2017 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Oleuropein Miktarları (mg/g (kuru madde))

Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
	Yeşil		Siyah			
Çilli	20,91	F	3,73	İ	12,32	E
Girit Zeytini	65,67	A	49,71	B	57,69	A
İzmir Sofralık	30,94	C	18,39	G	24,66	B
Sinop No 5	26,55	D	6,68	H	16,61	C
Uslu	22,54	E	5,58	H	14,06	D
Ortalama	33,32	A	16,82	B		

LSD_{çeşit}***:0,72; LSD_{olum dönemi}***:0,45 ; LSD_{çeşitxolum dönemi}***:1,02; cv:0,03

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): ÖD: Önemli Değil, ***:p<0.001; **:p<0.01; * :p<0.05

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü yürütülmüştür. İstatistiksel olarak elde edilen veriler sonucunda çeşitler, olum dönemleri ve çeşitler x olum dönemleri interaksiyonu arasındaki farklar çok önemli bulunmuştur (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. 2017 Yılı Oleuropein Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	8517,39	2129,35	4	4551,117	<.0001
Olum Dönemi	2042,04	2042,04	1	4364,515	<.0001
ÇeşitlerxOlum	41,90	10,48	4	22,3860	<.0001
Hata	9,4	0,47	20	Prob > F	
Toplam	10610,68		29	<.0001	

2018 yılı çeşitlere dair oleuropein miktarları kuru maddenin mg/g'ı cinsinden ifade edilmiş olup bütün çeşitlerde olgunlukla azalmıştır. Çizelge 4.11.'de olum dönemi ortalamaları incelendiğinde en yüksek oleuropein içeriğine 28,68 mg/g (kuru madde) miktarı ile yeşil olum döneminde saptanırken, 12,98 mg/g (kuru madde) ile siyah olum döneminde daha düşük bir değer elde edilmiştir. Çeşitlerin ortalamaları incelendiğinde ise sırasıyla Eşek Zeytini (Ödemiş) (35,22 mg/g), Nizip Yağlık (28,91 mg/g), Sinop No 5 (15,00 mg/g), Çilli (12,88 mg/g) ve Uslu (12,13 mg/g) olarak en yüksekten en düşüğe sıralanmıştır. Çeşit x olum dönemi interaksiyonları kıyaslandığında ise yeşil olum döneminde en yüksek oleuropein içeriğine 43,11 mg/g ile Eşek Zeytini (Ödemiş) sahip olurken, en düşük miktara siyah olum döneminde 2,99 mg/g ile Çilli çeşidi sahip olmuştur.

Çizelge 4.11. 2018 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Oleuropein Miktarları (mg/g (kuru madde))

Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
	Yeşil		Siyah			
Çilli	22,77	E	2,99	İ	12,88	D
Eşek Zeytini (Ödemiş)	43,11	A	27,34	B	35,22	A
Nizip Yağlık	33,96	B	23,86	D	28,91	B
Sinop No 5	24,09	D	5,90	G	15,00	C
Uslu	19,46	F	4,79	H	12,13	E
Ortalama	28,68	A	12,98	B		

LSD_{çeşit}***:0,55; LSD_{olum dönemi}***:0,35; LSD_{çeşitxolum dönemi}***:0,78 ; cv: 0,03

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): ÖD: Önemli Değil, ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü yürütülmüştür. İstatistiksel olarak elde edilen veriler sonucunda çeşitler, olum dönemleri ve çeşitler x olum dönemleri interaksyonu arasındaki farklar çok önemli bulunmuştur (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. 2018 Yılı Oleuropein Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	2672,91	668,23	4	2441,003	<.0001
Olum Dönemi	1848,66	1848,66	1	6753,07	<.0001
ÇeşitlerxOlum	82,79	20,70	4	75,61	<.0001
Hata	4,93	0,25	20	Prob > F	
Toplam	4609,92		29	<.0001	

4.1.4. 2017 ve 2018 Yılları *OeCHL P* Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Hydroxytyrosol Miktarlarına Ait Bulgular

2017 yılı çeşitlere dair hydroxytyrosol miktarları kuru maddenin mg/g'ı cinsinden ifade edilmiş olup İzmir Sofralık çeşidi hariç bütün çeşitlerde olgunlukla artmıştır. Çizelge 4.13.'de olum dönemi ortalamaları incelendiğinde en yüksek hydroxytyrosol içeriğine 2,48 mg/g (kuru madde) miktarı ile siyah olum dönemi sahip olurken, 2,15 mg/g (kuru madde) ile yeşil olum dönemi daha düşük bir değere sahip olduğu belirlenmiştir. Çeşitlerin ortalamaları sırasıyla Girit Zeytini (2,62 mg/g), Uslu (2,61 mg/g), Çilli (2,29 mg/g) İzmir Sofralık (2,24 mg/g) ve Sinop No 5 (1,82 mg/g) olarak en yüksekten en düşüğe sıralanmıştır. Çeşit x olum dönemi interaksyonları kıyaslandığında ise siyah olum döneminde en yüksek hydroxytyrosol içeriğine 3,00 mg/g ile Girit Zeytini sahip olurken, en düşük miktara yeşil olum döneminde 1,53 mg/g ile Sinop No 5 çeşidi sahip olmuştur.

Çizelge 4.13. 2017 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Hydroxytyrosol Miktarları (mg/g (kuru madde))

Çeşitler	Olum dönemi	Olum Dönemi	Ortalama	
	Yeşil	Siyah		
Çilli	2,31	2,26	2,29	AB
Girit Zeytini	2,24	3,00	2,62	A
İzmir Sofralık	2,34	2,15	2,24	AB
Sinop No 5	1,53	2,10	1,82	B
Uslu	2,34	2,87	2,61	A
Ortalama	2,15	2,48		

LSD_{çeşit} **:0,46; LSD_{olum dönemi}:ÖD; LSD_{çeşitxolum dönemi}:ÖD; cv: 0,191

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): ÖD: Önemli Değil, ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

İstatistiksel olarak elde edilen veriler sonucunda çeşitler arasındaki fark önemli bulunurken, olum dönemi ve çeşitler x olum dönemleri interaksyonu arasındaki farklar önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.14.).

Çizelge 4.14. 2017 Yılı Hydroxytyrosol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	2,59	0,65	4	3,32	0,0332
Olum Dönemi	0,81	0,81	1	4,17	0,0561
ÇeşitlerxOlum	1,02	0,26	4	1,31	0,3047
Hata	3,50	0,18	20	Prob > F	
Toplam	8,08		29	0,07	

2018 yılı çeşitlere ait hydroxytyrosol miktarları kuru maddenin mg/g'ı cinsinden ifade edilmiş olup bütün çeşitlerde olgunlukla azalmıştır. Çizelge 4.15.'de olum dönemi ortalamaları incelendiğinde en yüksek hydroxytyrosol içeriğine 2,35 mg/g (kuru madde) miktarı ile siyah olum dönemi sahip olurken, 1,83 mg/g (kuru madde) ile yeşil olum dönemi daha düşük bir değere sahip olmuştur. Çeşitlerin ortalamaları incelendiğinde ise sırasıyla Sinop No 5 (2,20

mg/g), Uslu (2,19 mg/g), Çilli (2,06 mg/g), Nizip Yağlık (2,04 mg/g) ve Eşek Zeytini (Ödemiş) (1,96 mg/g) olarak en yüksekten en düşüğe sıralanmıştır. Çeşit x olum dönemi interaksyonları kıyaslandığında ise siyah olum döneminde en yüksek hydroxytyrosol içeriğine 2,60 mg/g ile Eşek Zeytini (Ödemiş) sahip olurken, en düşük miktara yine yeşil olum döneminde 1,32 mg/g ile Eşek Zeytini (Ödemiş) çeşidi sahip olmuştur.

Çizelge 4.15. 2018 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Hydroxytyrosol Miktarları (mg/g (kuru madde))

Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama
	Yeşil		Siyah		
Çilli	1,72	BCD	2,40	A	2,06
Eşek Zeytini (Ödemiş)	1,32	D	2,60	A	1,96
Nizip Yağlık	1,61	CD	2,46	A	2,04
Sinop No 5	2,24	AB	2,14	ABC	2,20
Uslu	2,24	AB	2,15	AB	2,19
Ortalama	1,83	B	2,35	A	

LSD_{çeşit}:ÖD; LSD_{olum dönemi} **:0,21; LSD_{çeşitxolum dönemi} **: 0,46; cv:0,044

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): ÖD: Önemli Değil, ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

İstatistiksel olarak elde edilen veriler sonucunda çeşitler arasındaki fark önemsiz bulunurken, olum dönemleri ve çeşitler x olum dönemleri interaksyonu arasındaki farklar önemli bulunmuştur (Çizelge 4.16.).

Çizelge 4.16. 2018 Yılı Hydroxytyrosol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	0,25	0,06	4	0,6425	0,6392
Olum Dönemi	2,06	2,06	1	21,1673	0,0002
ÇeşitlerxOlum	2,21	0,55	4	5,6696	0,0039
Hata	1,75	0,09	20	Prob > F	
Toplam	6,37		29	0,0030	

4.1.5. 2017 ve 2018 Yılları *OeCHL P* Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Tyrosol Miktarlarına Ait Bulgular

2017 yılı çeşitlere ait tyrosol miktarları kuru maddenin mg/g'ı cinsinden ifade edilmiş olup Uslu çeşidi hariç bütün çeşitlerde olgunlukla artmıştır. Çizelge 4.17.'de olum dönemi ortalamaları incelendiğinde en yüksek tyrosol içeriğine 1,19 mg/g (kuru madde) miktarı ile siyah olum dönemi sahip olurken, 0,85 mg/g (kuru madde) ile yeşil olum dönemi daha düşük bir değere sahip olduğu belirlenmiştir. Çeşitlerin ortalamaları incelendiğinde ise sırasıyla Çilli (1,52 mg/g), Uslu (1,13 mg/g), Girit Zeytini (0,99 mg/g), İzmir Sofralık (0,65 mg/g) ve Sinop No 5 (0,81 mg/g) olarak en yüksekte en düşüğe sıralanmıştır. Çeşit x olum dönemi interaksyonları kıyaslandığında ise yeşil olum döneminde en yüksek tyrosol içeriğine 1,75 mg/g ile Uslu sahip olurken, en düşük miktara yeşil olum döneminde 0,15 mg/g ile İzmir Sofralık çeşidi sahip olmuştur.

Çizelge 4.17. 2017 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Tyrosol Miktarları (mg/g (kuru madde))

Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
	Yeşil		Siyah			
Çilli	1,49	ABC	1,55	ABC	1,52	A
Girit Zeytini	0,31	E	1,66	AB	0,99	BC
İzmir Sofralık	0,15	E	1,15	BC	0,65	C
Sinop No 5	0,56	DE	1,07	CD	0,81	BC
Uslu	1,75	A	0,50	E	1,13	B
Ortalama	0,85	B	1,19	A		

LSD_{çeşit} **:0,322; LSD_{olum dönemi} **:0,204; LSD_{çeşitxolum dönemi} *:0,46; cv: 0,301

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): ÖD: Önemli Değil, ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

İstatistiksel olarak elde edilen veriler sonucunda çeşitler, olum dönemleri ve çeşitler x olum dönemleri interaksyonu arasındaki farklar önemli bulunmuştur (Çizelge 4.18.).

Çizelge 4.18. 2017 Yılı Tyrosol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	2,67	0,67	4	7,07	0,0013
Olum Dönemi	0,84	0,84	1	8,87	0,0081
ÇeşitlerxOlum	6,16	1,54	4	16,32	<.0001
Hata	1,70	0,09	20	Prob > F	
Toplam	11,70		29	<.0001	

2018 yılı çeşitlere ait tyrosol miktarları kuru maddenin mg/g'ı cinsinden ifade edilmiş olup bütün çeşitlerde olgunlukla azalmıştır. Çizelge 4.19.'da olum dönemi ortalamaları incelendiğinde en yüksek tyrosol içeriğinin 0,71 mg/g (kuru madde) miktarı ile siyah olum döneminde olduğu, 0,45 mg/g (kuru madde) ile yeşil olum döneminde daha düşük bir değer elde edildiği belirlenmiştir. Çeşitlerin ortalamaları incelendiğinde ise sırasıyla Eşek Zeytini (Ödemiş) (0,81 mg/g), Sinop No 5 (0,67 mg/g), Uslu (0,67 mg/g), Çilli (0,46 mg/g) ve Nizip Yağlık (0,29 mg/g) olarak en yüksekten en düşüğe sıralanmıştır. Çeşit x olum dönemi interaksyonları kıyaslandığında ise yeşil olum döneminde en yüksek tyrosol içeriğine 1,06 mg/g ile Uslu sahip olurken, en düşük miktara yine yeşil olum döneminde 0,09 mg/g ile Nizip Yağlık çeşidi sahip olmuştur.

Çizelge 4.19. 2018 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyonu En yüksek Çeşitlerde Tyrosol Miktarları (mg/g (kuru madde))

Çeşitler	Olum dönemi		Olum Dönemi		Ortalama	
	Yeşil		Siyah			
Çilli	0,22	DE	0,70	B	0,46	C
Eşek Zeytini (Ödemiş)	0,57	BC	1,04	A	0,81	A
Nizip Yağlık	0,09	E	0,48	C	0,29	D
Sinop No 5	0,30	D	1,04	A	0,67	B
Uslu	1,06	A	0,27	D	0,67	B
Ortalama	0,45	B	0,71	A		

LSD_{çeşit} ***:0,09; LSD_{olum dönemi} ***:0,06; LSD_{çeşitxolum dönemi} ***:0,124; cv:0,15

(1): Ortalamalar arasındaki farklar ayrı harflerle gösterilmiştir.

(2): ÖD: Önemli Değil, ***:p<0.001; **:p<0.01; *:p<0.05

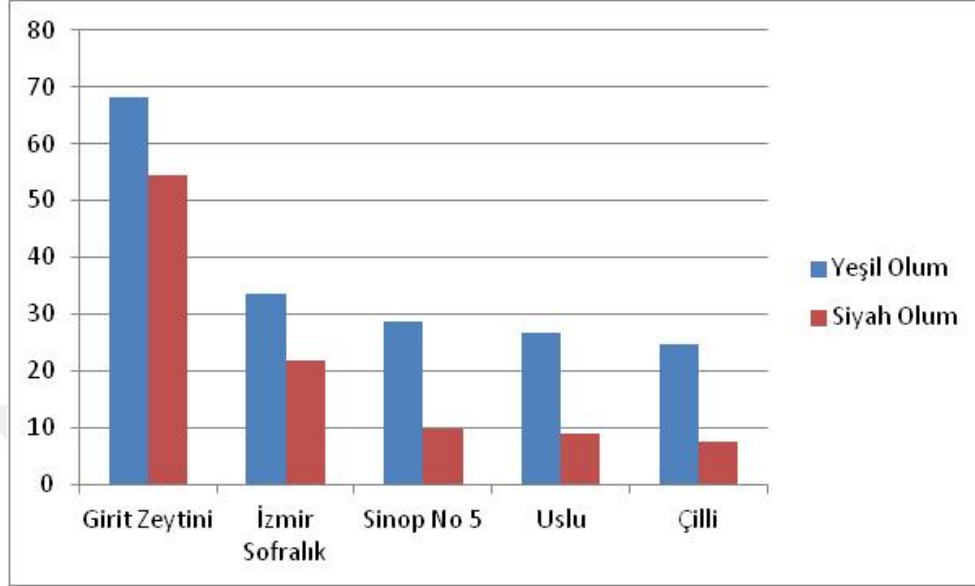
İstatistiksel olarak elde edilen veriler sonucunda çeşitler, olum dönemleri ve çeşitler x olum dönemleri interaksiyonu arasındaki farklar çok önemli bulunmuştur (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. 2018 Yılı Tyrosol Oranlarına Ait ANOVA Tablosu

Kaynaklar	KT	KO	SD	F Ratio	Prob > F
Çeşitler	0,10	0,025	4	35,6578	<.0001
Olum Dönemi	0,49	0,49	1	70,2167	<.0001
ÇeşitlerxOlum	2,14	0,54	4	76,4833	<.0001
Hata	0,13	0,007	18	Prob > F	
Toplam	3,77		29	<.0001	

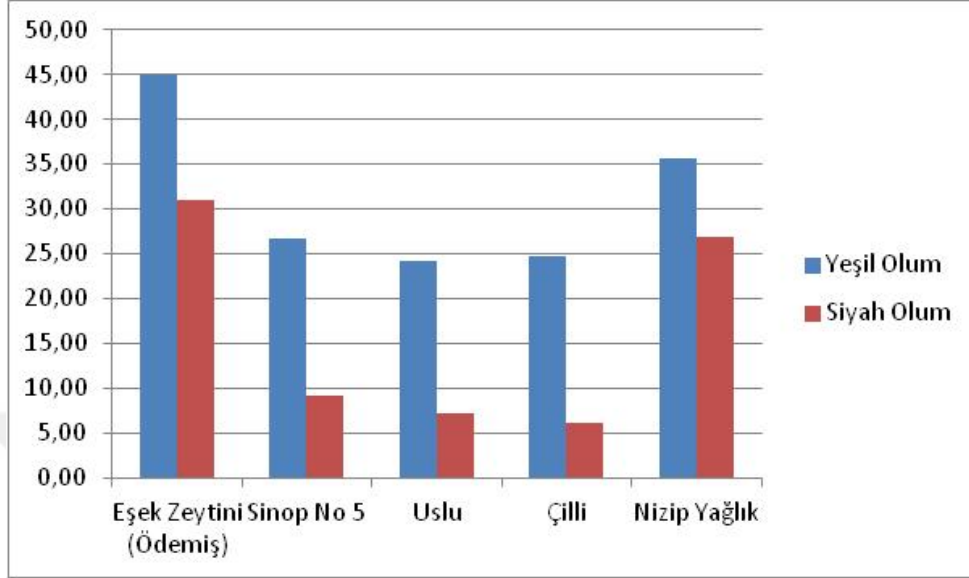
4.1.6. 2017 ve 2018 Yılları *OeCHL P* Gen Ekspresyon Seviyesi En Yüksek Çeşitlerde Fenolik Bileşik Miktarlarına (oleuropein, hydroxytyrosol ve tyrosol) Ait Bulgular

Zeytinde miktarları önemli sayılan 2017 yılı hydroxytyrosol, tyrosol ve oleuropein toplamaları Şekil 4.3.'de verilmiştir. Çeşitler kıyaslandığında ise yeşil olum döneminde en yüksek fenol içeriğine 68,21 mg/g ile Girit Zeytini sahip olurken, en düşük miktara siyah olum döneminde 7,55 mg/g ile Çilli çeşidi sahip olmuştur.



Şekil 4.3. 2017 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Fenolik Bileşik Miktarları (mg/g (kuru madde))

2018 yılına ait hydroxytyrosol, tyrosol ve oleuropein toplamaları Şekil 4.4.'de verilmiştir. Çeşitler kıyaslandığında ise yeşil olum döneminde en yüksek fenol içeriğine 45,00 mg/g ile Eşek Zeytini (Ödemiş) sahip olurken, en düşük miktara 22,76 mg/g ile Uslu çeşidi sahip olmuştur. Siyah olum döneminde ise yine en yüksek fenol içeriğine 30,98 mg/g ile Eşek zeytini (Ödemiş) sahip olurken, en düşük içeriğe 6,09 mg/g ile Çilli çeşidi sahip olmuştur.



Şekil 4.4. 2018 Yılı *OeCHL P* Gen Ekspresyon Seviyesi En yüksek Çeşitlerde Fenolik Bileşik Miktarları (mg/g (kuru madde))

5. TARTIŞMA

OeCHL P, zeytinde geranylgeranyl reductase enziminin oluşumunu yöneten gendir. Bu enzim bitkilerde tokoferol, klorofil ve phyloquinone bileşiklerinin sentezi için gerekli phytyl diphosphate'ı geranylgeranyl diphosphate redüksiyonu için katalizler (Muzzalupo ve ark., 2011).

Bu araştırmanın ilk aşamasında *OeCHL P* geni ekspresyon düzeyinin 39 farklı zeytin çeşidinde 2017 ve 2018 yılları olmak üzere iki yıl üst üste belirlenmesi amaçlanmıştır. İki yıllık gen ekspresyon çalışmaları genel olarak değerlendirildiğinde, çeşitler arasında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. 2017 yılının *OeCHL P* gen ekspresyon değerleri incelendiğinde meyvelerin alındığı dönemlerde 8 çeşit (Otur, Saçaklı Otur, Sinop No 5, Nizip Yağlık, Erkence, Çilli, İzmir sofralık, Girit Zeytini, Uslu) diğer kalan 31 çeşide göre daha çok ekspresyon oranına sahip olmuştur. Yeşil ve siyah olum döneminde alınan meyve örneklerinden genin daha aktif olduğu bu sekiz çeşitte belirlenirken, kalan diğer çeşitlerde çok az ya da hiç eksprese olmadığı görülmüştür. Bu durum çeşidin içinde bulunduğu olgunluk düzeyinin seviyesi ile alakalı olabileceği gibi, meyvenin alındığı olum döneminden önce veya sonra eksprese olmuş olabilir.

2018 yılı *OeCHL P* gen ekspresyon sonuçları incelendiğinde ise 2017 yılına göre gen ekspresyon düzeylerinde bütün çeşitlerde belirgin bir artış olduğu saptanmıştır. 2017 yılında öne çıkan Uslu, Girit Zeytini, Çilli, İzmir Sofralık, Otur, Saçaklı Otur, Sinop No 5, Nizip Yağlık ve Erkence çeşitleri gen ekspresyon düzeyleri 2018 yılında daha da artış göstermiştir. Bu çeşitlere ek olarak Eşek Zeytini (Ödemiş), Domat, Kara Yaprak, Çekişte, Memeli, Ayvalık, Samsun Tuzlamalık, Mavi, Yün Çelebi, Kan Çelebi, Kilis Yağlık, Gemlik, Edincik su, Tekirdağ Çizmelik, Sinop No 6, Sinop No 4, Satı, Butko ve Patos çeşitleri de *OeCHL P* gen ekspresyon seviyelerini 2018 yılının iki olum döneminde de

arttırmıştır. Kalan diğer çeşitlerde de 2017 yılına göre azda olsa bir artış belirlenmiştir.

Çalışmamız süresince 2017 ve 2018 yıllarına ait bazı iklimsel veriler (sıcaklık ve yağış) kaydedilmiştir. Çizelge 3.2.'de iki yıla ait sıcaklık ve yağış değerleri arasında yıllara ve aylara göre bazı farklılıklar tespit edilmiştir. 2018 yılında havaların 2017 yılına göre erken ısındığı ve 2-3°C'lik bir artışın yaşandığı görülmüştür. Buna bağlı olarak yıllara ait çiçek açma, yeşil olum ve siyah olum dönemleri süreleri ve tarihleri ise değişmiştir. Yağış miktarları değerlendirildiğinde ise 2017 yılında toplam yağış miktarı 663 mm iken 2018 yılında 633 mm olarak kaydedilmiştir.

Bruno ve ark (2009), *OeCHL P* geninin zeytinde farklı gelişimsel dönemler ve stres durumlarındaki rolünü araştırdıkları çalışmada, erken dönemde biyotik ve abiyotik stres faktörlerine yanıt verdiğini ve stres altındayken gen aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda iki yılın aylara göre bir değerlendirmesi yapıldığında 2018 yılında çok erken dönemde ortaya çıkan zeytin sineği zararlısı ve sıcaklığın önceki yıla göre yüksek olması meyvelerde oluşan zararı arttırmıştır. Bunun yanında 2018 yılında toplam yağış daha azken, meyvelerde yağ oluşumunun başladığı Haziran ayından Temmuz, Ağustos, Eylül, Ekim ve Kasım aylarına kadarki sürede önceki yıla göre daha fazla yağış aldığı kaydedilmiştir.

Zeytin Sineği (*Bactrocera oleae*), ekonomik olarak en önemli zeytin zararlısı olup kışı çoğunlukla toprakta geçirir. Haziran'dan itibaren topraktan çıkmaya başlar ve bu dönemde meyve içindeki çekirdek sertleşmiş ve nohut büyüklüğüne ulaşmıştır. Haziran sonlarına doğru dişi sinek, öncelikle iri ve erken olgunlaşan zeytin meyvelerine, 200-250 adet yumurta bırakır. Sineğin yumurta bıraktığı kısımlar kararmaya başlar ve ekonomik zarar eşiği böylelikle başlamış olur. Zeytin sineği ile mücadelenin yapılmaması halinde, yıllara göre, sofralık ve yağlık zeytin yetiştiriciliğinde %30 ile %70 oranında değişen verim ve kalite kayıpları görülmektedir (Anonim, 2019). Zeytin sineğinin yoğun zararlar yaptığı

bu süreçte yağışında fazla olması meyvelerde oluşan hem abiyotik hem de biyotik stresi arttırabilir. Bundan dolayı 2018 yılı gen ekspresyon sonuçları 2017 yılına göre daha yüksek çıkarak araştırmacıların stres altındayken gen aktivesinin arttığını bildirdikleri çalışmalarıyla uyumluluk göstermiştir.

Muzzalupo ve ark. (2011), biyotik ve abiyotik strese dayanıklılığı ile tanınan 11 ticari zeytin çeşidinde bir yıl süre ile iki farklı dönemde (yeşil ve siyah olum) aldıkları meyve örneklerinde *OeCHL P* geninin transkripsiyon seviyelerini belirlemişlerdir. Stres şartlarına dayanıklı olan bu çeşitlerde gen ekspresyonu seviyeleri yeşil olum döneminde 0,0-1,9 arasında değişirken, siyah olum döneminde 3,0-0,0 arasında değişmiştir. Denememizde ise, birinci yıl yeşil olum dönemi gen ekspresyon miktarları 0,0-3,01, siyah olum dönemi 0,00-2,96; ikincil yıl yeşil olum dönemi 0-2,96, siyah olum döneminde 0,0-2,95 arasında değişmiştir. Birinci yıl yeşil olum döneminde gen ekspresyon düzeyi en yüksek çıkan Uslu çeşidi olmuştur. Birinci yıl bitkileri strese sokacak herhangi bir nedenin olmadığı düşünülmektedir. Ancak *OeCHL P* gen ekspresyonu en yüksek çeşit olmuştur. Bu durum meyvenin gen ekspresyon düzeyinin yüksek olduğu bir dönemde alındığının işareti olabileceği gibi çeşit özelliği ile alakalı olabilir. Çünkü iki yılda da yeşil olum döneminde en yüksek gen ekspresyon oranına sahip çeşit Uslu olmuştur.

Girit Zeytini, Yunanistan'a ait bir türdür ve kökeni bulunduğu ülkede zeytin yetiştirme alanlarının %50-60'ını kapsamaktadır. Burada ayrıca ‘‘Koroni, Kritikia, Ladolia ve Psylolia’’ olarak da bilinir. Sık dikim alanlarında en çok kullanılan türlerden biri olduğu için, farklı kıtalarda birçok ülkede bu çeşite yer vermektedir(Anonim, 2019). Sık dikime uygun bu çeşidin çalışmamızda yüksek gen ekspresyonu oranına sahip olması bu çeşidin önemini arttırmaktadır. 2017 ve 2018 yılları siyah olum döneminde yüksek bir gen ekspresyon düzeyi sergileyen Girit Zeytini polifenol içeriği yüksek bir Koroneiki çeşididir ve özellikle yağ işleme sanayinde diğer çeşitlerden elde edilen yağların oksidatif stabilitesini korumak için içerisine bir miktar aktarılan önemli bir yağlık çeşittir. Ayrıca kurak

şartlara adaptasyonu ile bilinen bu çeşit iki yıl üst üste siyah olum döneminde ekspresyon düzeyi yüksek bulunmuştur.

2017 ve 2018 yıllarında yeşil olum döneminde yüksek bir gen ekspresyon düzeyi sergileyen Sinop No 5 ile Butko, Otur, Saçaklı Otur, Satı, Patos, Mavi, Samsun Tuzlamalık, Sinop No 1, Sinop No 4, Sinop No 6, Trabzon Yağlık, Samsun Yağlık, Görvele ve Marantelli Karadeniz Bölgesi' ne özgü çeşitlerdendir. Çetin ve ark. (2017), bazı zeytin çeşitlerinde AFLP, SRAP ve RAPD moleküler markır teknikleri kullanarak akrabalık derecelerini belirledikleri çalışmada bu çeşitlerin üç farklı gruba ayrıldığını bildirmişlerdir. Butko, Trabzon Yağlık, Samsun Yağlık, Görvele ve Marantelli aynı aile grubuna girerken, Sinop No 5, Otur, Saçaklı Otur, Satı, Patos, Samsun Tuzlamalık, Sinop No 1, Sinop No 4 ve Sinop No 6 farklı bir aile grubuna dahil olmuştur. Mavi ise diğerlerinden en uzak akraba olarak başka bir gruba dahil olmuştur. Bu durum çeşitlerin birbirine akraba olsa bile bazı özellikler bakımından birbiri ile ayrıldığını göstermiştir. Çalışmamız incelendiğinde Sinop No 5, iki yıl süre ile yeşil olum döneminde en yüksek gen ekspresyon düzeyine sahip olmuştur. Otur ve Saçaklı Otur birinci yıl siyah olum döneminde, ikinci yıl Patos, Butko, Satı, Sinop No 4 çeşitleriyle birlikte yine siyah olum döneminde gen ekspresyon seviyelerini arttırmışlardır. Mavi, Sinop No 6 ve Samsun Tuzlamalık 2018 yılı yeşil olum döneminde gen ekspresyon seviyelerini arttırmışlardır. Trabzon Yağlık, Samsun Yağlık, Görvele ve Marantelli çeşitleri ise 2017 ve 2018 yılları iki olum döneminde gen ekspresyon seviyelerinde bir artış göstermemiştir. Sinop No 1 ve Sinop No 4 ise 2018 yılı siyah olum döneminde gen ekspresyon seviyelerini bir önceki yıla göre arttırmışlardır.

Butko, Otur, Saçaklı Otur, Satı ve Patos çeşitlerinin ortak özelliği erken olgunlaşır ancak olgunluk periyodu uzun ve soğuğa dayanıklı çeşitlerdir. Bu denli uzun bir yetiştirme periyoduna sahip çeşitlerin gen ekspresyon seviyelerindeki artış çeşitlerin daha ekstrem şartlarda yetiştirilebileceğini ifade edebilir.

2018 yılında en yüksek gen ekspresyon seviyesine sahip olan çeşit Eşek Zeytini (Ödemiş) olarak belirlenmiştir. Eşek zeytini (Ödemiş), diğer zeytin çeşitlerine göre geç çiçek açan ve yeşil olum dönemi uzun süren bir çeşittir. Siyah olum dönemini görmeden vejetasyon süresini tamamlamaktadır. Birinci yılda kayda değer bir gen ekspresyon seviyesi belirlenmeyen bu çeşidin ikinci yıl hem yeşil hem de siyah olum döneminde ekspresyon seviyesinde artış göstermesi onu diğer çeşitlerden ayıran özelliği olmuştur. Çünkü pek çok çeşit tek olum döneminde en yüksek gen ekspresyonu sergilerken, Eşek Zeytini (Ödemiş) iki olum döneminde de daha fazla ekspresyon seviyesine sahip olmuştur.

Çilli çeşidi, uzun bir olgunlaşma süresine sahip meyve eti yumuşak ve soğuğa dayanıklı bir çeşittir. Çalışmamızda siyah olum döneminde yüksek bir gen ekspresyon seviyesi göstermiştir. İzmir Sofralık ve Çilli meyve eti yumuşak ve birbirine benzeyen meyve tadına sahiptir (Bülbül, 2007). Çetin ve ark. (2017), 96 zeytin çeşidinde AFLP, SRAP ve RAPD moleküler markır teknikleri kullanarak çeşitlerin akrabalık derecelerini belirledikleri çalışmada, İzmir Sofralık ve Çilli'nin aynı grupta yer aldığını bildirmişlerdir. İzmir Sofralık çeşidi de Çilli'ye benzer olarak siyah olum döneminde ekspresyon seviyesini arttırmıştır.

Erkence çeşidi Uslu çeşidi gibi erkenci bir çeşittir ve ülkemizde hurmalaşma özelliği gösteren bir çeşit olarak bilinir. Çok erken dönemde olgunlaşma gösteren bu çeşit çalışmamızda Uslu çeşidi gibi yeşil olum döneminde gen ekspresyon seviyesi yüksek çıkan çeşitlerden biri olmuştur. Çalışma sonuçları özellikle erkenci üretim yapılacak yerlerde bu çeşitlerin değerlendirilmesi için uygun olabileceğini göstermiştir. Ancak Kiraz çeşidi de erkenci bir çeşit olmasına rağmen 2018 yılı siyah olum döneminde gen ekspresyonu yüksek bulunmuştur. Bu durum bu çeşidin diğer erkenci çeşitlere göre abiyotik ve biyotik stres faktörlerine biraz daha toleranslı olabileceği ile açıklanabilir. Çünkü bu çeşit diğer erkenci çeşitlere göre daha uzun bir olgunlaşma periyoduna sahiptir ve özellikle Kasım ayının başında neredeyse tüm meyveler siyah olum dönemine geçmiş olmaktadır.

Nizip Yağlık, Kilis Yağlık, Kan Çelebi ve Yün Çelebi çeşitleri Güneydoğu Anadolu Bölgesi'ne ait kurak şartlara oldukça dayanıklı yöresel çeşitlerdir. Nizip yağlık çeşidi 2017 ve 2018 yıllarında gen ekspresyon düzeyini siyah olum döneminde arttırırken Kilis Yağlık, Kan Çelebi ve Yün Çelebi sadece 2018 yılı siyah olum döneminde arttırmıştır. Bu dört çeşit siyah olum dönemi Kasım ayının ikinci yarısına kadar devam eden çeşitlerdir.

Marmara Bölgesi zeytin üretiminin %80'nini oluşturan Gemlik çeşidi soğuğa kısmen dayanıklı ve meyve bağlama dönemi en erken çeşitlerden biridir. Çalışmamızda 2018 yılında gen ekspresyon seviyesini iki olum döneminde arttırmıştır. Ancak ülkemizde yetiştiriciliği en fazla olan çeşidin *OeCHL P* gen ekspresyonu açısından değerlendirildiğinde diğer pekçok çeşide göre çok gerilerde kalması diğer çeşitlerimizin Gemlik çeşidine göre daha üstün özellikleri olabileceğini ve yetiştiriciliğe kazandırılması gerektiğini gösterebilir.

Çakır, Çekişte ve Domat çeşitleri yeşil olum ve siyah olum dönemi en geç çeşitlerden biridir. Meyve etinin çok sert olması ve çok geç olgunlaşması biyotik stres şartlarına karşı kendini korumasına sebep olmaktadır. Çalışmamızda Çakır iki yılda da gen ekspresyon seviyesini arttırmamıştır. Bu durum çok geç olgunlaşması ile alakalı bir durum olduğu düşünülmektedir. Ancak Çekişte ve Domat 2018 yılı yeşil olum döneminde gen ekspresyonunu arttırmıştır.

Ülkemizde önemli bir çeşit olan Ayvalık çeşidi özellikle siyah olum döneminden sonra kuraklığa karşı çok hassastır. 2018 yılı siyah olum döneminde gen ekspresyon seviyesini arttırmıştır. Memeli çeşidi sulama yapılan yerlerde soğuğa karşı hassasiyet geliştirir. Çalışmamızda sadece 2018 yılı yeşil olum döneminde ekspresyon seviyesini arttırmıştır. Çelebi, Sarı Ulak, Saurani, Memecik ise 2017 ve 2018 yıllarının tüm olum dönemlerinde belirgin artış göstermemiştir.

Bruno ve ark. (2009), Corelea çeşidinde yaptıkları çalışmada soğuk stresi ve mekanik zararlıya yaptıkları yeşil ve siyah meyvelerde *OeCHL P* ekspresyon düzeyi ve tokoferol miktarları arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Soğuk stresi

arttıkça gen ekspresyon düzeyinin arttığını ancak bir noktadan sonra azaldığını bildirmişlerdir. Tokoferol içeriği ve gen ekspresyon düzeyi arasında pozitif yönde bir bağlantının olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızın birinci yılında gen ekspresyonu ile α -tokoferol arasında pozitif bağlantı belirlenemesede, ikinci yılda gen ekspresyonu yüksek çeşitlerde α -tokoferol içeriğinde yüksek bulunmuştur.

Giannino ve ark. (2004), şeftalide yaptıkları çalışmada *PpCHL P* mesajlarının doku ve çiçek organlarında yüksek miktarda, ancak kök ve olgunlaşmış mezokarp dokularında nadiren bulunduğunu saptamışlardır. Transkripsiyonun olgunlaşma ve plastid tipi ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarında transkripsiyonun ışıkla arttığını ancak soğuk ve karanlık stresi ile baskılandığını bildirmişlerdir. Ayrıca yapraklara iğne ile açılan yaralara *Taphrina deformans* fungus patojenin doğal yoldan girmesiyle o bölgelerde *PpCHL P* transkripsiyon sinyallerinin arttığı belirlenmiştir. Çalışmamızda meyve perikarp dokularında çalışılmış olup, bunlar *CHL P* mesajlarının yoğun bulunduğu dokulardır. 2018 yılında bitkilerin normalden daha sıcak bir vejetasyon periyodu geçirmesi ve *Bactrocera olea* (zeytin sineği) yoğunluğu bu dönemde *OeCHL P* transkripsiyonunu arttırarak stres uygulanarak yapılan çalışmalarla paralellik göstermesini sağlamıştır.

Park ve ark. (2010), susamda yaptıkları çalışmada *CHL P* ifadesinin nasıl düzenlendiğini anlamak için ışık ve fitohormonların etkilerini incelemişlerdir. *SiCHL P* mRNA'nın, yaprak ve kotiledonlarda bol miktarda, kapsül ve tohumların gelişmesinde orta derecede, fakat çiçek, hipokotil ve sağlıklı fidelerin ve bitkilerin köklerinde çok az miktarda eksprese edildiğini bildirmişlerdir. *SiCHL P* ifadesinin kotiledonlarda da ışık tarafından indüklendiğini, ancak indüksiyon seviyesinin kırmızı ışıpta, kırmızı-mavi veya mavi ışığa göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, *SiCHL P* ifadesinin, karanlık, etilen ve absisik asitle azaldığını vurgulamışlardır. Çalışmamızda sadece meyvelerin perikarp dokularında çalışılmış ve herhangi bir yapay stres faktörü uygulanmamasına rağmen önceki yıla

göre 2018 yılı bazı iklim faktörlerinin (sıcaklık ve yağış) ekstrem gitmesi ve zeytin sineğinin o yılın ürününe doğal yoldan zarar vermesi gen ekspresyonunu arttırdığı düşünülmektedir. Ancak daha başka hangi faktörlerin gen ekspresyon miktarlarını arttırdığı bilinmemektedir.

Liu ve ark. (2015), yabani domates genotipinde yaptıkları çalışmada kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyvede soğuk, kuraklık, tuz, yüksek sıcaklık ve oksidatif stres faktörlerinin farklı saat dilimlerindeki *ShCHL P* gen ekspresyon seviyelerini incelemişler. *ShCHL P* gen ekspresyon seviyesi kontrollere göre yüksek sıcaklık, kuraklık, tuz ve oksidatif stres şartlarında bir yere kadar azalmış ve tekrardan artmıştır. Soğuk stresinde ise bir yere kadar artmış, sonra yükselmiş ve tekrar düşmüştür. Çalışma sonunda *CHL P* geninin abiyotik stres şartlarında yetiştirilen bitkilerin genetik gelişimi için iyi bir aday gen olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda *OeCHL P* geni ekspresyon seviyesi bakımından incelenen ve öne çıkan Girit Zeytini, İzmir Sofralık, Sinop No 5, Uslu, Çilli, Eşek Zeytini (Ödemiş) ve Nizip Yağlık çeşitlerinin bu bilgiler doğrultusunda abiyotik stres şartları altında daha dayanıklı olabileceği ve stres faktörü ortadan kalkmaya kadar kendilerine özgü ve dönemsel bir koruma mekanizması oluşturdıkları tahmin edilmektedir.

Mohanty ve ark. (2006), *CHL P* geninin 25°C'de buğday fidelerinde stres uygulamalarına göre daha çok eksprese olduğunu ve aydınlanma ile miktarının arttığını bildirmişlerdir. Buğdayda ise *CHL P* ekspresyonunun sıcaklık stresinden solmuş ve yeşil bitkilerde baskılandığını, soğuk stresi uygulanmış bitkilerde kısmen eksprese olduğunu bildirmişlerdir. Şimdiye kadar *CHL P* için kodlama yapan genler tütün (Tanaka ve ark. 1999; Grasses ve ark. 2001; Havaux ve ark. 2003), *Arabidopsis* (Keller ve ark. 1998), pirinç (Zhou ve ark. 2013; Wang ve ark. 2014), şeftali (Giannino ve ark. 2004) ve zeytin (Bruno ve ark. 2009) gibi birkaç yüksek bitkide tanımlanmıştır. Önceki çalışmalar, *CHL P* ekspresyonunun ışık tarafından indüklendiğini ancak karanlık, etilen, absisik asit, düşük ve yüksek sıcaklıklarla baskılandığını göstermiştir (Giannino ve ark. 2004; Mohanty ve ark.

2006; Bruno ve ark. 2009; Park ve ark., 2010; Dalal ve Tripathi, 2012). Çalışmamızda çeşitler arasında *CHL P* gen ekspresyonu miktarı bakımından iki yıl arasında farklılıklar belirlenmiştir. İki yıl arasındaki bu farklılıklar sıcaklık, yağış ve zeytin sineği gibi faktörlere bağlansa da aslında pek çok araştırmacı, *CHL P* ifadesinin pek çok faktöre bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Bu durum ileriki çalışmalarda daha fazla faktör ve olum döneminin dikkate alınarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermiştir.

CHL P ifadesinin azalması, stres koşulları altında bitki büyümesini ve gelişimini bozabilmektedir. Ancak yakın zamana kadar, *CHL P*'nin bitki adaptasyonunda abiyotik stres üzerine etkileri üzerine çok az araştırma yapılmıştır. Bu konuya dair tek rapor, fotosistem II inhibisyonunun çok hızlı gerçekleşmesi ve lipid peroksidasyonu, yüksek ışık ve düşük sıcaklığa maruz bırakılan yaprakların kontrollerine kıyasla *CHL P* antisens üretiminin şiddetlenmesidir. Ayrıca, *CHL P* antisens bitkilerinin, yaprakların foto-oksidatif strese duyarlılığının artmasıdır. (Grasses ve ark., 2001; Havaux ve ark., 2003).

Zeytinyağının lipid fraksiyonunda tokoferoller, polar fraksiyonunda ise fenolik bileşikler temel antioksidan maddelerini oluşturmaktadır. Bunların elde edilen yağa geçme oranları zeytin çeşitlerine, çeşitlerin yetiştirme koşullarına, bulunduğu bölgeye, olgunluk seviyesine ve meyve işleme teknolojilerine göre değişmektedir (Ninfali ve ark., 2001; Gimeno ve ark., 2002; Ögütçü ve ark., 2008).

Bitkilerin sekonder metabolitleri olan polifenollerin bitkilerin normal gelişimine önemli katkıları vardır. Patojenlerin saldırılarına veya ultraviyole ışıklara karşı bitkileri savunurlar (Manach ve ark., 2004; Kahkönen ve ark., 1999). yapılarında en az bir aromatik halka ve bir ya da daha fazla hidroksil (OH) grubu bulunduran bu bileşiklerin antikanser, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleri olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (Bhattacharya ve ark., 2010; Bowden, 1999). Tokoferol ve fenollerin meyve içerisindeki kompozisyonu farklı olgunluk aşaması ve dokularda çok karmaşık bulunmuştur (Cinquanta ve ark., 2001). Ancak,

Omar (2008), tokoferoller ve fenollerin meyve içindeki kompozisyonu için sorumlu metabolik kısa yolların düzenleyici mekanizması hakkında henüz yeterli bilgi bulunmadığını bildirmiştir. 2017 yılında α -tokoferol miktarı Girit Zeytini, İzmir Sofralık ve Çilli çeşitlerinde olgunlaşma ile artarken Sinop No 5 ve Uslu çeşitlerinde azalmıştır. 2018 yılında ise Eşek Zeytini, Çilli, Nizip Yağlık çeşitlerinde yine olgunlaşma ile artarken, Sinop No 5 ve Uslu çeşitlerinde azalmıştır. İki yılın ortak çeşitleri olan Çilli, Uslu ve Sinop No 5 çeşitleri dikkate alında iki yılda da ortak bir durum sergilemişlerdir. Bu durum bitkilerdeki tokoferol içeriğinin hangi şartlarda arttığını ya da azaldığını tespit edecek daha çok çalışmanın yapılması gerektiğini göstermiştir.

Gümüşkesen (1999), yüksek kaliteli zeytinyağının tokoferol içeriğinin 300 mg/kg olduğunu, düşük kaliteli ve yüksek asitli zeytinyağında bunun 5mg/kg değerine kadar düşmekte olduğunu bildirmektedir. Çalışmamızda ise çeşitler arasında olum dönemlerine göre farklılık tespit edilirken siyah olum döneminde Girit Zeytini ve İzmir Sofralık çeşitleri 300 mg/kg tokoferol eşiğini geçmiştir. Denememizin 2017 yılı sonuçları incelendiğinde Girit Zeytini, İzmir Sofralık, Çilli çeşitlerinde α -tokoferol miktarı olgunlukla (siyah olum) artarken, Sinop No 5, Uslu çeşitlerinde azalmıştır. 2018 yılında ise Eşek Zeytini (Ödemiş), Çilli, Nizip Yağlık çeşitlerinde olgunlukla artarken, Sinop No 5, Uslu çeşitlerinde azalmıştır. Birinci ve ikinci yıl sonuçları karşılaştırıldığında Çilli olgunlukla artarken, Sinop No 5 ve Uslu çeşitleri olgunlukla azalarak birbirini desteklemiştir.

Muzzalupo ve ark. (2011), 11 zeytin çeşidinin yeşil ve siyah olum döneminde meyvelerin bünyelerindeki tokoferol içeriklerini belirledikleri çalışmada α -tokoferol miktarı 95.1 mg/kg (toplam yağ) ile 851.2 mg/kg (toplam yağ) arasında değişmiştir. İki yılın sonuçlarına göre denememizde α -tokoferol sınırı 146,55-349,75 mg/kg (toplam yağ) arasında değişmiştir. Denememizle uyumlu olarak α -tokoferol miktarı bazı çeşitlerde olgunlukla artarken bazı çeşitlerde azalmıştır. Ancak iki olum dönemi ortalamaları kıyaslandığında siyah

olum dönemi α -tokoferol oranı yeşil olum dönemine göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum olgunlaşma devam ettikçe tokoferol biyosentezinde devam ettiğini göstermiştir.

Zeytinyağında yüksek konsantrasyonda bulunan fenolik bileşikler oleuropein, hydroxytyrosol ve tyrosoldür (Amiot ve ark., 1996). Meyvenin küçük ya da büyük oluşu oleuropein miktarını etkilemektedir (Amiot ve ark., 1996). Küçük taneli çeşitlerde oleuropein miktarı büyük taneli olanlara kıyasla daha fazladır (Vinha ve ark., 2005). Oleuropein zeytinyağında acılıktan sorumlu bileşiktir. Bundan dolayı küçük taneli çeşitlerin acılık oranı daha fazla olmaktadır (Kiritsakis,1998; Bianchi, 2003). Literatüre paralel olarak 2017 yılı verileri incelendiğinde meyveleri oldukça küçük olan Girit Zeytini hem yeşil hem de siyah olum döneminde oleuropein içeriği en yüksek çeşit olarak belirlenmiştir.

Oleuropein en baskın fenolik bileşiktir ve olgunlaşmamış zeytinlerin kuru maddesinde 140 mg/g'dan daha fazla bulunmaktadır ve yaprakların kuru maddesinde 60-90 mg/g konsantrasyona ulaşmaktadır (Morello ve ark., 2005; Omar, 2010). Çalışmamızda 2017 yılında oleuropein miktarları 65,67-3,73 mg/g ve 2018 yılında 43,11-2,99 arasında değişmiştir. Oleuropein miktarları yeşil olum döneminde daha yüksekken, olgunlaşmanın ilerlemesiyle oldukça azalmıştır ancak literatürde belirtilen değerlerden daha az bulunmuştur.

Amiot ve ark. (1989) zeytinlerin olgunlaşması sırasında oleuropeinin azalıp, demetiloleuropeinin arttığını; Boskou ve ark. (2006) ise oleuropeinin azalmasıyla birlikte tyrosol ve hhydroxytyrosol miktarının arttığını bildirmişlerdir. Denememizde de oleuropein azaldıkça tyrosol ve hydroxytyrosol artmıştır. Esti ve ark. (1998), farklı zeytin çeşitlerinde yaptıkları fenolik bileşik analizinde demethyoluropeinin sekiz çeşitten sadece ikisinde (Coratina ve Leccino) bulunduğunu ve hydroxytyrosolün çeşitlerin olgunlaşmasında bir gösterge olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Romero ve ark. (2002), Uceda ve Fridas (1975) tarafından zeytinde meyve kabuğu ve et rengine göre oluşturdıkları olgunluk indeksini (1, 1.2, 1.8, 3, 4) kullandıkları çalışmada Manzanilla çeşidini kullanmışlardır. Manzanilla çeşidi için oleuropein, hydroxytyrosol ve tyrosol miktarı olgunlukla azalmıştır. Jemai ve ark. (2009), Tunus' a özgü tatlı meyveleri ile bilinen Dhokar çeşidi ve Chemlali çeşitlerinde farklı dönemlerdeki oleuropein ve hydroxytyrosol içeriklerini belirlemişlerdir. Dhokar çeşidinde oleuropein miktarları Temmuz ayından 3,29 g/kg (taze meyve)'dan Ekim ayına 0,16 g/kg (taze meyve)'a düşmüştür. Chemlali çeşidinde ise 5,79 g/kg (taze meyve)'dan 3,75 g/kg (taze meyve)'a düşmüştür. Hydroxytyrosol miktarı, Dhokar çeşidinde 1,8 g/kg (taze meyve)'den 3,00 g/kg (taze meyve)'a kadar yükselmiştir. Chemlali çeşidinde ise 0,8 g/kg (taze meyve)'dan 3,1 g/kg (taze meyve)'a yükselmiştir. Çalışmamızda ise oleuropein miktarı olgunlukla azalırken, hydroxytyrosol ve tyrosol miktarları artmıştır.

Muzzalupo ve ark. (2011), 11 soğuğa tolerant zeytin çeşidinde yaptıkları çalışmada çeşitlerin iki olum döneminde (yeşil ve mor) oleuropein içeriklerini 52,34-1,27 mg/g, hydroxytyrosol içeriklerini 0,15-6,42 mg/g, tyrosol içeriklerini ise 0,06- 0,76 mg/g arasında belirlemişlerdir. Oleuropein içerikleri çalışmamızla paralellik göstermiştir. Denememizin hydroxytyrosol içeriği 2017 yılında 1,53-3,00 mg/g; 2018 yılında 1,32-2,60 mg/g ve tyrosol içerikleri 2017 yılında 0,31-1,75 mg/g; 2018 yılında 0,09-1,06 mg/g arasında değişmiştir. Bu bulgular literatüre yakın değerler göstererek desteklenmiştir.

Alkan ve ark. (2011), Gemlik çeşidinde iki yılı kapsayan araştırmalarında hidroksitirozol miktarının 1.13-18.57 mg/kg arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmayla kıyaslandığında bu aralığın oldukça geniş olduğu görülmüştür. Kelebek ve ark. (2012), Gemlik zeytin çeşidinde yaptıkları çalışmada hydroxytyrosol, 4-hidroksibenzoik asit, tyrosol, 2,3-dihidroksibenzoik asit, kafeik asit, vanilik asit, vanilin, sirinjik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinamik asit, apigenin ve luteolin olmak üzere toplam 13 adet fenol bileşiği tanımlamışlardır. Tyrosolün (9.85

mg/kg) zeytinyağında en baskın olan fenol bileşiği olduğunu ve bunu sırasıyla apigenin (5.40 mg/kg) ve hydroxytyrosol'ün (3.21 mg/kg) izlediğini bildirmişlerdir. Denememizde tyrosol değerleri literatüre göre daha düşük bulunurken, hydroxytyrosol değerleri yakın bulunmuştur.

Yıllara göre toplam fenol sonuçları incelendiğinde, 2017 yılında Girit Zeytini, İzmir Sofralık, Sinop No 5, Uslu ve Çilli çeşitlerinde olgunlukla azalmıştır. 2018 yılında Eşek Zeytini (Ödemiş), Sinop No 5, Uslu, Çilli ve Nizip Yağlık çeşitlerinde 2017 yılına benzer olarak olgunlukla azalmıştır. Muzzalupo ve ark. (2011), 11 zeytin çeşidinin yeşil ve siyah olum döneminde meyvelerin bünyelerindeki fenolik bileşiklerin olgunlukla azaldığını bildirerek denememizle uyumlu sonuçlar göstermiştir. Baldioli ve ark. (1996) yaptıkları çalışmada da zeytinyağının oksidatif stabilitesinin fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ile doğru orantılı olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda 2018 yılı toplam fenolik madde miktarları siyah olum dönemi sonuçlarının 2017 yılı siyah olum dönemine göre daha düşük çıkması o yılın daha stresli bir yıl olduğunu göstermiştir.

Alagna ve ark. (2012), 12 çeşitte toplam fenol içeriğini belirledikleri çalışmada oleuropein, hydroxytyrosol ve tyrosol miktarlarının Coratina ve Rosciola çeşitlerinde 150 mg/g'dan yüksek olduğunu, Tendello ve Dolce d'Andria çeşitlerinde 50 mg/g'dan düşük olduğunu, diğer çeşitlerde ise 60-130 mg/g arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Boskou ve ark. (2004), Yunan sofralık zeytin çeşitlerini inceledikleri çalışmalarında; her tip sofralık zeytinin, türe göre değişen miktarlarda fenolik bir profile sahip olduğu ve her tip sofralık zeytinin bileşimindeki polifenollerin nitel ve nicel içeriğinin zeytinlerin toplam antioksidan kapasitesini değiştirmekte olduğu sonucuna varmışlardır.

Aktan ve Kalkan (1999), farklı zeytin çeşitleri üzerinde yaptıkları çalışmalarla fenolik maddelerden bazılarının tek bir çeşitte bulunabileceğini ve bazı fenolik maddelerin miktarında da çeşide göre farklılıklar olduğunu

bildirmişlerdir.. Zeytinin temel fenolik glikoziti olan oleuropeinin çeşide göre değiştiğini ve yağlık bir çeşit olan Ayvalık çeşidinde oleuropein miktarının diğer çeşitlere oranla daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Dağdelen ve ark. (2012), Ayvalık, Domat ve Gemlik zeytin çeşitlerinde Ağustos ayından Eylül ayına kadar farklı olgunluk aşamalarındaki oleuropein, hydroxytyrosol ve tyrosol miktarlarını belirlemişlerdir. Oleuropein içeriği en yüksek Ayvalık çeşidinin (209,58 mg/kg) Aralık ayında, en düşük içeriğe Domat çeşidinin (10,01 mg/kg) Eylül ayında; hydroxytyrosol içeriği en yüksek Ayvalık çeşidinin (517,78 mg/kg) Eylül ayında, en düşük Gemlik çeşidinin (119,47 mg/kg) Ekim ayında; tyrosol içeriği ise en yüksek Domat çeşidinin (52,17 mg/kg) Ağustos ayında, en düşük Ayvalık çeşidinin (3,02) Aralık ayında olduğu belirlenmiştir.

Pirgün ve Keçeli (2008), olgunluk başı ve sonunda zeytinlerin toplam fenol içeriklerinin belirlemeye çalıştıkları çalışmada toplam fenol içeriğinin 206 mg/g ile 315 mg/g (CAE) arasında çeşide bağlı olarak değiştiğini ve olgunlaşma ilerledikçe azaldığını saptamışlar.

Yorulmaz (2009), Anadolu'ya özgü zeytin çeşitlerinin toplam fenolik madde içeriklerinin 2006/2007 hasat sezonunda 1925,65-30775,30 ppm, 2007/2008 hasat sezonunda ise 5677,94-24073,85 ppm arasında değişen değerlere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Saurani (ortalama 19167,18 ppm) çeşidi yüksek fenolik madde içeriğiyle dikkat çekmektedir. Varlığı tespit edilen fenolik maddeler 2,4-hidroksifeniletanol (tyrosol), kuromanin klorür, kerasiyanin klorür, p-kumarik asit, akteosit, luteolin-7-glikozit, rutin, oleuropein, trans sinnamik asit, luteolin ve apigenindir. En yaygın fenoliklerin oleuropein ve trans sinnamik asit olgğunu bildirmişlerdir. Türk zeytinyağlarının fenolik madde içerikleri 2006/2007 hasat yılında 48,72-340,43 ppm, 2007/2008 hasat yılında 49.61-646.30 ppm arasında değişen değerler almıştır. Varlığı tespit edilen fenolik maddeler 2,4-hidroksifeniletanol (tirozol), syringik asit, p-kumarik asit, luteolin-7-glukozit, trans sinnamik asit, luteolin ve apigenindir. Zeytinyağlarımızın temel fenolikleri ise

luteolin, trans sinnamik asit ve luteolin-7-glikozit'tir. Denememizde ise sadece oleuropein, hydroxytyrosol ve tyrosol miktarları değerlendirilmiştir.

Arslan (2010), Türkiye'nin Güney Anadolu bölgesinde yer alan çeşitli lokasyonlardan (Alanya, Antalya, Ceyhan, Osmaniye, Karaman, Silifke, Hatay, Antep, Kilis, Urfa ve Maraş) 2006 ve 2007 yıllarında üç farklı hasat döneminde (1.dönem (15 Eylül- 1 Ekim), 2.dönem (20 Ekim- 1 Kasım), 3.dönem (20 Kasım- 10 Aralık)) temin edilen Ayvalık, Gemlik, Kilis yağlık ve Sarıulak çeşidi zeytinlerin ve bunlara ait zeytin yağlarının bazı fiziksel ve biyokimyasal özelliklerinin incelendiği çalışmada zeytinlerin olgunluk seviyelerinin artmasıyla zeytin meyve ve yağlarında toplam fenolik madde konsantrasyonunun azaldığını bildirmişlerdir. Daha önce yapılmış çalışma sonuçlarına göre yağışı çok alan lokasyonlardan veya sulama yapılan arazilerden elde edilen zeytin yağlarında fenolik bileşenler daha düşük seviyelerde olmuştur (Tovar ve ark. 2001; Romero ve ark., 2002a). Denememizde de olgunlukla birlikte toplam fenol miktarı azalarak paralellik göstermiştir. Ayrıca 2017 ve 2018 yılı farklı mevsimsel etkileri denememizde de görülerek desteklenmiştir.

Sevim ve ark. (2016), ülkemizin önemli zeytin çeşitleri olan Ayvalık, Memecik, Gemlik ve Uslu zeytin çeşitlerinden elde edilen yağlarda 2011 ve 2012 hasat yılında toplanan zeytinlerde toplam fenolik madde ve α - tokoferol miktarlarını belirlemişlerdir. Toplam fenolik madde miktarının 46,15-383,67 mg CAE/kg yağ arasında değişmiştir. α - tokoferol miktarı ise 194,99-340,44 mg/kg yağ arasında değişirken, denememizde 2017 yılında 146,55-362,14 mg/kg (toplam yağ), 2018 yılında ise 175,13-250,44 mg/kg (toplam yağ) arasında değişmiştir. İki çalışmada da birbirine yakın α - tokoferol değerleri elde edilmiştir.

Denememizde iki olum (yeşil ve siyah) dönemi çalışılmış ve toplam fenolik madde mikarı 2017 yılında 68,41 mg/g-7,55 mg/g (kuru madde) arasında, 2018 yılında 45,00 mg/g (kuru madde)-7,21 mg/g (kuru madde) arasında değişmiştir. Yeşil olum döneminde toplam fenol miktarı daha yüksek çıkarken,

siyah olum döneminde azalmıştır. Sevim ve ark. (2016) toplam fenol analizini yağda yaparken, bu çalışmada kuru maddeden elde edilen sonuçlar alınmış olup, böylece daha düşük toplam fenol içerikleri elde edilmiştir.

Mousa ve ark. (1996), zeytinin yetiştiği yükseklik ile fenol içeriği arasında bir ilişki olduğunu ve daha yüksekte yetişen zeytinlerin fenol içeriğinin daha az olduğunu belirlemişlerdir.

Kadalkal (2009), Gemlik yöntemi ile işlenmiş gemlik tipi sofralık zeytinlerin fenolik profillerini inceledikleri çalışmada 16 farklı lokasyondan topladıkları örneklerde tyrosol miktarının 3,5-49,08 mg/100 g arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Marsilio ve ark. (2002), Intosso Kaliforniya tipi işlenmiş zeytinlerde tyrosol miktarını, taze zeytinde 40 mg/100g (km), 4 ay salamurada bekletilmiş zeytinde 63 mg/100g (km), kostik muamelesi ve hava ile okside edilen zeytinlerde 152 mg/100g (km) olarak tespit etmiştir.

Ocakoğlu ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada ülkemizdeki çeşitlerden elde edilen zeytinyağlarında hidroksitirozol, 4-hidroksibenzoik asit, tirozol, 2,3-dihidroksibenzoik asit, 4-hidroksifenilasetik asit, kafeik asit, vanilik asit, vanilin, syringik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, sinamik asit, luteolin ve apigenin varlığı tespit etmişlerdir. Garcia ve ark. (2001) iki farklı zeytin çeşidinden üretilen zeytinyağlarının fenolik madde miktarlarını belirlemişler ve natürel zeytinyağının hidroksitirozol, tirozol, vanilik asit, vanilin, 4-(asetoksietil)-1,2- dihidroksibenzen, p-kumarik asit, hidroksitirozol ve tirozola bağlı elenolik asitin dialdehydik formu, 1-asetoksinopiresinol, pinoresinol, oleuropein aglukon, luteolin, ligstrosit aglikon ve apigenine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

McDonald ve ark. (2001), yağ ekstraktlarının fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmada; dondurularak kurutulmuş zeytinlerden elde edilen fenolik madde bileşenlerini, ultraviyole, kimyasal iyonizasyon ve elektrosprey iyonizasyonu kullanarak yüksek performanslı sıvı-kromatografisiyle

fraksiyonlara ayırmışlardır. Bazı standartlarla birlikte bu fraksiyonlar bir sıvı ve bir lipid sisteminde antioksidan aktiviteleri açısından test edilmiştir. Çoğu fraksiyonda önemli derecede antioksidan aktivite görülmüş ve bunun da fraksiyonun fenolik bileşen içeriği ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar, oksidasyon işleminin kinetiklerinin karmaşıklığına bağlı olarak fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi araştırılırken antioksidanların farklı konsantrasyonlarında çok yönlü araştırmanın gerektiğine işaret etmişlerdir.





6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ülkemiz zeytin genetik kaynaklarının koruma altında olması bu türün üzerinde yapılacak ıslah çalışmalarına zengin bir genetik taban oluşturmaktadır. Özellikle son dönemdeki teknolojik ilerlemeler, biyolojik ve patolojik durumlarla ilgili transkripsiyonel cevaplardan sorumlu binlerce genin hızla değerlendirilmesine imkan vermektedir. Özellikle pek çok kültür bitkisine ait genlerin büyük çoğunluğunun sekanslarının bulunması, biyolojik regülasyonun temelini teşkil eden kompleks genetik ve protein etkileşmelerinin araştırılmasına olanak sağlamıştır.

On yıl öncesine kadar genlerin ifade düzeyleri ile ilişkili aday genlerin analizi real-time PCR ve mikroyarray gibi yöntemler ile yapılmaktaydı (Wolf, 2013). Günümüzde ise yeni nesil dizileme (YND) teknolojileri; DNA, RNA, miRNA, Piwi RNA gibi hücre içerisindeki biyolojik moleküller hakkında düşük maliyetle, hızlı bir şekilde ve aynı anda çok büyük miktarda veri elde edilmesini sağlamaktadır. YND yöntemleri ve biyoenformatik araçların çok kısa sürede gelişmesi sonucu kapsamlı teknolojilerin de ortaya çıkması ile tüm genom çaplı araştırmalarda RNA dizileme yöntemleri ön plana çıkmaya başlamıştır (Sarıman ve ark., 2013).

RNA Dizileme (RNA-Seq), transkriptomu niteliksel ve niceliksel olarak araştırmak için yeni ve etkili bir yöntemdir. RNA Dizileme, transkriptlerin tam listesini ve genlerin yapısını tam olarak tanımlayabilir ve gen ekspresyon seviyelerini doğru olarak ölçebilen bir teknolojidir. Yeni Nesil Dizileme teknolojilerinde günümüzde pek çok platform bulunmaktadır. Roche 454 (şuan kullanılmamakta) pirodizileme yöntemini, Illumina Miseq/Hiseq/GA baz senteziyle dizileme yöntemini ve Solid Sistemi ligasyon yoluyla dizileme yöntemini kullanmaktadır. Diğer gelişmekte olan platformlar ise semi-kondöktor çip bazlı dizileme ile IonTorrent, katı faza dayanan genetik dizileme platformu

Helicos' ve en son olarak tek molekülü eş zamanlı olarak dizileme sistemine sahip Pasific Biosciences veya Oxford Nanopore teknolojileridir (Chu ve Corey, 2012; Ustek ve ark., 2011; Sarıman, 2013; Mutz ve ark., 2013; Quail ve ark., 2012)

Çok fazla yeni teknolojinin hayata geçirilmesi ile bitki bünyesinde cerayan eden düzenleyici metabolik ağ anlaşılmaya çalışılmıştır. Bu teknoloji her bir genin ekspresyon zamanının ayrıntılı bir şekilde bilinmesine katkı sağladığı gibi, üzerinde çalışılan türün ne yönde biyolojik ve fonksiyonel savunma geliştirdiğini anlamamıza yardımcı olmaktadır. Çalışmamızda daha önce zeytin için tanımlanmış NADPH-dependent geranylgeranyl reductase geni (*OeCHLP*) üzerinde durulmuş ve ekspresyon profili ve zamanı hakkında araştırmalar yapılmıştır. *OeCHL P* geni, meyvenin besinsel değeri yanında bitkinin verim ve strese tepkisi ile ilgili metabolik yollar için gerekli olan klorofil, tokoferoller ve plastoquinone bileşiklerinin oluşumunu katalizlemektedir. Bu bileşiklerin oluşumunu katalizleyen genin özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar neticesinde kuraklık, ıstık, düşük sıcaklık, yüksek sıcaklık ve hastalıklar, yaralanma gibi biyotik ve abiyotik stresler karşısında ekspresyon seviyesini arttırdığı yapılan pek çok çalışma ile belirlenmiştir.

Bitki metabolizmasında çok farklı görevlerin yerine getirilmesinde kilit rol oynayan *OeCHL P* geninin RT-PCR uygulamalarıyla ekspresyon düzeyi araştırılan bu çalışmada yıllara ve olum dönemlerine göre gen ekspresyon düzeyinde farklı sonuçlar vermiştir. Çalışmamızda 2017 yılında Girit Zeytini, Sinop No 5, Çilli, Uslu, İzmir Sofralık çeşitleri öne çıkarken, 2018 yılında ise Eşek Zeytini (Ödemiş), Sinop No 5, Uslu, Çilli ve Nizip Yağlık çeşitleri öne çıkmıştır. İki yıl ortalamaları değerlendirildiğinde ise her iki yılda da öne çıkan çeşitler Uslu, Çilli, Sinop No 5, Nizip Yağlık, Otur ve Saçaklı Otur çeşitleri olmuştur. Ancak çeşitlerin gen ekspresyon seviyeleri olum dönemlerine göre değişmiştir. Bazı çeşitlerde yeşil olum döneminde en yüksek gen ekspresyon seviyesi gözlenirken, bazı çeşitlerde siyah olum döneminde belirlenmiştir. Bu durum çeşitlerin çiçeklenme tarihi,

meyve bağlama dönemi, yeşil olum ve siyah olum dönemlerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Çünkü bazı çeşitlerde erkencilik söz konusuyken bazı çeşitlerde geç çiçek açma gözlenmiştir. Bunun dışında meyve bağlama dönemi 15 gün süren çeşitler varken, bazı çeşitlerde bir ay süren meyve bağlama dönemi gözlenmiştir. 2017 ve 2018 yılı aylara göre ortalama sıcaklık ve yağış miktarı değerlerinin birbirinden farklı olması ve 2018 yılında zeytinliklere zarar veren ve ağaçlarda stres oluşturan zeytin sineği zararlısı üzerinde çalıştığımız genin değişik seviyelere sahip olmasına sebep olmuştur. Ancak bu konuya dair yapılmış şimdiye kadar ki çalışmalar incelendiğinde bu genin ifade düzeyini etkileyen pekçok faktörün var olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarında gen ekspresyonunu etkileyen ana sebepler tahmin edilirken, diğer faktörlerin ne decerece etkilediğini anlayabilmek için bu konuda daha detaylı ve kontrollü şartlarda araştırma yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak elde edilen bulgular üzerine etki eden faktörlerin sayısı oldukça fazla bulunmuştur. *OeCHL P* geninin ekspresyon seviyesi yıllara göre farklılık göstermesi bu genin abiyotik stres şartlarından etkilendiğini göstermiştir. Bunun yanında *OeCHL P* geni ekspresyon seviyesinin meyvelerin farklı gelişim aşamalarında farklı miktarlarda seviyesini arttırdığının belirlenmesi ve özellikle erkenci çeşitlerde yeşil olum döneminde ifadesinin yüksek olması erkencilik ve geçcılık gibi çeşit özellikleri gibi faktörlerle bir bağlantı olabileceğini göstermiştir.

Ülkemize ait değerli 39 çeşidin dikkate alındığı bu çalışmada *OeCHL P* gen ekspresyon seviyesi en yüksek çıkan **Çilli, Eşek Zeytini (Ödemiş), Girit Zeytini, İzmir Sofralık, Nizip Yağlık, Sinop No 5 ve Uslu** çeşitleri neredeyse ülkemizin zeytin yetiştiricilik yapılan tüm alanlarını temsil edecek çeşitlerdir. Araştırmadan elde edilen bulgular ışığında uygulamaya yönelik olarak aşağıdaki önerileri yapmak mümkündür:

-Araştırmaya konu olan çeşitlerden Girit Zeytini, polifenol içeriği yüksek, kendine has küçük meyvelere sahip bir çeşittir. Çalışmamızda 2017 yılında yüksek bir *OeCHL P* gen ekspresyonu sergilemiştir. Yapılan α -tokoferol ve oleuropein analizlerinde ise en yüksek değere sahip çeşit olmuştur. Olgunlaşma ilerledikçe oleuropeinin, hydroxytyrosol ve tyrosola parçalandığı bilinmektedir. Bundan dolayı diğer çeşitlerle kıyasladığımızda bu çeşit diğer çeşitlere göre oleuropeini daha yavaş parçalanan bir çeşitte diyebiliriz. Bu denli yüksek besinsel değere sahip ve özellikle elde edilen yağın duyuusal özelliklerinin iyi olduğu bilinen bu çeşidin daha fazla yetiştirilme olanaklarına sahip olması ve ıslah çalışmalarına dahil edilmesi hem bu çeşitten sağlık yönünden daha çok faydalanmamızı hem de yeni çeşitlerin geliştirilmesi açısından önemli olacaktır.

İzmir Sofralık, yeşil olarak değerlendirilen meyveleri çok iri bir çeşittir. Çalışmamızda Girit Zeytininden sonra en yüksek α -tokoferol ve oleuropein içeriğine sahip olmuştur. Hem besinsel hemde irilik yönünden öne çıkan bu çeşit özellikle son yıllarda dış pazarın büyük meyveli zeytin çeşitlerine olan eğilimi dikkate alındığında ön plana çıkarılabilecek bir çeşittir.

Eşek Zeytini (Ödemiş)'de İzmir Sofralık zeytin çeşidi gibi iri meyveli bir çeşittir. Eşek zeytini (Ödemiş), diğer zeytin çeşitlerine göre geç çiçek açan ve yeşil olum dönemi uzun süren bir çeşittir. Siyah olum döneminin tamamını görmeden vejetasyon süresini tamamlamaktadır. Birinci yılda kayda değer bir *OeCHL P* gen ekspresyon seviyesi belirlenmeyen bu çeşidin ikinci yıl hem yeşil hem de siyah olum döneminde ekspresyon seviyesinde artış göstermesi onu diğer çeşitlerden ayıran özelliği olmuştur. Çünkü pek çok çeşit tek olum döneminde en yüksek *OeCHL P* gen ekspresyonu sergilerken, Eşek Zeytini (Ödemiş) iki olum döneminde de daha fazla ekspresyon seviyesine sahip olmuştur. Besinsel yönden değerlendirildiğinde ise Girit Zeytini ve İzmir Sofralık çeşitlerinden sonra en yüksek α -tokoferol miktarına sahip olmuştur. Oleuropein içeriği ise Girit Zeytini'nden düşükken İzmir Sofralık'dan daha yüksek bulunmuştur. Oleuropeinin,

hydroxytyrosol ve tyrosola parçalanması ise İzmir Sofralık çeşidinden daha az olması besinsel potansiyelini koruduğunu göstermiştir. Bundan dolayı bu çeşitte dış pazarın isteklerine uygun iri çeşitler arasında değerlendirilebilir.

Sinop No 5 çeşidi, Karadeniz Bölgesi'ne özgü bir çeşit olduğu bilinse de şimdiye kadar üzerine çok fazla çalışma yapılmış bir çeşit değildir. Çalışmamızda iki yıl üst üste gen ekspresyonu yüksek çıkan çeşitlerden biri olmuştur. Bu çeşit iki yılda da yüksek bir α -tokoferol ve oleuropein içeriğine sahip olmuş ve hatta ikinci yıl ortaya çıkan biyotik ve abiyotik stres şartları kimyasal bileşimini çok az etkileyerek bu çeşidin besinsel öneminin ortaya konulmasına yardımcı olmuştur.

Uslu çeşidi, erkenci çeşitler arasından en yüksek *OeCHL P* gen ekspresyonuna sahip çeşit olmuştur. Oleuropein ve α -tokoferol içeriği diğer öne çıkan çeşitlere nazaran düşük belirlense de yetiştiricilik için erkenci çeşitler içinde öncelik verilecek bir çeşit olabilir.

Nizip Yağlık, Güneydoğu Anadolu Bölgesine özgü ve kuraklık stresine dayanıklı bir çeşit olarak bilinmektedir. Yağ verimi oldukça iyi olan bu çeşit, Girit Zeytini ile beraber diğer yağlık zeytinlere göre daha yüksek bir *OeCHL P* gen ekspresyon oranına sahip olmuştur. 2018 yılında α -tokoferol oranı, diğer dört çeşide göre düşük bulunsa da oleuropein içeriği bakımından en yüksek ikinci zeytin çeşidi olmuştur. Hem gen ekspresyonu hem de besinsel değeri yönünden öne çıkan bu çeşit kurak bölgeler için tavsiye edilebilir.

Çilli, Ege Bölgesine özgü, sofralık bir zeytin çeşidi olup zeytin sineğine hassas, uzun bir olgunlaşma süresine sahip meyve eti yumuşak ve soğuğa dayanıklı bir çeşittir. İzmir'in Bornova, Kemalpaşa, Manisa'nın Turgutlu ilçeleri yetiştiriciliğinin yaygın bölgeleridir. Eşek Zeytini (Ödemiş), Girit Zeytini, İzmir Sofralık, Nizip Yağlık, Sinop No 5 ve Uslu zeytin çeşitlerine göre α -tokoferol ve oleuropein içeriği nispeten düşük çıksada bu çeşidin 32 çeşidi geride bırakıp siyah olum döneminde yüksek bir gen ekspresyon seviyesi göstermesi aslında bu çeşidin kendine özgü bir savunma özelliğinin olabileceğini göstermiştir.

Özellikle son yıllarda küresel ısınmanın yol açtığı mevsimsel değişiklikleri bitki yaşamı, dolayısıyla diğer canlıların yaşamı için de tehlike oluşturması, yaprağından çekirdeğine kadar tümüyle değerli olan zeytin ağacının stres faktörlerine dayanıklılık mekanizmalarının belirlenmesinde rol alan genlerden olan *OeCHL P* genine yönelik yaptığımız bu çalışmada, stres durumlarında en yüksek gen ekspresyon oranına sahip çeşitler belirlenmiştir. Çalışmamız literatürlerle kıyaslandığında paralellik gösteren çalışmalar olsa da özellikle kimyasal analizlerin ve elde edilen bulguların kullanılan doku, uygulanan yöntem ve cihazlara bağlı olarak değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Bunun yanında zeytin çeşitlerinin yetiştirildiği bölge, kültürel işlemler, iklim faktörleri, hastalık ve zararlılar, olgunluk derecesi vb. gibi pek çok faktörden etkilenmesi ileride yapılacak çalışmalarda daha fazla faktörün dikkate alınarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermiştir.

Çalışma sonrasında öne çıkan çeşitlerin periyodisite durumları incelendiğinde ise en yüksek *OeCHL P* gen ekspresyon oranına sahip Uslu ve Eşek Zeytini (Ödemiş) iyi bakım şartlarında periyodisite eğilimi çok düşük çeşitlerken, Çilli, Girit Zeytini, İzmir Sofralık, Nizip Yağlık ve Sinop No 5 çeşitleri bu çeşitlere göre daha yüksek periyodisite eğilimi göstermektedir. Bu noktada periyodisite ve *OeCHL P* geni arasında bir bağlantının da olabileceğini göstermiştir. Ancak ileride yapılacak yeni çalışmalarla desteklenmelidir.

Çalışmamızda kullanılan Karadeniz Bölgesi'ne özgü çeşitlerde ise şimdiye kadar yeterli çalışma yapılmadığı gibi gereken öneminde verilmemiş olduğu belirlenmiş ve sonuçların değerlendirilmesinde sorun teşkil etmiştir. Ancak öne çıkan çeşitlere baktığımızda ülkemizin her bölgesini temsil edecek çeşitlerin ortaya çıkması, çok büyük bir zeytin genetik kaynak potansiyeline sahip olduğumuzu göstermiştir. Özellikle son yıllarda sağlıklı yaşam ve beslenme gibi konuların öne çıkması, bireylerin alışkanlıklarını bu yönde değiştirmesi zeytin ve zeytinyağının önemini arttırmıştır. Bundan dolayı çalışmamızla öne çıkan bu çeşitlerin üretime

kazandırılması, ıslah çalışmalarına dahil edilmesi hem pazar imkanı sağlama hem de katma değerin yurt içinde kalması ve istihdam gibi ekonomimiz için önemli alanlara katkıda bulunacağı yadsınamaz bir gerçektir.





KAYNAKLAR

- Abidi, S., 2000. Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants, J.Chromatogr A, 881:197-216.
- Aktan, N., ve Kalkan, H., 1999. Sofralık Zeytin Teknolojisi,  İzmir: Ege Üniversitesi. 122.
- Alagna, F., Mariotti, R., Panara, F., Caporali, S., Urbani, S., Veneziani, G., Esposto, S., Taticchi, A., Rosati, A., Rao, R., Perrotta, G., Servili, M. ve Baldoni, L., 2012. Olive phenolic compounds: metabolic and transcriptional profiling during fruit development, BMC Plant Biology 2012, 12:162.
- Alkan, D., Tokatli, F. ve Özen, B., 2011. Phenolic characterization and geographical classification of commercial extra virgin olive oils produced in Turkey, J Am Oil Chem Soc. DOI 10.1007/s11746-011-1917-6.
- Altan, A., 2004. Yemeklik Yağ Teknolojisi Ders Notları, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Adana.
- Amiot, M. J., Fleuriet, A. ve Macheix, J. J. 1989. Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation, Phytochemistry, 28; 67-69.
- Amiot, M.J., Fleuriet, A. ve Macheix., J.J. 1996. Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation, Phytochem. 67-69 Aparicio, R. and Alonso, M.V. 1994, Characterisation of virgin olive oils by SEXIA expert system. Prog. Lipid Res. 28, 29-38.
- Anonim, 2006a. Bademli Fidancılık Tarımsal Kalkınma Kooperatifi, www.bademlikoop.org.tr/zeyiny.html.
- Anonim, 2006b. Modern Zeytincilikte Kültürel İşlemler. www.zae.gov.tr/yetistirme/41.asp.
- Anonim, 2018. SYBR Green RT-PCR Method. <http://sinobiological.com/sybr-green-qpcr-method-cro-service.html>.

- Anonim, 2018. Zeytin Yetiştiriciliği. Yayınevi: Hasad Yayıncılık, 2015, 192.
- Anonim, 2019. Koroneiki. <http://www.olint.com/tr/koroneiki>
- Anonim, 2019. Zeytinin en önemli zararlısı zeytin sineği (*Bactrocera oleae*). http://www.tariszeytinyagi.com/www.tariszeytinyagi.com/assets/pdf/zeytin_sinegi.pdf.
- Arslan, D., 2010. Güney Anadolu’da yetişen bazı yağlık zeytin çeşitlerinin ve yağlarının fiziksel ve biyokimyasal özellikleri üzerine lokasyon ve hasat zamanının etkisi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 258.
- Aşık, H.U. ve Özkan, G., 2011. Physical, Chemical and Antioxidant Properties of Olive Oil Extracted from Memecik Cultivar, Akademik Gıda 9(2) (2011) 13-18.
- Avison, M., 2007. Measuring gene expression, Newyork, NY: Taylor&Francis Group, 2007. İsn: 0415374723.
- Bhattacharya, A., Sood, P. ve Citovsky, V. 2010. The roles of plant phenolics in defence and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection, Mol Plant Pathol, 11, 705-719.
- Bianchi, G., 2003. Lipids and phenols in table olives, Eur. J. Lipid Sci. Technol. 105, 229-242.
- Boskou, D. 2006. Olive oil chemistry and technology. AOCS Press, Champaign, IL, 268 s, USA.
- Boskou, D., 2000. Olive oil. In: Simopoulos, A., Visioli, F., editors. Mediterranean diets. Basel: Karger Press, Wld. Rev. Nutr. Diet, 87: 56–77.
- Boskou, G., Salta, F. N., Chrysostomou, S., Mylona A., Chiou A. ve Andrikopoulos N. K., 2004. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market, Food Chem. 94: 558-564.

- Boskou, G., Salta, F. N., Chrysostomou, S., Mylona, A., Chou, A. ve Kopoulos, N. K., 2004. Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market, *Food Chem.* 94, 558–564
- Bowden, G. H., 1999. Controlled environment model for accumulation of biofilms of oral bacteria, *Methods Enzymol*, 310, 216-224.
- Bruno, A., Bruno L., Chiappetta, A., Giannino, D. ve Bitonti, M. B., 2009. *PoCHL P* expression pattern in *Posidonia oceanica* is related to critical light conditions, *Mar Ecol Prog Ser.*, 415: 61–71.
- Bruno, L, Chiappetta, A., Muzzalupo, I., Gagliardi, C., Iaria, D., Bruno, A., Greco, M., Donato, G., Perri, E. ve Bitonti, M. B. (2009). Role of geranylgeranyl reductase gene in organ development and stress response in olive (*Olea europaea*) plants. *Funct Plant Biol.*, 36:370–38.
- Bustin, S. A. 2002. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems, *Journal of Molecular Endocrinology*, 29, 23–39.
- Bustin, S.A. ve Mueller, R. 2005. Review: Real-time reverse transcription PCR (qrt-pcr) and its potential use in clinical diagnosis, *Clinical Science*, 109, 365-379.
- Cebeci, Z. (2007). Zeytinde olgunluk derecesi, Türkiye Tarımsal Öğrenme Nesneleri
Deposu, http://traglor.cu.edu.tr/objects/ppt/zeytin_olgunluk_indeksi_2007_11_27.ppt.
- Cheung, S. C. M., Szeto, Y. T. ve Benzie, I. F. F., 2007. Antioxidant protection of edible oils, *Plant Foods Hum Nutr.*, 62:39–42.
- Chu, Y., Corey, D. R., 2012. RNA sequencing: platform selection, experimental design, and data interpretation. *Nucleic Acid Ther.*, 22(4): 271- 4.
- Cinquanta, L., Esti, M. ve Di Matteo, M., (2001). Oxidative stability of virgin olive oils, *J Am Oil Chem Soc* 78:1197–1202.

- Collakova, E. ve Dellapenna, D., 2003. Homogentisate phytyltransferase activity is limiting for tocopherol biosynthesis in *Arabidopsis*. Plant physiol., vol. 131.
- Dağdelen, A., Tümen, G., Özcan, M. M. ve Dündar, E. 2012. phenolics profiles of olive fruits (*olea europaea l.*) and oils from Ayvalik, Domat and Gemlik varieties at different ripening stages, Food chemistry, 136 (2013) 41–45.
- Diez, G.F.M. J. ve Adamos, M. R. 1997. Table olives. Chapman & Hall, pp. 67-109, London, UK.
- Esti, M., Cinquanta, L. ve La Notte, E., 1998. Phenolic Compounds in Different Olive Varieties, J. Agric. Food Chem. 1998, 46, 32–35.
- FAO, 2018. World Olive Production. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
- Galla, G., Martinelli, F., Sebastiani L., Alagna F., Baldoni L., Barcaccia G., Tonutti, P. ve Ramina, A., 2009. Computational annotation of genes differentially expressed during fruit development in olive, Proceedings of the 52nd Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress Padova, Italy – 14/17 September, 2008.
- Garcia, A., Brenes, M., Gaicia, P., Romero, C. ve Garrido, A. 2003. Phenolic Content of Commercial Olive Oils, Eur. Food Res. Technol. 216:520-525.
- Garcia, A., Brenes, M., Martinez, F., Alba, J., Garcia, P. ve Garrido, A. 2001. Highperformance liquid chromatography evaluation of phenols in virgin olive oil during extraction at laboratory and industrial scale, Journal of the American Oil Chemists' Society, 78; 625-629.
- Giannino, D., Condello, E., Bruno, L. , Testone, G., Tartarini, A., Cozza, R., Innocenti, A. M., Bitonti, M. B. ve Mariotti, D., 2004. The gene geranylgeranyl reductase of peach (*Prunus persica [L.] Batsch*) is regulated during leaf development and responds differentially to distinct stress factors, Journal of Experimental Botany, Vol. 55, No. 405, pp. 2063–2073.

- Gimeno, E., Castellote, A.I., Lamuela-Raventós, R.M., De La, Torre, M.C. ve Lo'pez-Sabater, M.C., 2002. The Effects of Harvest and Extraction Methods on the Antioxidant Content (Phenolics, α -Tocopherol, and β -Carotene) in Virgin Olive Oil, *Food Chemistry*, 78, 207–211.
- Gutfinger, T, 1981. Polyphenols in Olive Oils, *JAOCS*, 966-968.
- Gutiérrez, F., Villafranca, M. J. ve Castellano, J. M., 2002. Changes in the Main Components and Quality Indices of Virgin Olive Oil During Oxidation, *JAOCS*, 79, 669–676.
- Güler, Z., Gürsoy Balci, A. C., Üstünel, M.A. ve Taş E., 2006. Hatay Bölgesinde Üretilen Natürel Zeytinyağlarının Kalite Kriterleri, *Akademik Gıda. Sayı 24*: 18–21.
- Harborne, J. B. ve Dey, P. M. 1989. *Methods in Plant Biochemistry*, Academic Press, London.
- Hernández-Salas, J. M., Villa-Ramírez, M. S., Veloz-Rendón, J. S., Rivera-Hernández, K.N., González-César, R.A., Plascencia-Espinosa, M. A., Trejo-Estrada, S. R., 2009. Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse, *Bioresour Technol.*, 100(3):1238-45.
- İlyasoğlu, H. ve Özçelik, B., 2010. Memecik zeytinyağlarının biyokimyasal karakterizasyonu, *GIDA*, 36 (1), 33-41.
- Jemai, H., Bouaziz, M. ve Sayadi, S., 2009. Phenolic Composition, Sugar Contents and Antioxidant Activity of Tunisian Sweet Olive Cultivar with Regard to Fruit Ripening, *J. Agric. Food Chem.*, 57, 2961–2968.
- Jiang, L., Yamaguchi, T., Takamura H. ve Matoba T., 2005. Characteristics of Shodo Island Olive Oils in Japan: Fatty Acid Composition and Antioxidative Compounds, *Food Sci. Technol. Res.*, 11(3), 254-260.

- Kadalkal, E., 2009. Gemlik yöntemi ile işlenmiş gemlik tipi sofralık zeytinlerin antioksidan özellikleri ve fenolik profilleri. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 81.
- Kahkönen, M. P., Hopia A. I. ve Vuorela H. J. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds, J Agric Food Chem, 47, 3954-62.
- Kaleci, N., 2010. Konvansiyonel ve Organik Olarak Yetiştirilen Ayvalık Zeytin Çeşidinin Bazı Meyve Özellikleri, Yağ Asitleri ve Tokoferol Seviyelerinin Belirlenmesi, Zeytin Bilimi 1 (1) 2010, 79-84.
- Kelebek, H., Kesen, S. ve Sabbağ Ç., 2012. Selli S., Gemlik zeytin çeşidinden elde edilen natürel zeytinyağında fenol bileşiklerinin ve antioksidan kapasitenin belirlenmesi, GIDA (2012), 37 (3): 133-140.
- Kıralan, M., Bayrak, A. ve Özkaya, M. T., 2008. Oxidation Stability of Virgin Olive Oils from Some Important Cultivars in East Mediterranean Area in Turkey, J Am Oil Chem Soc (2009), 86:247–252.
- Kıralan, M. ve Bayrak, A., 2005. Bitkisel Yağların Stabilizasyonunda Doğal Antioksidanların Rolü, Gıda, 30(4); 247–254.
- Kiritsakis, A. K., 1998. Olive Oil From Tree to the Table, 2nd Edition, Food&Nutrition Press Inc.; 347.
- Kiritsakis, A. K., Markakis, P., 1987. Olive Oil: A Review. Department of Food Science and Human Nutrition. Michigan State University, East Lansing. Michigan, 48824.
- Koca, N. ve Karadeniz, F., 2005. Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler, Gıda, 30(4); 229-236.
- Lavee, 1996. Biology and physiology of the olive. In: World olive Encyclopaedia, International Olive Oil Council, Madrid, p.59-106.
- Lavee, S., 2007. Biennial Bearing in olive (*Olea Europaea*), Annales.Ser.hist.nat. 17.2007.1.

- Lee, Y. P., Yu, G. H., Seo, Y. S., Han, S.E., Choi, Y. O., Kim, D., Mok, I. G., Kim, W. T. ve Sung, S. K., 2007. Microarray analysis of apple gene expression engaged in early fruit development, *Plant Cell Rep.*, 26:917–926.
- Liu, H., Liu, J., Zhao, M. M. ve Chen, J. S., 2015. Overexpression of *ShCHL P* in tomato improves seedling growth and increases tolerance to salt, osmotic, and oxidative stresses, *Plant Growth Regulation*, Volume 77, Issue 2, pp 211–221
- Lombardo, N., Alessandrino, M., Godino, G. ve Madeo, A. (2006). Comparative observations regarding the floral biology of 150 Italian olive (*Olea europaea* L.) cultivars, *Adv Horti Sci.*, 20:247–255.
- Manach, C., Scalbert, A. ve Morand, C., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability, *Am J Clin Nutr*, 79, 727-747.
- Marsilio, V., Campestre, C. ve Lanza, B., 2001. Phenolic Compounds change during California Style ripe olive processing, *Food Chemistry*, Vol. 74, pp. 55-60.
- Mc Donald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M. ve Robards, K., 2001. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Olive Extracts, *Food Chemistry*, 73: 73-84.
- Mohanty, S., Grimm, B. ve Tripathy, B. C., 2006. Light and dark modulation of chlorophyll biosynthetic genes in response to temperature, *Planta* (2006), 224: 692–699.
- Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M. ve Miniati, E. 1992. Simple and Hydrolyzable Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. 1. Their Extraction, Separation, and Quantitative and Semiquantitative Evaluation by HPLC, *J. Agric. Food Chem.*, 40(9):1571 – 1576.
- Morello, J. R., Motilva, M. J., Tovar, M. J. ve Romero, M. P., 2004. Changes in commercial virgin olive oil (*cv Arbequina*) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction, *Food Chemistry*, 85, 357–364.

- Morello, J. R., Vuorela, S., Romero, M. P., Motilva, M., J., Heinonen, M., 2004. Antioxidant Activity of Olive Pulp and Olive Oil Phenolic Compounds of the Arbequina Cultivar, *J. Agric. Food Chem.*, 53, 2002-2008.
- Mousa, M. Y., Gerosopoulos, D., Metzidakis, I. ve Kiritsakis, A. 1996. Effect of altitude on fruit and quality characteristics of “Mastoides” olives, *Journal of Science of Food and Agriculture*, 71, 345-350.
- Munnè-Bosch, S. ve Alegre, L., 2002. The function of tocopherols and tocotrienols in plants, *Crit Rev Plant Sci*, 21:31–57.
- Mutz, K. O., Heilkenbrinker, A., Lönne, M., Walter, J. G., Stahl, F., 2013. Transcriptome analysis using next-generation sequencing. *Curr Opin Biotechnol.*, 24(1):22-30.
- Muzzalupo, I., Stefanizzi F., Perri, E. ve Chiappetta, A. A., 2011. Transcript Levels of *CHL P* Gene, Antioxidants and Chlorophylls Contents in Olive (*Olea europaea* L.) Pericarps: A Comparative Study on Eleven Olive Cultivars Harvested in Two Ripening Stages, *Plant Foods Hum Nutr.*, 66:1-10.
- Ninfali, P., Aluigi, G., Bacchiocca, M. ve Magnani, M., 2001. Antioxidant Capacity of Extra-Virgin Olive Oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 78, 243-247.
- Nolan, T., Hands, R. E. ve Bustin, S. E., 2006. Quantification of mRNA using real-time RT-PCR, *Nature Protocols*, 1(3):1559-1582.
- Nonis, A., Vezzaro, A. ve Ruperti, B., 2012. Evaluation of RNA Extraction Methods and Identification of Putative Reference Genes for Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction Expression Studies on Olive (*Olea europaea* L.) Fruits, *J. Agric. Food Chem.*, 60, 6855–6865
- Ocakoglu, D., Tokatli, F., Özen, B., Korel, F. 2009. Distribution of simple phenols, phenolic acids and flavonoids in Turkish monovarietal extra virgin olive oils for two harvest years, *Food Chemistry*, 113, 401-410.

- Omar, S. H., 2008. Olive: Native of Mediterranean region and health benefits, *Phcog Rev.*, 2:135–142.
- Omar, S. H., 2010. Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects, *Sci Pharm*, 78, 133-154.
- Öğütçü, M., Mendeş, M. ve Yilmaz, E., 2008. Sensorial and Physico-Chemical Characterization of Virgin Olive Oils Produced in Canakkale, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 85, 441–456.
- Park, M. R., Cho, E. A., Rehman S. ve Yun, S. J., 2010. Expression of a sesame geranylgeranyl reductase cDNA is induced by light but repressed by abscisic acid and ethylene, *Pak. J. Bot.*, 42(3): 1815-1825.
- Pfaffl, M.W., 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR, *Nucleic Acids Research*, 29 - E45.
- Pirgün Y. ve Keçeli T., 2008. Hatay’da yetiştirilen Gemlik ve Halhalı zeytinlerinin antioksidan etkilerinin belirlenmesi, *Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yıl:2008 Cilt:18-1.
- Quail, M. A, Smith, M., Coupland, P., Otto, T. D., Harris, S. R., Connor, T. R., Bertoni, A., Swerdlow, H. P., Gu, Y., 2012. A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers. *BMC Genomics.*, Jul 24;13:341.
- Romero, C. N., Brenes, M., Garcia A. P. ve Garrido A., 2002. Hydroxytyrosol 4- β -D-Glucoside, an Important Phenolic Compound in Olive Fruits and Derived Products, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 3835–3839.
- Romero, C., García, P., Brenes, M., García, A. ve Garrido, A. 2002. Phenolic compounds in natural black Spanish olive varieties, *Eur Food Res Technol.*, 215: 489–496.

- Rotondi, A., Bendini, A., Cerratani L., Mari M., Lecker G. ve Toschi, T. G., 2004. Effect of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic proprieties of *Cv Nostrana di Brisighella* extra virgin olive oil, *J Agric Food Chem.*, 52:3649–3654.
- Ruperez, F. J., Martin, D., Herrera, E. ve Barbas, C., 2001. Chromatographic analysis of alpha-tocopherol and related compounds in various matrices, *J Chromatogr.*, A 935:45-69.
- Sakar, E. ve Ünver, H., 2011. Türkiye’de Zeytin Yetiştiriciliğinin Durumu ve Ülkemizde Yapılan Bazı Seleksiyon ve Adaptasyon Çalışmaları, *J.Agric. Fac. HR.U.*, 15(2): 19-25.
- Saldamli, İ. 1998. Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
- Sarıman M., Ekmekci S., S., Abacı N., Çakiris A., Paçal, F., Emrence Z., Üstek D., Öztürk Ş., 2013. Yeni Nesil Dizileme Teknolojisi ile Transkriptom Analizi Transcriptome Analysis Using Next Generation Sequencing. *Dergipark*, 5, 4, 10, 51-59.
- Sarıman, M. 2013. Multiple Myeloma Hastalarının Kemik İliği Myeloma Hücrelerinde Gen İfadesinin Transkriptom Dizileme Yöntemi İle Araştırılması. Yüksek Lisans, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Schaich, K., 2006. Lipid Oxidation in Specialty Oils. *Nutraceutical and Specialty Lipids and Their Co-Products*, CRS Press, Taylor and Francis Group, 24(2006); 401–436.
- Serteser A. ve Gök V. 2003. Doğal antioksidanların biyoyararlılığı. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, I :83-98 TMMOB Gıda Mühendisliği Odası, 2-4 Ekim, Ankara.
- Sevim, D., Köseoglu, O., Altunoğlu, Y., Ataol Ölmez H., Büyükgök, E. B., 2013. Erkence zeytin çeşidinden elde edilen yağların (hurmalaşmış ve hurmalaşmamış) karşılaştırılması, *GIDA*, 38 (3): 159-166.

- Sevim, D., Köseoğlu, O. ve Çetin, Ö., 2016. Bazı önemli zeytin çeşitlerinden elde edilen yağların minör bileşenlerinin ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, *Zeytin Bilimi*, 6 (1), 1-8.
- Skevin, D., Rade, D., Strucell, D., Mokrovack, Z., Nederal, S. ve Bencic D., 2003. The influence of variety and harvest time on the bitterness and phenolic compounds of olive oil, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 105, 536-541.
- Stanton, L. W., 2001. Methods to profile gene expression, *Trends Cardiovascular Medicine*, 2001; 11: 49-54.
- Şeker, M., Gündoğdu, M. A., Gül, M. K. ve Kaleci N., 2013. Doğu Karadeniz Bölgesi yerli zeytin çeşitlerinden elde edilen zeytinyağlarının yağ asitleri ve genel kimyasal bileşiminin belirlenmesi, *Zeytin Bilimi* 4 (1) 2013, 9-20.
- Tanaka, R., Oster, U., Kruse, E., Diger, W. ve Grimm, B., 1999. Reduced Activity of Geranylgeranyl Reductase Leads to Loss of Chlorophyll and Tocopherol and to Partially Geranylgeranylated Chlorophyll in Transgenic Tobacco Plants Expressing Antisense RNA for Geranylgeranyl Reductase *Plant Physiology*, Vol. 120, pp. 695–704.
- Tiryaki, G. Y. ve Karaman, H. T., 2004. Erken Hasadın Zeytinyağı Kalitesi Üzerine Etkileri, 8. Ulusal Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2004, Bursa.
- Tovar, M. J., Romero, M. P., Alegre, S., Girona, J. ve Motilva, M. J. 2002. Composition and organoleptic characteristics of oil from Arbequina olive (*Olea europaea* L.) trees under deficit irrigation, *J Sci Food Agric.*, 82: 1755–1763.
- TUİK, 2018. İllere göre sofralık ve yağlık zeytin üretimi ve ağaç başına düşen verim miktarları. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>.
- Uceda, M. ve Frias, L., 1975. Harvest dates: Evolution of the fruit of content, oil composition and oil quality, In *Proceedings of II Seminario Oleicola International*; International Olive-oil Council: Cordoba, Spain; 1975; pp 125-130.

- Ustek, D., Abacı, N., Sirma, S., Cakiris, A., 2011. Derleme :Yeni Nesil DNA Dizileme. İ.Ü. DETAE Dergisi, (1):11-18.
- Vinha, A. F, Ferreres, F., Silva, B. M., Vanlenta, P., Goncalves, A., Pereira, J. A., Oliveria, M. B., Seabra, R. M. ve Andrade, P. B., 2005. Phenolic profiles of portuguese olive fruits (*olea europaea l.*): influences of cultivar and geographical origin, Food Chemistry, 89 (4): 561-568.
- Vinutha, T., Bansal N., Kumari K., Prashat R. G., Sreevathsa, R., Krishnan, V., Sweta Kumari, Dahuja, A., Lal, S. K., Sachdev, A. ve Praveen S., 2017. Comparative analysis of tocopherol biosynthesis genes and its transcriptional regulation in soybean seeds, J Agric Food Chem., 20;65(50):11054-11064.
- Visioli, F., Poli, A. ve Galli, C. (2002) Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil, Med Res Rev., 22:65–75.
- Wang, P., Li, C., Wang, Y., Huang, R., Sun, C., Xu, Z., Zhu, J., Gao, X., Deng, X. ve Wang, P. 2014. Identification of a Geranylgeranyl reductase gene for chlorophyll synthesis in rice, SpringerPlus, 3:201.
- Wolf, J. B., 2013. Principles of transcriptome analysis and gene expression quantification :an RNA-seq tutorial. Mol Ecol Resour., 13(4):559-72.
- Wong, M. L. ve Medrano J. F., 2005. Review: Real Time PCR for mRNA quantitation. Biotechniques, 39(1), 75-85.
- Yorulmaz, A., 2009. Türk zeytinyağlarının fenolik, sterol ve trigliserit yapılarının belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 148, Ankara.
- Yüzbaşıoğlu, A., 2008. Dejenerasyon sürecindeki kas dokusunda housekeeping genlerin ekspresyon düzeyinin incelenmesi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 1,54, Ankara.

ÖZGEÇMİŞ

İlköğreniminin Mersin Erdemli Sultan Akın İlköğretim okulunda okudu. Liseyi, Erdemli Yabancı Dil Ağırlıklı Program Uygulayan Lise’de bitirdi. 2005-2009 yılları arasında Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri bölümünü okudu. 2011 yılında aynı üniversitede Bahçe Bitkileri Anabilim dalında yüksek lisans öğrenimini bitirdi. 2019 yılında Çukurova Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim dalında doktora öğrenimini tamamladı.

