

T.C.  
MUĞLA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TÜRKİYE’NİN BATI KIYILARINDAN ÖRNEKLENEN YABANI ZEYTİN  
(*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *oleaster*) POPULASYONLARINDAKİ  
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN RAPD (Rastgele Çoğaltılan Polimorfik DNA)  
BELİRTEÇLERİ YARDIMIYLA BELİRLENMESİ VE YAYGIN OLARAK  
KULLANILAN KÜLTÜR ZEYTİNİ (*O. europaea* L. subsp. *europaea* var.  
*sativa*) ÇEŞİTLERİNİN BU BELİRTEÇLERLE GENETİK  
KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DUYGU IŞIK

HAZİRAN 2011  
MUĞLA

T.C.  
MUĞLA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TÜRKİYE’NİN BATI KIYILARINDAN ÖRNEKLENEN YABANI ZEYTİN  
(*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *oleaster*) POPULASYONLARINDAKİ  
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN RAPD (Rastgele Çoğaltılan Polimorfik DNA)  
BELİRTEÇLERİ YARDIMIYLA BELİRLENMESİ VE YAYGIN OLARAK  
KULLANILAN KÜLTÜR ZEYTİNİ (*O. europaea* L. subsp. *europaea* var.  
*sativa*) ÇEŞİTLERİNİN BU BELİRTEÇLERLE GENETİK  
KARAKTERİZASYONU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Duygu IŞIK

MUĞLA 2011

T.C.

MUĞLA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Yrd. Doç. Dr. Belgin GÖÇMEN TAŞKIN** danışmanlığında **Duygu IŞIK** tarafından hazırlanan “Türkiye’nin Batı Kıyılarından Örneklenen Yabani Zeytin (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *oleaster*) Populasyonlarındaki Genetik Çeşitliliğin RAPD (Rastgele Çoğaltılan Polimorfik DNA) Belirteçleri Yardımıyla Belirlenmesi ve Yaygın Olarak Kullanılan Kültür Zeytini (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *sativa*) Çeşitlerinin Bu Belirteçlerle Genetik Karakterizasyonu” başlıklı tez, 14/06/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Betül BÜRÜN

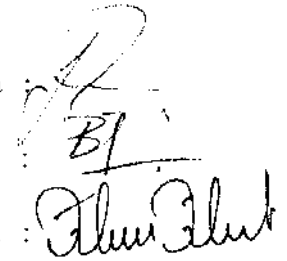
İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Belgin GÖÇMEN TAŞKIN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Özlem ÖZBEK

İmza :



## ÖNSÖZ

Tezimin her aşamasında bilgi ve önerileriyle bana yardımcı olan danışmanım Yrd. Doç. Dr. Belgin Göçmen Taşkına'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Deneylem sırasından yardımlarını gördüğüm Araş. Gör. Ersin Doğaç'a ve birlikte çalışmaktan çok zevk aldığım sevgili arkadaşlarım Sibel Başkurt, Canan Öntaş, Münevver Oral ve Eaylettin Öztürk çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında benden desteklerini esirgemeyen, ilgi ve sevgilerini her zaman hissettiğim canım aileme hep yanımda oldukları ve bana güvendikleri için sonsuz teşekkürler. İyi ki varsınız ve benim ailemsiniz.

Duygu IŞIK  
MUĞLA 2011

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	II
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	III
<b>ÖZET</b> .....	V
<b>ABSTRACT</b> .....	VIII
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	XI
<b>TABLolar/ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	XII
<b>SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	XIII
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1 Zeytin ( <i>Olea europae</i> L.).....	1
1.2 Zeytinciliğin Türkiye ve Dünya Ekonomisindeki Yeri.....	5
1.3 Zeytin Çeşitleri.....	6
1.4 Zeytinde Genetik Erozyon ve Yabani Gen Kaynaklarının Önemi.....	8
1.5 Genetik Belirteçler.....	9
1.5.1 Morfolojik belirteçler.....	9
1.5.2 Moleküler belirteçler.....	10
1.5.2.1 PCR.....	11
1.5.2.2 RAPD belirteçleri.....	17
<b>2. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	21
2.1 Çalışılan Populasyonlar.....	21
2.2 Örneklerin Toplanması.....	21
2.3 Genomik DNA İzolasyonu.....	24
2.4 DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	25
2.5 RAPD Primerleri.....	25
2.6 PCR Koşulları.....	26
2.7 Populasyonların RAPD Analizinde İzlenen Strateji.....	26
2.8 Verilerin Analizi.....	26
2.8.1 Allel sayısı.....	27
2.8.2 Etkili allel sayısı.....	27
2.8.3 Polimorfik lokus oranı.....	28
2.8.4 G-istatistiği.....	28
2.8.5 Genetik uzaklık.....	29

<b>3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....</b>	<b>31</b>
3.1 30 RAPD Primerlerinin Alt Populasyonda Taranmasına İlişkin Bulgular.....	31
3.2 20 Polimorfik Primere Göre Populasyonların Genetik Yapıları.....	34
3.2.1 Populasyon içi populasyonlar arası genetik çeşitliliğe ilişkin ... bulgular.....	34
3.2.1.1 <i>polimorfik lokus oranı</i> .....	34
3.2.1.2 <i>allel sayısı</i> .....	34
3.2.1.3 <i>Nei' nin genetik çeşitliliği (heterozigotluk)</i> .....	35
3.2.1.4 <i>G-istatistiği</i> .....	36
3.2.1.5 <i>gen akış düzeyi ( <math>N_m</math> )</i> .....	37
3.2.1.6 <i>populasyonlar arasındaki genetik uzaklık ( <math>D_N</math> )</i> .....	37
3.3 Yirmi Polimorfik Primere Göre Çeşitlerin Genetik Yapıları.....	38
3.3.1 Çeşitler arası genetik çeşitliliğe ilişkin bulgular.....	40
3.4 Yirmi Polimorfik Primere Göre Çalışılan Yabani Zeytin Populasyonları ve Kültür Zeytini Çeşitlerinin Birlikte Değerlendirilmesi Sonucu Elde Edilen Bulgular.....	42
<b>4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....</b>	<b>47</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>53</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>62</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>73</b>

**TÜRKİYE' NİN BATI KIYILARINDAN ÖRNEKLENEN YABANI ZEYTİN  
(*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *oleaster*) POPULASYONLARINDAKİ  
GENETİK ÇEŞİTLİLİĞİN RAPD (RASTGELE ÇOĞALTILAN  
POLİMORFİK DNA) BELİRTEÇLERİ YARDIMIYLA BELİRLENMESİ VE  
YAYGIN OLARAK KULLANILAN KÜLTÜR ZEYTİNİ (*O.europaea* L. subsp.  
*europaea* var. *sativa*) ÇEŞİTLERİNİN BU BELİRTEÇLERLE GENETİK  
KARAKTERİZASYONU**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Duygu IŞIK**

**MUĞLA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**2011**

**ÖZET**

Zeytinin (*Olea europaea* L.) çok uzun bir geçmişe dayanan tarımında çoğunlukla lokal olarak adapte olmuş kültür çeşitlerinin seçilmesi, tür için ciddi bir genetik erozyonla sonuçlanmış ve ayrıca kültür formları (*O. europaea* L. subsp. *europaea* var. *sativa*) doğal olarak bulunan yabani formlarını (*O. europaea* L. subsp. *europaea* var. *oleaster*) baskıladığından, günümüzde pek çok bölgede yabani formlar yok olmuştur. Bununla beraber, zeytinin çok sayıda kültür çeşidinin olması ve daha henüz tümünün DNA esaslı, güvenilir tekniklerle genetik karakterizasyonlarının tamamlanmamış olması nedeniyle, yabani formların çeşitliliğine ilişkin çalışmalar genel olarak ikinci planda kalmıştır. Ancak, verim ve kalitenin yanı sıra biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı dayanıklılık gibi pek çok değerli genetik bilgiyi gen havuzlarında bulunduran yabani formların doğal populasyonlarındaki genetik çeşitliliğin saptanması ve korunması büyük önem taşımaktadır.

Bu çalışma ile, ülkemiz zeytin alanlarının %55.11 gibi büyük bir oranının yabani zeytin populasyonlarındaki genetik çeşitlilik bakımından ilk kez, ve RAPD (Rastgele Çoğaltılan Polimorfik DNA) belirteçleri kullanılmak suretiyle taranması ve bu alanlarda yaygın olarak kullanılan çeşitlerin, 8 gibi önemli bir çoğunluğunun aynı belirteçlerle karakterize edilmesi, böylelikle yabanilerin ve kültür çeşitlerinin kendi

aralarındaki ve birbirleriyle olan genetik uzaklıklarının ve gen akış düzeylerinin ilk kez saptanması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda, Dikili, Karaburun, Bergama, Edremit, Burhaniye, Ayvalık ve Muğla'daki doğal alanlardan ve üretim bahçelerinden yabancı populasyonlar örneklenmiş, T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı İzmir-Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nden ise yaygın olarak kullanılan 8 kültür çeşidi (Domat, Memecik, Uslu, Gemlik, Çekişte, İzmir Sofralık, Girit ve Ödemiş Eşek Zeytini) temin edilmiştir. Öncelikle, çalışma materyali arasından rastgele seçilerek oluşturulan 5 bireylik bir alt populasyonda 30 RAPD primeri taranmış ve tekrarlanabilirlik, bant netliği ve polimorfik bant sayıları bakımından en iyi sonuç alınan 20 primer seçilerek tüm çalışma materyaline uygulanmıştır. Taranan 30 primerin sadece 1 tanesinin alt populasyon bireylerinin hiç birinde çalışmadığı, geriye kalan 29 primerin ise en az 2 polimorfik bant ürettiği görülmüştür. Elde edilen veriler POPGENE Versiyon 1.31 bilgisayar programı ile analiz edilmiştir.

Yirmi primer ile yabancı populasyonlarda 441 (% 96,50)'i polimorfik olan toplam 457 lokus saptanmıştır. Yabancı populasyonlardaki toplam genetik çeşitlilik ( $H_T$ )  $0,20 \pm 0,03$  olarak bulunmuş, bunun  $0,12 \pm 0,01$  (% 60)'sini populasyon içi genetik çeşitlilik ( $H_S$ ) ve  $0,08$  (% 40)'ini ise populasyonlar arası genetik çeşitlilik ( $D_{ST}$ ) oluşturmuştur. En fazla genetik çeşitlilik Pop-5 (Burhaniye Populasyonu)'de saptanırken, en düşük genetik çeşitlilik Pop-7 (Muğla Populasyonu)'de saptanmıştır. Çalışmada örneklenen yabancı populasyonlar için hesaplanan gen akış düzeyi değeri ( $Nm$ )  $0,76$ 'dır. En düşük genetik uzaklık,  $D_N=0,0675$  değeri ile, Pop 3 (Bergama) ve Pop 4 (Edremit) arasında bulunurken, en yüksek genetik uzaklık değeri ise,  $D_N=0,1430$  değeri ile, Pop 1 (Dikili) ve Pop 2 (Karaburun) arasında saptanmıştır. Sekiz kültür çeşidine ait bireylerin 20 polimorfik primerle analizi sonucu yabancı zeytin populasyonlarının analizinde saptanmış olan toplam 457 lokusun sadece 186 (% 40,70)'sı saptanmış ve bunlardan 137 (% 73,66)'sinin polimorfik olduğu görülmüştür. Bu da doğal yabancı populasyonlara oranla kültür çeşitlerindeki genetik erozyonun boyutlarını ortaya koymaktadır.

Ülkemizin sofralık zeytin ve zeytinyağı üretiminde dünya pazarında sahip olduğu iddialı konumunu koruması ve daha da iyileştirmesi için en etkili ve temel yaklaşımların başında, ekonomik değeri çok yüksek olan bu bitki için iyi planlanmış ıslah programlarının oluşturularak gerçekleştirilmesi ve sonuçlarının geniş üretim

alanlarında uygulamaya konması gelmektedir. Etkili ve amaca uygun ıslah programlarının geliştirilip uygulanmasında ise en önemli unsur hem kültür hem de yabani formlardan oluşan ve genetik olarak iyi karakterize edilmiş geniş bir germplasma sahip olmaktır. Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçların bu bağlamda yakın gelecekte çok etkin bir şekilde kullanılabilceği düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler** : Yabani zeytin, *Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *oleaster*, kültür zeytini, *O. europaea* L. subsp. *europaea* var. *sativa*, genetik çeşitlilik, RAPD.

**Sayfa Adedi** : XV + 73

**Tez Yönetici** : Yrd. Doç. Dr. Belgin GÖÇMEN TAŞKIN

**DETERMINATION OF GENETIC VARIATION IN WILD OLIVE (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *oleaster*) POPULATIONS AND GENETIC CHARACTERIZATION OF COMMONLY USED CULTIVATED OLIVES (*O. europaea* L. subsp. *europaea* var. *sativa*) IN WESTERN COASTS OF TURKEY BY RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) MARKERS**

**(M. Sc. Thesis)**

**Duygu IŞIK**

**MUGLA UNIVERSITY  
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

**2011**

**ABSTRACT**

Intensive selection of locally adapted varieties in the long historical past of the olive tree (*Olea europaea* L.) resulted in serious genetic erosion in the species and also, because the cultivated forms (*O. europaea* L. subsp. *europaea* var. *sativa*) have suppressed the naturally found wild forms (*O. europaea* L. subsp. *europaea* var. *oleaster*), they are absent from many regions, at present time. In addition, the presence of high number of cultivated varieties of olive and the continuation of their genetic characterization with reliable DNA techniques resulted in the remaining of the studies on the genetic variation of wild forms at the second order of importance. However, the determination and conservation of genetic variation in natural populations of wild olives which include much valuable genetic information like resistance to biotic and abiotic stress factors besides the yield and quality traits in their gene pools are very important.

The aims of this study are, the screening of 55.11% of the olive areas of our country in terms of the genetic variation in wild olive populations by RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) markers and the genetic characterization of 8 cultivated olive varieties which are commonly used in these olive production areas with the same markers and so the determination of genetic distances and gene flow

levels among and between Turkish wild and cultivated forms, first time in the literature. For this purpose, sampling was performed from the natural areas and olive gardens in natural distribution areas of the olive including the provinces of Dikili, Karaburun, Bergama, Edremit, Burhaniye, Ayvalık and Muğla. Furthermore, 8 varieties (Domat, Memecik, Uslu, Gemlik, Çekişte, İzmir Sofralık, Girit and Ödemiş Eşek Zeytini) are obtained from T.R. Ministry Of Agriculture And Rural Affairs Izmir-Bornova Research Institute For Olive Production. Primarily 30 RAPD primers in a subpopulation of 5 individuals that are randomly selected from working materials are screened and 20 of them were selected and applied to whole material in accordance with their repeatability, band clarity and polymorphic band numbers. Only 1 of the 30 primers was found to be not functioning on any of the subpopulation members while remaining 29 primers were observed to be producing at least 2 polymorphic bands. Acquired data was analysed with POPGENE, version 1.31 computer software.

In wild populations 457 loci were detected with 20 primers and 441 (96.50%) of them were detected as polymorphic. Total genetic variation ( $H_T$ ) in wild populations was found as  $0.20 \pm 0.03$ .  $0.12 \pm 0.01$  (60%) of this variation was due to within population genetic variation ( $H_S$ ) while the remaining 0.08 (40%) was due to among population genetic variation ( $D_{ST}$ ). The highest level of genetic variation was detected in Pop-5 (Burhaniye Population) while the lowest level of genetic variation was found to exist in Pop-7 (Muğla Population). Gene flow level ( $Nm$ ) for the wild populations sampled in the study was calculated as 0.76. The lowest genetic distance  $D_N=0,0675$  was detected between Pop 3 (Bergama) and Pop 4 (Edremit ) while the highest genetic distance  $D_N=0,1430$  was found between Pop 1 (Dikili) and Pop 2 ( Karaburun). Only 186 (40.70%) of the entire 457 loci detected in wild olive populations were also detected in eight varieties with 20 polymorphic primers and 137 (73.66%) of these were observed to be polymorphic. This finding indicates the level of genetic erosion in cultivated olives compared to natural wild olive populations.

For the preservation and increasing of the pretentious position of our country in the world market for table olive and olive oil production, the most effective and basic approach is the development and application of well designed breeding programs and the distribution of the results of these programs to wide production areas. For this purpose the most important thing is having a wide germplasm composed of genetically well characterized wild as well as cultivated forms. It is thought that the

results that were obtained from this thesis could effectively be used in this respect in a near future.

**Keywords** : Wild olive, *Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *oleaster*  
cultivated olive, *O. europaea* L. subsp. *europaea* var. *sativa*, genetic  
variation, RAPD.

**Page number** : XV + 73

**Adviser** : Yrd. Doc. Dr. Belgin GÖÇMEN TAŞKIN

## **SEKİLLER DİZİNİ**

<b><u>Sekil No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Şekil 1.</b> Zeytin familyasının ( <i>Oleaceae</i> ) genel botanik sınıflandırılması.....	1
<b>Şekil 2.</b> Tarihsel bir çok kayıt ve literatüre göre zeytin ağacının anavatanı..	3
<b>Şekil 3.</b> Türkiye'nin zeytin üretim alanlarını gösteren harita.....	6
<b>Şekil 4.</b> Morfolojik ve genetik belirteçlere dahil olan farklı tipteki diğer alt grup belirleyiciler ve bunların tarihsel olarak kullanılmaya başlandıkları yıllar.....	11
<b>Şekil 5.</b> PCR yöntemindeki aşamaların şematik gösterimi.....	12
<b>Şekil 6.</b> RAPD tekniğinin şematik gösterimi.....	18
<b>Şekil 7.</b> Örneklerin toplandığı 7 lokasyonu gösteren harita.....	21
<b>Şekil 8.</b> OPC-09 primerinin 5 bireylik alt popülasyonda oluşturduğu bant desenleri.....	35
<b>Şekil 9.</b> Popülasyon 4' ün 18 bireyinde OPA-01 primeri ile saptanan RAPD bant desenleri.....	39
<b>Şekil 10.</b> Çalışılan yabancı zeytin popülasyonları arasında saptanmış olan genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri ile UPGMA kullanılarak oluşturulan dendrogram.....	38
<b>Şekil 11.</b> Çalışılan yabancı zeytin popülasyonları arasında saptanmış olan genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri ile UPGMA kullanılarak oluşturulan dendrogram.....	42
<b>Şekil 12.</b> Çalışılan yabancı zeytin popülasyonları ve kültür ve kültür zeytini çeşitleri arasında saptanmış olan genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri ile UPGMA kullanılarak oluşturulan dendrogram.....	46

## **TABLolar/ ÇİZELGELER DİZİNİ**

<b><u>Tablo No</u></b>	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Tablo 1.</b> Beş bireylik alt populusyonda taranan primerler.....	32
<b>Tablo 2.</b> Primerler tarafından üretilen toplam bant ve toplam polimorfik bant sayıları.....	33
<b>Tablo 3.</b> Çalışılan yabani zeytin populusyonlarındaki populusyon içi ve populusyonlar arası çeşitliliğe ilişkin genetik parametreler.....	35
<b>Tablo 4.</b> Çalışılan yabani zeytin populusyonları için tüm RAPD lokuslarına ait ortalama örnek sayısı, gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ ), ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ ), Nei' nin genetik çeşitliliği (h).....	36
<b>Tablo 5.</b> Çalışılan yabani zeytin populusyonları için hesaplanan gen çeşitliliği, genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri.....	36
<b>Tablo 6:</b> Çalışılan yabani zeytin populusyonları arasındaki genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri.....	37
<b>Tablo 7:</b> Çeşitlerin 20 polimorfik RAPD primeri ile analizi sonucunda her bir primer için saptanan toplam lokus ve polimorfik lokus sayıları.....	39
<b>Tablo 8:</b> Çalışılan kültür zeytini çeşitleri için tüm RAPD lokuslarına ait gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ ), ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ ), Nei' nin genetik çeşitliliği.....	40
<b>Tablo 9:</b> Çalışılan kültür zeytini çeşitleri için hesaplanan gen çeşitliliği, genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri.....	40
<b>Tablo 10:</b> Çalışılan kültür zeytini çeşitleri arasındaki genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri.....	41
<b>Tablo 11:</b> Çalışılan yabani zeytin populusyonları ve kültür zeytini çeşitleri için tüm RAPD lokuslarına ait gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ ), ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ ) ve Nei' nin genetik çeşitliliği.....	43

<b>Tablo 12:</b> Çalışılan yabani zeytin populasyonları ve kültür zeytini çeşitleri için hesaplanan gen çeşitliliği, genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri.....	43
<b>Tablo 13:</b> Çalışılan yabani zeytin populasyonları arasındaki genetik uzaklık.....	45

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

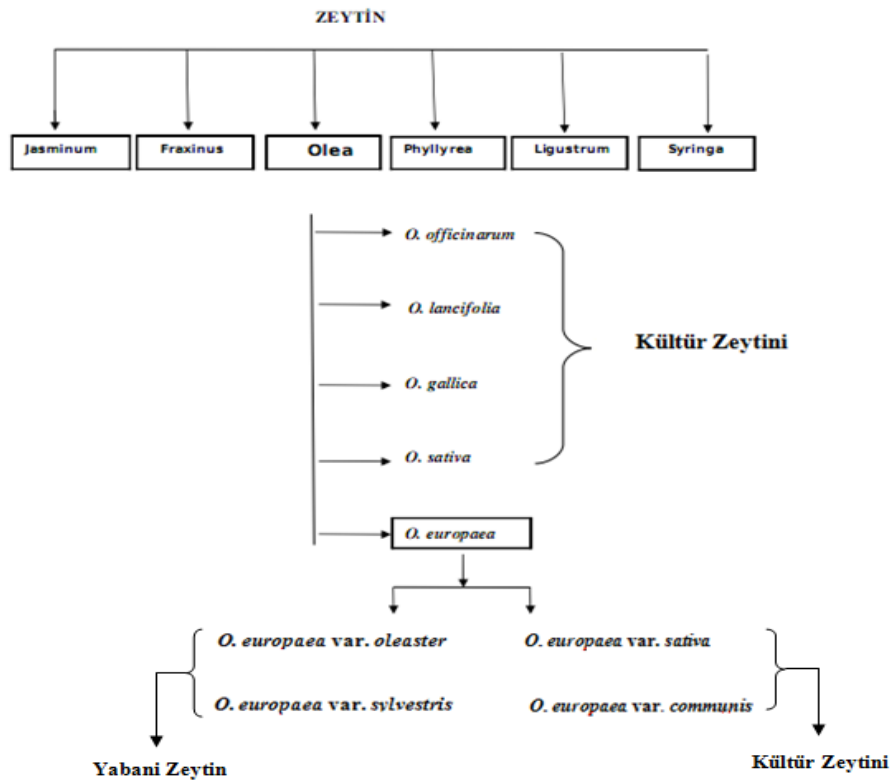
A	Adenin
bp	Baz çifti
$\beta$	Beta
BSA	Bovine serum albumin
CTAB	Cetyl trimethyl ammonium bromide
dk	Dakika
dNTP	Deoksiribonüldeozit trifosfat
EDTA	Ethylene di-amin tetra acetic acid
EtOH	Etil alkol
G	Guanin
g	Gram
pH	Hidrojen konsantrasyonunun kologaritması
HCl	Hidroklorik asit
kb	Kilo baz
Mg <sup>+2</sup>	Magnezyum
MgCl <sub>2</sub>	Magnezyum klorür
$\mu$ l	Mikrolitre
$\mu$ M	Mikromolar
ml	Mililitre
mg	Miligram
M	Molar
ng	Nanogram
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Rastgele Çoğaltılan Polimorfik DNA
RNase	Ribonükleaz
rpm	Rotation per minute ( dakikadaki devir)
°C	Santigrat selsiyus
cm	Santimetre
C	Sitozin
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
NaCl	Sodyum Klorür
<i>Taq</i>	<i>Thermus aquaticus</i>

T	Timin
TE	Tris-EDTA
QTL	Quantitative trait locus (= Kantitatif karakter lokusları)
Vd	Ve diğerleri
%	Yüzde
V	Volt

# 1. GİRİŞ

## 1.1 Zeytin (*Olea europae* L.)

Zeytin, 20-29 cinse sahip *Oleaceae* familyasından bir bitkidir (Flahault, 1986; Morettini, 1972). Çeşitli önemli süs bitkileri bu familyanın 4 cinsi olan *Ligustrum*, *Syringa*, *Jasmin* ve *Fraxinus*'a aittir. Diğer taraftan, familyanın diğer 3 cinsi olan *Phillyrea*, *Forsythia* ve *Osmanthus*'dan ise sadece birkaç tür kültüre alınmıştır. Familyanın *Olea* cinsi, hepsi nispeten güç yetiştirme şartlarına sahip alanlardan çıkan çeşitli tür ve alt türleri içermektedir (Zohary, 1973). Bunların çoğu çalı ve ağaç formundadır. Yenilebilir meyvesi olan tek tür, kültür zeytininin de dahil olduğu *Olea europaea*'dır (Şekil 1).



Şekil 1. Zeytin familyasının (*Oleaceae*) genel botanik sınıflandırılması (Traversera de Cravia, 1997)

Farklı sistemler kullanılması nedeni ile *Olea europaea*'nın sınıflandırılması karmaşıktır (Morettini, 1972; Mazzolani, 1977). Bu sistemlerden birine göre *Olea europaea*, *O. europaea* var. *sylvestris* ve *O. europaea* var. *sativa* olmak üzere iki ana

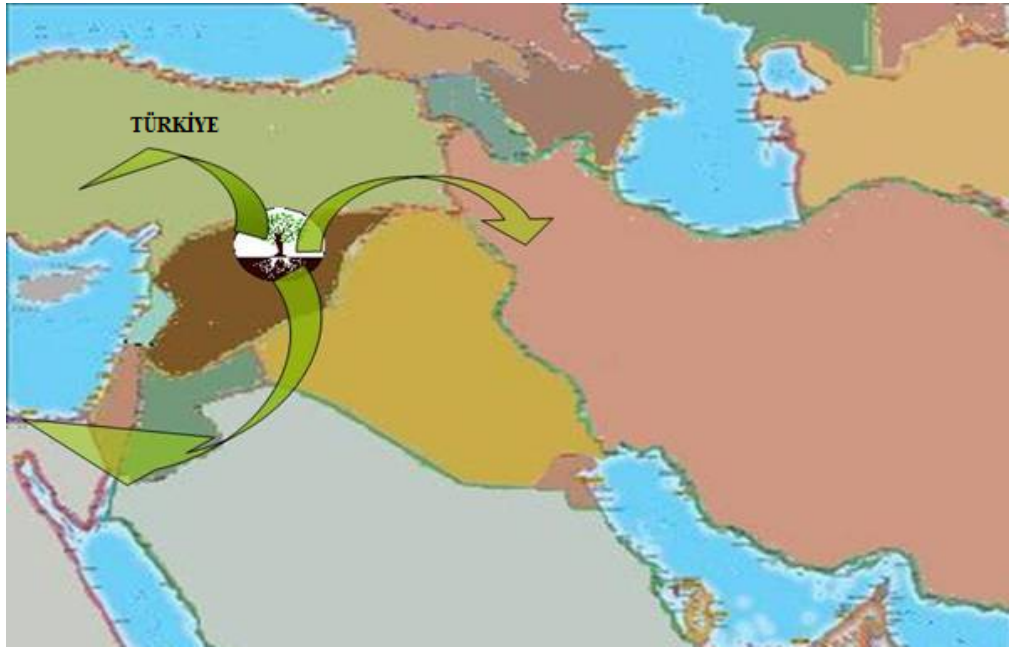
gruba bölünmüştür. Bunların ilki yabani zeytinler olarak tanımlanan bütün tipleri içermekte, ikincisi ise tüm kültür zeytinleri için kullanılmaktadır. Bir diğer sistemde, kültür zeytinleri *O. europaea* var. *communis* ve yabani zeytinler *O. europaea* var. *oleaster* olarak belirtilmektedir. Son yıllarda literatürdeki en yaygın kullanım biçimi, kültür formları için *O. europaea* subsp. *europaea* var. *sativa* ve yabani formları için ise *O. europaea* subsp. *europaea* var. *oleaster* şeklindedir (Travessera de Cravia, 1997).

“Olevaster” kültür çeşitlerinin tohumlarının doğal yabani vejetasyon içerisinde yayılmasıyla oluşan çeşitleri ifade etmede yaygın olarak kullanılan bir terimdir (Turrill, 1951). Zeytinin “feral formları” olarak ifade edilenleri ise, çeşitlerin kültivasyondan kaçmaları ve aynı zamanda kültür çeşitleri ile yabanileri arasındaki melezlenmeler sonucunda oluşan formlardır. Feral formları yabanilerin fenotipinde olmalarına karşın, moleküler olarak kültür formlarına yakınlıklarıyla karakterize edilmektedirler (Angiolillo vd., 1999; Besnard ve Berville, 2000).

Kültür zeytininin Oleaster’den oluştuğunun bilinmesine karşın, bunun ilk olarak nerede ve nasıl gerçekleştiğine ve dağılım sürecine ilişkin kesin bir doküman bulunmamaktadır (Breton vd., 2008). Bununla ilgili iki ayrı hipotez vardır: Bunlardan ilki, M.Ö. 5500-5700 yılları arasında yabani zeytinin Akdeniz Havzası’nın doğu kısmında özellikle de ülkemizin Mardin-Kahramanmaraş-Hatay üçgenini de içine alan Yukarı Mezopotamya’da kültüre alındığı ve buradan tüm Akdeniz Havzası’na ve Dünya’ya yayıldığı, yani yayılışının doğu-batı doğrultusunda olduğu şeklindedir. İkincisi ise, bu bitkinin Mısır ve Etiyopya’da kültüre alındığı ve Fenikeliler tarafından Kıbrıs’a getirilip, tarihsel süreç içerisinde buradan Akdeniz Havzası’na ve Dünya’ya yayıldığı, yani yayılışının güney-kuzey doğrultusunda olduğu şeklindedir (Augustinos vd., 2005; Nardi vd., 2005). Besnard ve Berville (2000) ise gerçekleştirdikleri bir mitokondrial DNA (mtDNA) çalışmasına dayanarak kültür zeytininin orijini için Batı Akdeniz Havzası’nda da bazı merkezler önermişlerdir. Bu çalışmada, Akdeniz zeytinlerinde 4 mitotip saptanmıştır: Mısır, Yunanistan, Türkiye ve Yakın Doğu zeytinleri için karakteristik olan ME1 (Doğu Akdeniz mitotipi, no.1) ve ME2 (Doğu Akdeniz mitotipi, no.2) tipleri ile Fransa, İtalya, Fas, Tunus, Cezayir, İspanya ve Yugoslavya için karakteristik olan MOM

(Batı Akdeniz mitotipi) ve MCK (Batı Akdeniz çeşidi Chemlal de Kabylie mitotipi) tipleri.

Tarihsel birçok kayıta ve birçok literatürde zeytin ağacının anavatanı olarak “Yukarı Mezopotamya” yani Anadolu’nun Mardin, Kahramanmaraş ve Hatay üçgenini içeren bölge gösterilmekte olup, buradan tüm dünyaya yayılışının üç koldan olduğu bildirilmektedir: İlki Mısır üzerinden Tunus ve Fas, ikincisi Anadolu boyunca Ege Adaları, Yunanistan, İtalya, İspanya ve üçüncüsü de İran üzerinden Pakistan ve Çin’dir (Şekil 2) (Özkaya vd., 2008).



Şekil 2 Tarihsel birçok kayıda ve birçok literatüre göre zeytin ağacının anavatanı Yukarı Mezopotamya yani Anadolu’nun Mardin, Kahramanmaraş ve Hatay üçgenini içine alan bölgededir [http://agri.ankara.edu.tr/bahce/pratik\\_bilgiler/meyve/zeytin/genel.htm](http://agri.ankara.edu.tr/bahce/pratik_bilgiler/meyve/zeytin/genel.htm)

Zeytinin hem kültür hem de yabani formlarının kromozom sayıları aynı olup,  $2n=46$ ’dır (Gren ve Wickens, 1989). Kültür zeytinleri vejetatif olarak ürerken, yabani zeytinlerin üremesi tohumdan olmaktadır. Yabani zeytinler genellikle kısa dallara, etli, küçük, yuvarlak veya hafifçe uzamış yapraklara ve genellikle nispeten büyük bir çekirdeği olan yuvarlak, küçük meyveye sahip çalı veya ağaç formundaki bitkilerdir (Lavee, 1990).

Yetişkin bir zeytin ağacı aşırı uç çevre koşullarında 10 m yükseliğe ulaşabilir. Vejetatif olarak çoğaltılan ağaçlar çöğürlerde (tohumdan yetişen yabancı bitki) görülen genç tipi (juvenil) yaprak şeklini oluşturmazlar. Zeytin havalanmış topraklara ihtiyaç duymasına karşın, geniş bir dağılım gösteren farklı toprak tiplerine kendisini iyi adapte edebilir ve 0 °C'un birkaç derece altındaki düşük sıcaklıklara karşı direnç gösterebilir. Zeytin subtropik bölgede yetişirken tropik bölgelerde de gelişim gösterir fakat ürün verebilmek için belirli bir yüksekliğe ihtiyaç duyar. Akdeniz bölgesinde normal olarak çıkabildiği yükseklik 800 metredir. Türkiye'de zeytinin yetiştiği en yüksek sınır ise Adana'da 1150 metredir (Travessera de Cravia, 1997).

Zeytin ağacı uzun ömürlü olması nedeniyle diğer birçok meyve ağaçlarından ayrılmaktadır. Zeytin ağacının gövdesi bir nedenle ölürse veya herhangi bir şekilde ortadan kalkarsa ufak bir kök parçası veya sürgünü, onun tekrar meydana gelebilmesi için yeterli olabilmektedir. Tohumdan veya çelikten meydana gelmiş fidanlarda kökler (3 veya 4 yaşına kadar) daima dikine büyüme gösterirler. Daha sonra bu köklerin yerine yumruların oluşması ile saçakvari yeni bir kök sistemi meydana gelir. Oluşan bu kök sistemi hemen toprak yüzeyine yakın yer alır. Zeytin ağacının yaşına bağlı olarak köklerde büyümeye ve yayılmaya devam ederler. Yumrulardan kök ile gövde de meydana gelir. Ağaç yaşlandıkça gövdenin esas kısımları farklı olarak genişlediğinden gövde yuvarlaklığını kaybeder (Travessera de Cravia, 1997).

İlkbaharda Nisan'dan itibaren yılın gidişine bağlı olarak küçük dalcıkların giderek büyüdüğü görülür. Arkasından da iki senelik dalcıkların üzerinde "çiçek tomurcukları" kendini gösterir. Havalar kurak ve aynı zamanda sıcaklık yüksek ise çiçeklerin açılması Nisan ortalarında başlar ve Mayıs ortalarına kadar devam eder. Fakat yağışlı ve serin geçen yıllarda çiçeklenmenin Haziran ortalarına kadar sürdüğü görülmektedir (Travessera de Cravia, 1997).

Birçok meyve türünde olduğu gibi, düzensiz ürün verme zeytinde de görülmektedir. Bu düzensiz ürün alma durumuna **periyodisite** veya **alternans** denir. Periyodisitede bir yıl çok ürün alınırken ertesi yıl ya hiç ürün alınmaz ya da çok az ürün alınır. Var yılı ile yok yılı arasındaki verim 5 katına çıkabilmektedir. Bu durum çeşidin genetik ve fizyolojik özelliğine bağlı olmakla birlikte, uygulanan kültürel işlemlere, iklim ve toprak koşullarına bağlı olarakta değişir. Periyodisite ilk dikim

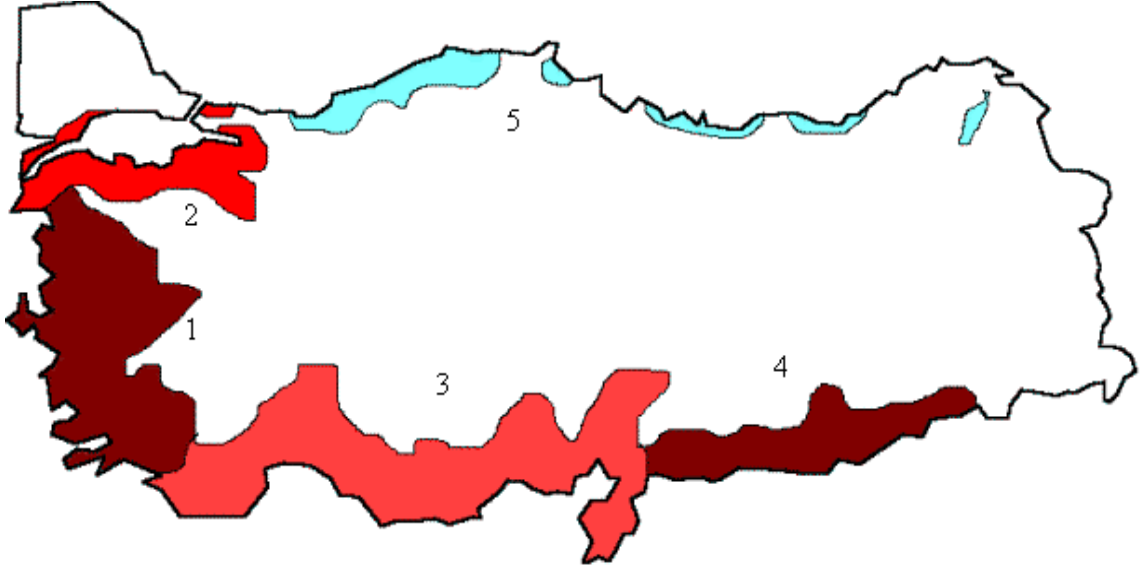
yılından itibaren uygulanacak kültürel işlemlerle azaltılabilir. Tesis yılında uygun bir taban gübrelenmesi, damlama sulama sistemin kurulması, hafif aralamalar ve diğer bakım koşulları periyodisiteyi azaltan koşullardır (Travessera de Cravia, 1997).

## **1.2 Zeytinciliğin Türkiye ve Dünya Ekonomisindeki Yeri**

Zeytin ekonomik olarak dünyada 30-45 derece enlemler arasında kuzey yarıkürede 30 ve güney yarıkürede de 8 ülkedeki sınırlı bir alanda yetiştiriciliği yapılan bir Akdeniz bitkisidir (Karakır, 1992). Günümüzde zeytin ağaçlarının % 98 gibi önemli bir bölümü Akdeniz ülkelerinde bulunmaktadır. Dünya’da yaklaşık 10 milyon hektar alan üzerinde 900 milyonu aşkın zeytin ağacı olduğu tahmin edilmektedir. Dünya yıllık toplam zeytin üretiminin 13 milyon ton olduğu bildirilmektedir (DİE, 2005; FAO, 1998). Dünya zeytin üretiminde söz sahibi ülkeler arasında İspanya % 26’lık payla ilk sırada yer almakta, onu % 23 ile İtalya, % 15 ile Yunanistan, % 9 ile Türkiye, % 8 ile Tunus ve % 5 ile Fas, Portekiz, Fransa ve Cezayir izlemektedir. Türkiye, dünya zeytin ağacı varlığında 4., zeytinyağı üretiminde 5., sofralık zeytin üretimi ve tüketiminde ise ilk sıradadır (DİE, 2005; FAO, 1998).

Ülkemizde mevcut tarım alanlarının yaklaşık % 4’ü zeytinliklerden oluşmakta olup, zeytin ağacı varlığımız 92,500’ü meyve veren, 10,700’ü de meyve vermeyen olmak üzere toplam 103,200 adet olarak bilinmektedir (Şeker, 2008). Ülkemizdeki zeytin üretiminin % 72’si yağlık, % 28’i ise sofralık olarak değerlendirilmektedir. Zeytin alanlarının yaklaşık % 55,11’i Ege, % 27,72’si Marmara, % 14,94’ü Akdeniz Bölgeleri’nde bulunmaktadır (DİE, 2000). İzmir Zeytincilik Araştırma Enstitüsü verilerine göre ise, Ege Bölgesi’nde Çanakkale ve Muğla arasındaki hat, zeytin ağacının en iyi yetişme şartlarına sahip olduğu alanı oluşturur. Bu bölge Türkiye’nin en büyük zeytin üretim alanını oluşturmaktadır olup, zeytin ağacı toplamının % 75,83’üne sahiptir. Dünyanın zeytin yetiştirilen ilk sahalarından olan Akdeniz Bölgesi’nde ise ne yazık ki zeytincilik istenilen düzeyde değildir. Bu bölgede yerli çeşitler yanında Marmara ve Ege Bölgesi çeşitleri yaygın olarak bulunmakta olup, üretimin % 15’i sofralık kullanıma ayrılmaktadır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi ülkemizin zeytin ağacı varlığının % 0,18’ine sahiptir. Bu bölgede yerel bazı çeşitler

önemlidir. Şekil 3'te ağaç sayısı ve üretim miktarlarına göre Türkiye'nin zeytin üretim alanları gösterilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Türkiye'nin zeytin üretim alanlarını gösteren harita. Numaralar bölgelerin ağaç sayısı ve üretim miktarlarına göre çoktan aza doğru verilmiştir. (<http://www.agri.ankara.edu.tr/bahce/pratikbilgiler/meyve/zeytin/ekonomi.htm>)

### 1.3 Zeytin Çeşitleri

Zeytin tarımının yapıldığı ülkelerde, morfolojik kriterlere dayanılarak, bugüne kadar 2600'den fazla zeytin çeşidi tanımlanmıştır (Rugini ve Lavee, 1992). Ancak, pek çok çeşit arasındaki benzerliklerin farklı çeşit kriterine göre çok yüksek olması, bu yüksek sayının tanımlama ve etiketleme hatalarından kaynaklanmış olabileceğini ve çoğunun sinonim olduğunu düşündürmektedir (Barronco vd., 2000). Bunlar çıkarıldığında, yine de azımsanmayacak bir sayı olan, 1200'den fazla zeytin çeşidi olduğu bildirilmektedir (Ganoni vd., 2006). Ayrıca, zeytin yüksek oranda allogam bir bitki olduğundan, çeşitler birbirleriyle kolaylıkla melezlenebilmekte (Zohary, 1994; Mekuria vd., 2000) ve bu da çeşitler arasında ve çeşitler içinde yüksek genetik çeşitlilikle sonuçlanmaktadır (Gil vd., 2006).

Ülkemizde de Tarım ve Köyişleri (TK) Bakanlığı İzmir Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nün koleksiyonlarında 33'ü ekzotik orijinli olmak üzere 97 çeşit ve tip bulunmaktadır. En yaygın kullanılan ve ülkemiz zeytinciliği önemli olan 27 yerel

çeşidin morfolojik ve agronomik karakterlere dayandırılarak yapılan karakterizasyonları tamamlanmış ve TK Bakanlığı tarafından tescil edilmiştir (Özkaya, 2006). Kalan çeşit ve tiplerin de karakterize edilerek ülke ekonomisine kazandırılması çalışmaları ilgili kuruluş tarafından devam ettirilmektedir. Ayvalık, Büyük Topak Ulak, Çakır, Çekişte, Çelebi, Çilli, Domat, Edincik Su, Eğriburun, Erkence, Gemlik, Halhalı, İzmir Sofralık, Kalembezi, Kan Çelebi, Karamürsel, Kilis Yağlık, Kiraz, Manzanilla, Memecik, Memeli, Nizip Yağlık, Samanlı, Sarı Haşebi, Sarı Ulak, Saurani, Tavşan Yüreği, Uslu, Yağ Çelebi standart zeytin çeşitlerimizden bazılarını oluşturmaktadır.

Kültür formlarındaki bu yüksek genetik çeşitlilik, doğru tanımlamaların yapılabilmesi için, çevre faktörlerinden etkilenmeyen, güvenilir genetik araçların kullanılmasını zorunlu kılmıştır. Her ne kadar çevre, kullanılan doku, gelişim evresi ve diğer bazı faktörlere göre farklılık gösterebilir de izoenzimler zeytinde çeşit tanımlaması amacıyla kullanılmıştır (Trujillo vd., 1995). Zeytinin genetiğine ilişkin daha güvenilir bilgi edinmek amacıyla, son zamanlarda DNA esaslı belirteçler tercih edilmeye başlanmıştır. Rasgele çoğaltılan polimorfik DNA (random amplified polymorphic DNA = RAPD) belirteçleri bunlar arasında en yaygın kullanılan olup, daha önceki çalışmalarda; çeşit tanımlamasında (Fabbri vd., 1995; Belaj vd., 2001; Besnard vd., 2001; Guerin vd., 2002), Akdeniz Havzası'na ait yabani, feral ve kültür zeytinleri arasındaki genetik uzaklıkların saptanmasında (Belaj vd. 2002; Besnard ve Bervillé, 2000) ve zeytinin yayılış tarihçesinin araştırılmasında (Hess vd., 2000) kullanılmıştır. Özkaya vd. (2004 ve 2006) da aynı yöntemi kullanarak ülkemiz zeytin çeşitlerinden dokuzunu (Ayvalık, Domat, Gemlik, Halhalı (Derik), Kilis Yağlık, Memecik, Nizip Yağlık, Sarı Ulak, Tavşan Yüreği) ilk kez moleküler düzeyde karakterize etmişlerdir. Yine Manzanilla, Gemlik, Domat, Memecik, Edremit ve Uslu olmak üzere 6 çeşidimiz Sesli ve Yeğenoğlu (2009a) tarafından aynı belirteçlerle analiz edilmiştir. Aynı araştırmacılar bir diğer çalışmalarında ise sadece Manisa, İzmir ve Muğla'dan toplamış oldukları çok sınırlı sayıdaki (8) yabani bireyi aynı belirteçlerle çalışmışlardır (Sesli ve Yeğenoğlu, 2009b). Diğer moleküler belirteçlerden; çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizmi (amplified fragment length polymorphism = AFLP) (Angiolillo vd., 1999; Bandelj vd., 2004), basit dizi tekrarları (simple sequence repeat = SSR veya mikrosatellitler) (Rallo vd., 2000; Sefc

vd., 2000; Carriero vd., 2002; Cipriani vd., 2002; De la Rosa vd., 2002; D'az vd., 2006; Gil vd., 2006), ara-basit dizi tekrarları (inter simple sequence repeat = ISSR) (Hess vd., 2000; Pasqualone vd., 2001; Gemas vd., 2004), tek nükleotit polimorfizmi (single nucleotide polymorphism = SNP) (Reale vd., 2006) ve ITS-1 (internal transcribed spacer-1) nrDNA bölgesi ( Hess vd., 2000; Besnard vd., 2007) belirteçleri de zeytinde benzer amaçlarla kullanılmışlardır. Ergülen vd. (2002)'nin "Bazı Yerli ve Yabancı Zeytin (*Olea europaea* L.) Çeşitlerinin RAPD-PCR Tekniği Kullanılarak Tanımlanması (Proje No: TARP-2559)", Şeker vd. (2003)'nin "Önemli Zeytin Çeşit ve Tipleri ile Anaç Populasyonlarının İzoenzim Polimorfizmleri ve Genetik Özellikleri (Proje No: TOGTAG – 2788)" ve Şeker vd. (2008)'nin "Zeytin (*Olea europaea* L.) Çeşitlerinin AFLP ve SSR Markörleri Polimorfizminin Yağ Asitleri ve Tokoferol Düzeyleri ile İlişkilendirilmesi (Proje No: TOVAG-3358)" başlıklı TÜBİTAK Projeleri ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Yrd. Doç. Dr. Feray Köçkar danışmanlığında Rahşan Ilıkçı tarafından gerçekleştirilen 2003 tarihli "Bazı Zeytin Klonlarında RAPD Markerleri Kullanılarak Genetik İlişkinin Belirlenmesi" başlıklı tez çalışması konu ile ilgili ulaşılabilen diğer çalışmaları oluşturmaktadır.

#### **1.4 Zeytinde Genetik Erozyon ve Yabani Gen Kaynaklarının Önemi**

Uzun yıllar boyunca gerek sofralık, gerekse de yağlık olarak yapılan çok geniş alanlardaki yoğun üretiminde çoğunlukla lokal olarak adapte olmuş sadece birkaç kültür çeşidi tercih edildiğinden, zeytinde ciddi bir genetik erozyon söz konusudur. Amaca uygun ıslah programlarının geliştirilip uygulanmasında hem kültür hem de yabani formlardan oluşan geniş bir germplasma sahip olmak son derece önemlidir. Bu amaçla, kültür ve yabani formlarındaki genetik çeşitliliğin saptanması ve korunması büyük önem taşımaktadır. Bu, aynı zamanda zeytinin kültür ve yabani formları arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılması ve belki de tarihinin yeniden kurgulanması açısından da gereklidir (Bronzini de Caraffa, 2002).

Zeytinin çok uzun yıllara dayanan tarımı nedeniyle, kültür formları doğal olarak bulunan yabani formlarını baskılamış ve sonuç olarak günümüzde pek çok bölgede yabaniler yok olmuştur (Quazzani vd., 1993). Kalanlar ise Akdeniz kıyılarında kısıtlı alanlarla sınırlı kalmışlardır (Zohary ve Spiegel-Roy, 1975). Ülkemiz zeytinlikleri

genellikle eğimi yüksek alanlarda ve doğal florada bulunan yabani zeytin (Delice) üzerine aşı yapılarak kültüre alınmış zeytinliklerden oluşmaktadır (Aykas, 1998). Ülkemiz zeytin alanlarında yabani zeytinlerin bolca bulunması, buna karşılık dünyanın diğer zeytincilik bölgelerinde insan eliyle dikilmiş ağaçların dışında nadiren bulunması ya da hiç bulunmaması zeytin ağacının anayurdunun günümüz Türkiye'si olabileceği görüşünü desteklemektedir. Yakın zamanlarda yapılan arkeolojik kazılarda ortaya çıkan zeytin çekirdekleri, zeytinin 6000 yıl önce Doğu Akdeniz Ülkelerinde kültüre alındığını desteklemektedir. Girit'te bulunan amforalar üzerindeki hiyerogliflerden Mısır'a 4500 yıl önce zeytin ihraç edildiğini göstermekte olup, bundan dolayı da zeytin sanayisine bu yıllarda başladığı anlaşılmaktadır (Tunalıoğlu, 2002; Loumau ve Giourgo, 2003).

Kültür çeşitlerinin çok yüksek sayıda olmaları ve daha henüz tümünün DNA esaslı, güvenilir tekniklerle genetik karakterizasyonlarının tamamlanmamış olması nedeniyle, yabani formlarının çeşitliliğine ilişkin çalışmalar literatürde çok sınırlıdır. Ancak, verim ve kalitenin yanı sıra hastalıklara ve diğer biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı dayanıklılık bilgilerini de gen havuzlarında bulunduran bu formların doğal populasyonlarının DNA belirteçleri kullanılarak karakterize edilmesi ve korunması büyük önem taşımaktadır (Bronzini de Caraffa, 2002).

## **1.5 Genetik Belirteçler**

Belirteçler kalıtsal modelleri morfolojik, biyokimyasal ya da DNA seviyesinde izlenilebilen "karakterler"dir. Bu karakterler doğrudan olmamasına karşın, bir organizmadaki doğrudan ilgilenilen özelliklerin yanında bir lokusta bulunup onlarla birlikte kalıtıldıkları gözlemlendiğinden ilgilenilen özelliğin genetik özellikleri hakkında bilgi sağlamalarından dolayı belirteç diye adlandırılırlar. Bir tür içindeki genotipler arasında var olan çeşitlilik (varyasyon) genom analiz çalışmalarının temelini oluşturmaktadır. Genel olarak belirteçleri; morfolojik ve moleküler belirteçler olmak üzere ikiye ayırabiliriz.

### **1.5.1 Morfolojik Belirteçler**

Tek lokus ile idare edilen morfolojik özellikler, değişik çevre koşullarında ifade edilebildiği sürece genetik belirteç olarak kullanılabilirler. Morfolojik karakterler ya da fenotipler belirli bir gen için belirleyici olarak kullanılabilirler. Pek çok canlıda

morfolojik belirteçler çalışılmıştır (fare, insan, mısır, domates vs. ). Fakat morfolojik belirteçlerin bazı durumlarda çevre faktörlerinden kolayca etkilenebilmeleri, fenotipik özelliklerin genetik kontrol mekanizmalarının tam olarak bilinmemesi, yetersiz varyasyon ve aranılan özelliklerin uygun büyüme aşamasında ortaya çıkışının uzun zaman alması bu belirteç tiplerinin genetik çalışmalarda tercih edilmelerini sınırlandırmaktadır. Kodominant morfolojik belirteçler seleksiyonla genetik tepkinin tahmin edicisi olarak yarar sağlasalar da çevresel ve epistasis gibi genetik faktörlerden etkilenirler (Staub vd., 1966).

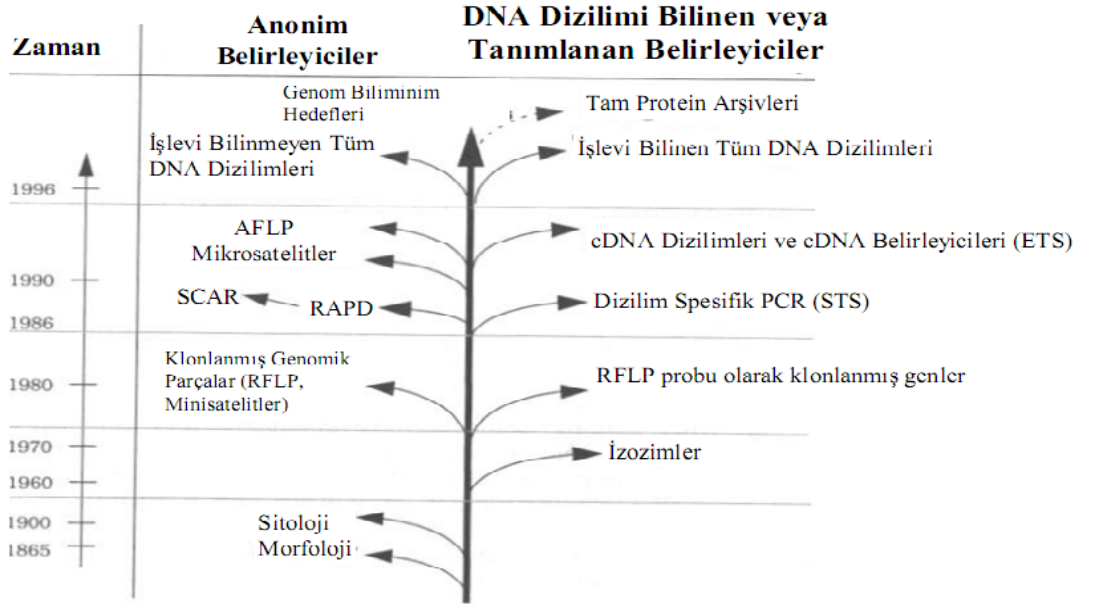
### 1.5.2 Moleküler Belirteçler

Moleküler belirteçler, biyokimyasal belirteçler ve DNA belirteçleri olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Türe özgü bazı proteinler ile aynı enzim aktivitesine sahip fakat elektroforetik hızı farklılık gösteren alternatif enzim formları olarak tanımlanan izoenzimler, biyokimyasal belirteçler olarak yaygın bir şekilde pek çok bitki türünde kullanılabilir. Biyokimyasal belirteçler, enzim aktivitesinden yararlanılarak, jeller üzerinde enzim bantlarının gözlemlenmesi ile bilgi sağlarlar. Biyokimyasal belirteçler çeltik, mısır, buğday gibi pek çok bitkideki genetik çeşitlilik hakkında bilgi edinilmesi amacıyla kullanılmış olmasına karşın, izoenzimlerin sayıca az olması ve yine bu enzimlerin kullanılan bitkinin gelişim aşamasına bağımlı olmaları nedeniyle sınırlı kullanım alanına sahiptirler (Madhaviatha vd., 2005; Sanchez vd., 2006).

Moleküler belirteçlerin diğer bir grubu olan ve genlerin dizilim kompozisyonları hakkında güvenilir bilgi veren DNA belirteçleri ile çeşitlerin birbirleri arasındaki genetik farklılığın belirlenmesi, bağlantı ve QTL haritalamaları, gen kaynaklarının karakterize edilmesi, evrimsel gelişimin analizi ve transformasyonda başarı düzeyinin belirlenmesi gibi çeşitli amaçlar için kullanılarak moleküler çalışmalarda güvenilir ve önemli bilgiler elde edilmektedir.

Bitki türlerinin tanımlanmasında ve genetik varyasyonun tespitinde de DNA belirteçleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Morfolojik ve biyokimyasal belirteçlerin uygulamadaki yetersizlikleri DNA belirteçlerinin uygulanmasıyla ortadan kalkmıştır. DNA belirteçleri, diğer tekniklere göre daha fazla avantajlara sahiptirler. Bu belirteçler çevre faktörlerinden etkilenmezler ve polimorfizm oranları yüksektir.

Aynı zamanda pleotropik ve epistatik etki göstermeyip, son derece stabildirler (Soller ve Beckmann, 1983; Tanksley, 1983; Avise, 1994; Bretting ve Widrlechner, 1995). Şekil 4’de genetik belirteçlerin tarihsel gelişimi özetlenmiştir.



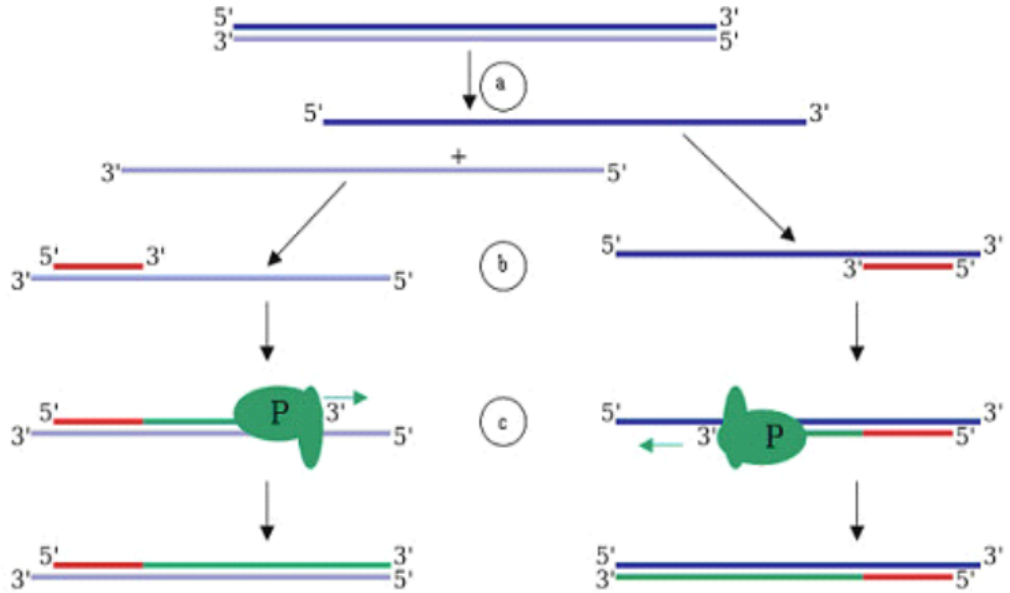
Şekil 4. Morfolojik ve moleküler belirteçlere dahil olan alt grup belirleyiciler ve bunların tarihsel gelişimi (Ben Hui Lui, 1998)

Moleküler belirteçlerin, bitki türlerinin genetik çeşitliliğini belirlemede iyi birer teknik oldukları kanıtlanmıştır (Karp vd., 1998). Ayrıca yine moleküler belirteçler, gen kaynaklarının genetik kökenleri hakkında oldukça yararlı bilgiler sağlamalarının yanında, elde edinilen bu bilgiler ıslahçılar için, özellikle ender bulunan genleri içeren gen kaynaklarının kullanılabilirliğine karar vermede, önemlidir.

### 1.5.2.1 PCR

Moleküler biyoloji tekniklerinin sahip olduğu avantajlar, birçok DNA belirtecinin ortaya çıkmasında büyük rol oynamıştır. Genellikle, enzimlerle kısıtlı DNA parçacık uzunluğu polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP), türlerin genetik farklılığını belirlemede ve genetik bağlantı linkaj haritaları tasarlamada kullanılmaktadır. Bunun yanında RFLP tekniği uygulamasının zor olması, DNA

hibridizasyonunun radyoaktif maddelerle yapılması, yüksek miktar ve kalitede DNA gerektirmesi, polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) geliştirilmesinde büyük rol oynamıştır. İlk kez 1985’de bilim dünyasına tanıtılmasından itibaren, PCR, hem araştırmada hem de klinik laboratuvarlarda tanıda bir çığır açmıştır. ABD’de Cetus Corporation’da çalışan Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından geliştirilmiştir. Yöntem in vitro koşullarda tüpte nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılmasına dayanmaktadır. Bu buluşundan dolayı K. Mullis, 1993 yılı Nobel Kimya Ödülü’ne hak kazanmıştır. PCR yönteminin aşamaları şematik olarak aşağıdaki gibidir (Şekil 5).



Şekil 5. PCR yöntemindeki aşamaların şematik gösterimi (Bay, 2009).  
**a.**Denatürasyon, **b.** Bağlanma, **c.** Polimerizasyon. *Taq* DNA polimeraz “P” harfi ile gösterilmektedir

PCR, bir çeşit “in vitro klonlama”dır. Şekil 5’de de özetlenen PCR, DNA’nın iki zincirinin yüksek sıcaklık ile birbirinden ayrılması (denaturation = denatürasyon), daha sonra sentetik oligonükleotitlerin hedef DNA’ya bağlanması (annealing = bağlanma), ve son olarak zincirin uzaması (extension = uzama) (çift iplikçi DNA’ların sentezi) ile bu siklusların belirli sayıda (25-60 kez) tekrarlanması esasına

dayanır. Bu üç basamak (denatürasyon / bağlanma / uzama) bir PCR siklusunu oluşturur. Her basamak farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilir (Sırasıyla 94-98 °C; 37-65 °C; 72 °C). PCR tekniği tek veya çift iplikçikli DNA'yı veya RNA'yı kalıp olarak kullanabilir.

Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen DNA bölgesinin iki ucuna özgü, bu bölgelerdeki baz dizilerini tamamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (4-20 baz uzunluğunda) kullanılarak, bu iki primer ile sınırlandırılan DNA bölgesinin enzimatik olarak in vitro koşullarda sentezlenmesine dayanır.

PCR tekniği, çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamaktadır. PCR tekniği ile laboratuvar tanısında çok büyük bir hız ve kesinlik kazanılmış, birçok durumda radyoaktivite kullanımı gereksiz hale gelmiştir. PCR'ın orijinal protokolünde, *E.coli* DNA polimeraz Tin Klenow Fragment'i oligonükleotitlerin polimerizasyonunda kullanılmıştır. Ancak DNA'yı denatüre etmek için gerekli olan sıcaklığa ulaşıldığında, enzim inaktif olmuştur. Her ne kadar bu yöntem 200 bp altındaki reaksiyonlar için iyi çalışmışsa da, uzun segmentlerde çalışmamıştır. Bu durumlarda PCR ürünü çok iyi olmayıp, mispriming (primerin yanlış bölgeye bağlanması) olayına bağlı olarak farklı büyüklüklerde PCR ürünleri elde edilmiştir. Bu tip problemler yüksek sıcaklığa dayanıklı *Taq* polimerazların bulunması ile önlenmiştir. *Thermus aqualiticus*'dan elde edilen *Taq* DNA polimerazın kullanılmaya başlanması ve gerekli olan reaksiyon bileşenleri içeren tek bir tüp içerisinde, reaksiyonu gerçekleştiren, basit ve kendi kendine çalışan "Thermalcycler" adı verilen cihazın geliştirilmesiyle PCR'da çok büyük gelişmeler olmuş ve genomik DNA'dan daha uzun PCR ürünleri çoğaltılabilir hale gelmiştir. *Taq* DNA polimeraz ile sentezlenen ürünlerin uzunlukları yaklaşık 10 kb kadar olabilmektedir (Erlich vd., 1991).

PCR tekniğinin uygulanabilmesi için, "Thermalcycler"a yerleştirilen reaksiyon tüpünde aşağıda sıralanan temel bileşenler olmalıdır:

1. Çoğaltılacak (amplifiye edilecek) olan kalıp DNA,
2. Bu DNA'da çoğaltılması planlanan bölgenin iki ucundaki DNA dizisini özgül olarak tanıyıp bağlanacak olan oligonükleotid primerler,
3. Primerlere bağlanarak bunlara 3'ucundan nükleotitleri ekleyerek sentez yapabilecek olan *Taq* DNA polimeraz,

4. Sentezde kullanılacak olan deoksiribonükleotit trifosfatlar (dNTP'ler),
5. *Taq* DNA polimeraz enziminin çalışması için gerekli olan tampon ve tuzlar,
6. Enzimin çalışması için önemli bir kofaktör olan  $Mg^{+2}$  tuzu kaynağı olarak  $MgCl_2$ .

#### *PCR Optimizasyonu*

Çalışılan materyalde iyi bir PCR ürünü elde edebilmek için, PCR'ın tüm bileşenlerini ve bunların değişik kombinasyonlarını içeren bir optimizasyon çalışması çoğu zaman gerekli olmaktadır. Aşağıda PCR'ın tüm bileşenleri bu açıdan incelenmiştir:

#### *Kalıp DNA*

Moleküler belirteç yöntemlerinin uygulanabilmesi için, uygun miktar ve kalitede DNA izolasyonunun yapılmış olması gerekmektedir. Bununla birlikte, yüksek polisakkarit içeriğine sahip bitki türlerinde bu temel gereksinimin sağlanması oldukça güç olmaktadır (Do ve Adams, 1991; Fang vd., 1992). DNA izolasyonundaki başarı, elde edilen DNA miktarı ve kullanılabilirliğine bağlıdır. Bitki organlarının farklılığı, farklı yaprak dokusu ve yaprak yaşı, doku bileşiminde bulunan nükleik asitlerin yapısı ve saflığı, organik kökenli kimyasallar gibi nedenlerle her zaman iyi bir nükleik asit izolasyonu mümkün olamamaktadır (Doyle ve Doyle, 1988). Sekonder bileşikler, DNA'nın çözülmesini engelleyerek büyük miktarda DNA kayıplarına ve sıklıkla analizlerde kullanılan enzimlerin (restriksiyon enzimleri, modifikasyon enzimleri ve DNA polimeraz enzimi gibi) çalışmamasına neden olmaktadır (Scarafani ve Duranti, 2001). Kimi zaman DNA izolasyon yöntemi, bitkiden bitkiye göre farklı izolasyon sonuçları vermekte, hatta başka türlerde çalışmaya olanak vermemektedir. Başarılı bir izolasyonun aşamaları şöyledir:

- a. Hücre duvarlarının, hücre içi madde ve organellerin uzaklaştırılması için parçalanması gerekir. Bu genellikle kuru buz içerisinde veya sıvı azot yardımıyla dondurularak ya da sıcak tampon izolasyon çözeltisiyle havan içerisinde ezmeyle yapılmaktadır.
- b. DNA'nın izolasyon tamponuna geçmesi için hücre duvarının parçalanması işlemi genellikle SDS (Sodyum Dodsil Sülfat ) veya CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) gibi deterjanlar kullanılarak yapılmaktadır.

c. DNA'nın hücre içi nükleazların hidrolizinden korunması. Bu amaçla EDTA (Ethylene di-amin tetra acetic acid) gibi deterjanlardan yararlanılmaktadır. EDTA, nükleazların çalışmasında ko-faktör olan  $Mg^{+2}$  iyonlarını bağlayan şelatlaştırıcı bir maddedir. Daha sonra DNA'dan proteinlerin ayrılması ve parçalanması için fenol veya kloroform çözeltisi içerisinde muamele edilir.

d. DNA kırılmalarının azaltılması. Çözelti içerisindeki DNA kuvvetli çalkalanmalar veya karışırtmalar nedeniyle kırılabilir. Çok hassas yürütülmeyen DNA izolasyon işlemi sonunda 50-150 kb'lık uzunlukta DNA'lar elde edilebilir.

Reaksiyon başına 3-30 ng arasındaki kalıp DNA miktarı optimumdur. 3 ng'dan düşük miktarlar çoğunlukla PCR ürünü oluşturmak için yeterli değildir. Kalıp DNA'nın miktarı kadar kalitesi de reaksiyon ürünü etkiler (Innis vd., 1990).

#### *Enzim Konsantrasyonu*

*Taq* DNA polimeraz aktivitesi için önerilen konsantrasyon, diğer parametreler en uygun iken her 100 µl reaksiyonda 1-2,5 ünite arasındadır. Bu miktar, kalıp DNA veya primere bağlı olarak değişebilir. Bir PCR'ı optimize ederken her 100 µl reaksiyon hacmi için 0,5-5 ünite arasında enzim konsantrasyonu denenerek sonuçlar jelde kontrol edilmelidir. Eğer enzim konsantrasyonu çok yüksek olursa spesifik olmayan bantlar oluşur, eğer çok düşük olursa istenen ürün yetersiz miktarda üretilir (Innis vd., 1990).

#### *Deoksinükleotit Trifosfat (dNTP) Konsantrasyonları*

Her bir deoksinükleotit trifosfat için, 20-200 µM arasındaki konsantrasyonlar ürün miktarı, özgünlük ve doğruluk açısından optimal denge ile sonuçlanır. Dört dNTP'nin de eşit konsantrasyonlarda kullanılması önerilmektedir. Düşük dNTP konsantrasyonları hedef olmayan DNA bölgelerine yanlış primer bağlanımını minimuma indirir ve yanlış birleşen nükleotitlerin çoğalma ihtimalini azaltır (Innis vd., 1990).

#### *Magnezyum Konsantrasyonu*

Genellikle  $MgCl_2$  konsantrasyonunun her bir kalıp DNA-primer kombinasyonu için titre edilmesi önerilmektedir. Fakat, zamandan kazanmak için 0,5 ile 2,5 mM arasındaki  $MgCl_2$  konsantrasyonlarının denenmesi çoğu zaman yeterlidir. Primer ve

kalıp DNA'larda bulunacak EDTA gibi bazı maddeler  $MgCl_2$ 'ün optimum miktarını etkiler. 0,5 mM'dan düşük  $MgCl_2$  konsantrasyonları genellikle hiç PCR ürünü oluşmaması ya da düşük ürün miktarı ile sonuçlanırken, yüksek  $MgCl_2$  konsantrasyonları ise istenmeyen ürünlerin oluşmasına neden olur. Ancak, bazı çalışmalarda 13 mM'a kadar olan  $MgCl_2$  konsantrasyonlarının RAPD fenotiplerini ciddi olarak etkilemediği görülmüştür (Innis vd., 1990).

#### *Primer Konsantrasyonu*

Genellikle 0,1 ile 0,5  $\mu M$  arasındaki primer konsantrasyonları optimaldir. Yüksek primer konsantrasyonları, spesifik olmayan ürünlerin oluşmasına, primer-dimer olarak adlandırılan spesifik olmayan, kalıp DNA'dan bağımsız yabancı maddelerin meydana gelmesine neden olur. Spesifik olmayan bu ürünler enzim, dNTP ve primerler için istenen ürünlerle yarışan substratlardır. Tipik primerler 18-28 nükleotit uzunluğunda % 50-60 G+C özelliklerine sahiptir (Innis vd., 1990).

#### *Diğer Reaksiyon Bileşenleri*

Jelatin, bovin serum albumin (BSA), Tween-20 veya Lauret-12 gibi iyonik olmayan deterjanlar enzim stabilizasyonuna katkıda bulunmaları açısından reaksiyona eklenebilmektedir.

Reaksiyon bileşenlerinin yanı sıra, devir parametrelerinin optimizasyonu da iyi bir PCR ürünü eldesi için çoğu zaman gerekli olmaktadır. Bu parametrelere ilişkin optimizasyon kriterleri de aşağıda sunulmuştur:

#### *Denatürasyon Zaman ve Sıcaklığı*

PCR'ın başarısızlığında en büyük neden, kalıp DNA ve PCR ürünlerinin eksik denatürasyonudur. Tipik denatürasyon durumları  $95^{\circ}C$ 'ta 30 saniye veya  $97^{\circ}C$ 'ta 15 saniyedir. Yüksek sıcaklıklar özellikle G+C bakımından zengin hedefler için uygundur. Eksik denatürasyon DNA iplikçiklerinin yeniden birleşmesine ve bu sebeple ürün veriminin düşmesine neden olur. Bunun tam tersi olarak çok yüksek ve çok uzun denatürasyon da gereksiz yere enzim aktivitesinin kaybına neden olur (Innis vd., 1990).

### *Primer Bağlanması*

Primerlerin bağlanması için gerekli olan sıcaklık ve süre, primerlerin konsantrasyonuna, uzunluğuna ve baz kompozisyonuna bağlıdır. Uygun bağlanma sıcaklığı primerlerin erime noktasının ( $T_m$ =true melting point)  $5^\circ\text{C}$  altındadır. Enzim aktivitesi  $20$ - $28^\circ\text{C}$ 'ta görülür. Genellikle  $55$ - $72^\circ\text{C}$ 'ta bağlanma sıcaklığı en iyi sonucu verir. Bağlanma sıcaklığının artması yanlış bağlanan primerlere karşı ayrımı artırır ve primerlerin  $3'$  ucundaki yanlış nükleotid uzamasını azaltır (Innis vd., 1990).

### *Primer Uzaması*

Primer uzama zamanı, hedef dizinin uzunluğu, sıcaklığı ve konsantrasyonuna göre değişiklik gösterir. Genellikle  $72^\circ\text{C}$ 'ta primer uzamaları gerçekleşir.  $72^\circ\text{C}$ 'ta bir dakikalık uzama zamanı  $2$  Kb uzunluğuna kadar olan ürünler için yeterli olmaktadır (Innis vd., 1990).

### *Devir Sayısı*

Diğer parametreler optimize edildiğinde optimum devir sayısı hedef DNA'nın başlangıç konsantrasyonuna bağlıdır. Gereğinden fazla devir sayısı, spesifik olmayan yan ürünlerin miktarını artırırken, düşük devir sayısı ise düşük PCR verimi ile sonuçlanır (Innis vd., 1990).

PCR'a dayalı, en yaygın kullanılan belirteçlerden birisi olan RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA = Rastgele Çoğaltılan Polimorfik DNA) belirteçleri, bu tez çalışmasının konusunu oluşturduğundan bu bölümde detaylı olarak ele alınacaktır.

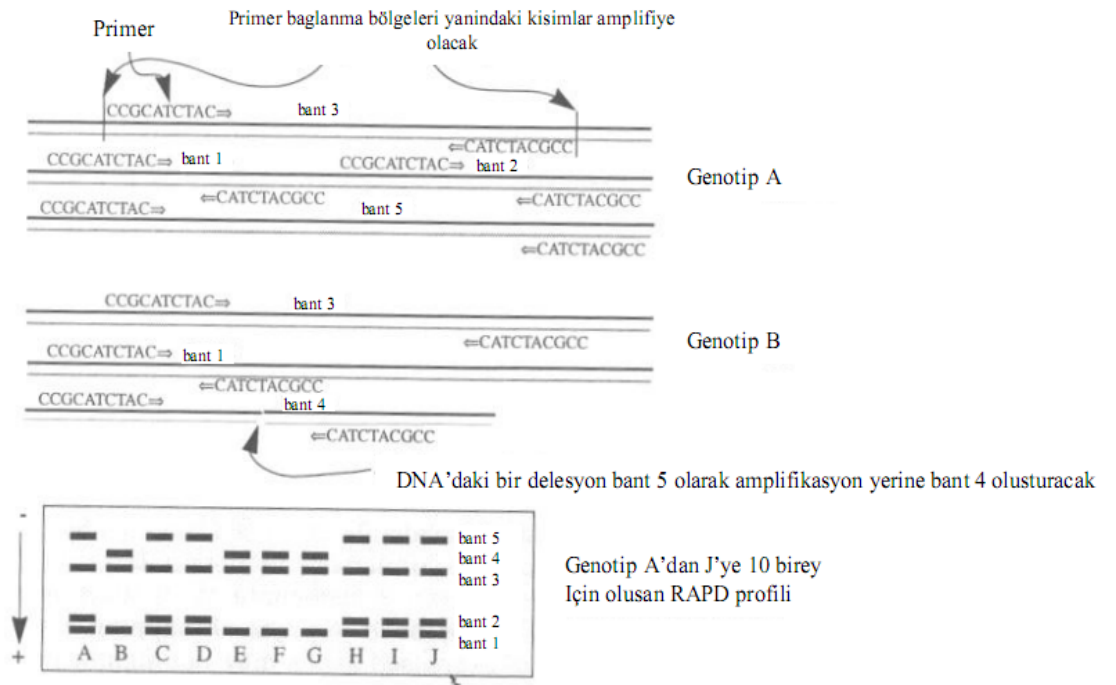
#### **1.5.2.2 RAPD Belirteçleri**

PCR'ın keşfi ile DNA polimorfizmini araştıran yeni belirteç sistemleri ortaya konulmuştur. Bunlardan birisi olan RAPD belirteçleri, Williams vd. (1990) ve Welsh ve Mc Clelland (1990) tarafından geliştirilen, rastgele kısa oligonükleotit primerler kullanılarak genomik DNA'nın tesadüfi olarak dağılmış segmentlerle çoğaltılması olarak tanımlanmaktadır.  $6$ - $10$  nükleotit uzunluğundaki başlatıcı sentetik oligonükleotitler (primerler) kullanılarak genom üzerinde rastgele bölgelerin DNA çoğaltılması gerçekleştirilir. Polimorfik DNA'nın PCR tabanlı rastgele çoğaltımı

(RAPD-PCR), bir şablon genomik DNA üzerinde rastgele primerler kullanılarak yapılmaktadır. Karşılıklı iki zincir üzerine nispeten yakın şekilde yerleşen primerlerle homolog kısa DNA dizileri bulunduran genomik parçalar çoğaltılmaktadır. RAPD-PCR desenlerinin polimorfizmi, tek ya da iki taraflı primer bağlanma bölgeleri arasındaki farklılıklar veya çoğaltılan parçada bulunan ekleme veya çıkarma sayesinde tespit edilmektedir (Malyshec ve Kartel, 1997).

Çoğaltılmış PCR ürünleri agaroz veya poliakrilamid jeller üzerinde ayrılır ve etidium bromit ya da gümüş nitrat boyanması ile görüntülenebilmektedir. RAPD, genellikle bireyler arasındaki polimorfizmin bandın varlığı/ yokluğu şeklinde ifade edildiği bir dominant belirteçtir (Staub vd., 1996). RAPD tekniği şekil 6'da şematize edilmiştir.

RAPD tekniği belirteç teknolojisinde uygulanmasındaki kolaylık, sentetik oligonükleotitlerin çok fazla sayıda bulunması (teorik olarak sınırsız sayıda), RFLP'nin tersine düşük miktarda ve düşük kalitede DNA'ya gereksinim duyulması, RFLP'ye göre daha az aşama kapsaması ve daha kısa süreli olması gibi nedenlerden ötürü tercih edilen bir belirteç sistemlerinden birisidir.



Şekil 6. RAPD tekniğinin şematik gösterimi (Ben Hui Lui, 1998)

RAPD beliteçleri, genetik parmakizi belirleme ve çeşit tanımlama, populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliğin ortaya konması, klon tanımlama, taksonomik ve filogenetik çalışmalar, pedigrî ve ebeveyn analizi, bitki büyüme ve gelişmesi, taksonomik kimliğin belirlenmesi, akrabalık derecelerinin belirlenmesi ve karışık genom örneklerinin analizi, bitkinin farklı yaşam evrelerinin araştırılması ve yabancı tozlanma oranlarının tahmini gibi çok değişik amaçlı çalışmalarda (Lodhi, 1994), bağlantı ve QTL haritalarının oluşturulmasında, bitki ve hayvan ıslahı alanındaki uygulamalarında, populasyon genetiği çalışmalarında tür ve genotipler arasındaki genetik farklılığı belirlemede yaygın olarak kullanılmaktadır (Newbury ve Ford-Lyoyd, 1993).

RAPD teknolojisi, araştırmacıya çok geniş sayıdaki lokuslarda DNA dizi tabanlı polimorfizmleri etkin ve hızlı tarama olanağı sağlamıştır. RAPD çoğaltımına uygun kısa primer (genellikle 10-mer) setleri ticari olarak bulunabilmekte ve sentezlenebilmektedir. Bir thermalcycler cihazı ve agaroz jel düzeneği dışında herhangi bir özel ekipman gerektirmez. Tekrarlanabilirlikle ilgili zorluklar DNA konsantrasyonundaki varyasyonu ortadan kaldırmak ve çoğaltma sırasında sabit reaksiyon koşulları ve sıcaklık profili kullanılmak suretiyle aşılabılır (Rafalski ve Tingey, 1993). RAPD yönteminin başarısını, az miktardaki DNA ile yüksek oranda polimorfizm yakalanması oluşturmaktadır (Williams vd., 1990). RAPD tekniğinin avantaj ve dezavantajlarını kısaca özetleyecek olursak;

#### **Avantajları:**

1. Polimorfizm oranı yüksektir,
2. Tüm genomun rastgele bir şekilde tekrarlanmasına olanak sağlar,
3. DNA dizi bilgisi gerektirmez,
4. Otomasyon için uygundur,
5. Az miktar ve orta kalitede DNA yeterlidir,
6. Radyoaktif işaretleme gerektirmez,
7. Göreceli olarak kolaydır.

#### **Dezavantajları:**

1. Dominant bir belirteç sistemidir,
2. Tekrarlanabilirliği bazı durumlarda düşüktür.

### **Çalışmanın Amacı**

Bu çalışmanın genel amacı, Türkiye'nin batı kıyılarında doğal olarak bulunan yabani zeytin popülasyonlarının RAPD tekniği kullanılarak moleküler düzeyde ilk kez karakterize edilmesi ve bunların kendi aralarındaki ve ülkemizde yaygın olarak kullanılan 8 kültür çeşidi ile olan genetik uzaklıklarının ve gen akışı düzeylerinin saptanmasıdır. Bu bağlamda çalışmaya ilişkin özel amaçlar şöyledir:

1. Kıyı boyunca surveylerin gerçekleştirilip, çalışılacak popülasyonların saptanması,
2. Uygun örnekleme yöntemleriyle, popülasyonlardan çalışılacak bireylerin seçilmesi,
3. DNA ekstraksiyonları için yaprak örneklerinin alınması,
4. RAPD sisteminin çalışılan tür için optimize edilmesi,
5. Her bir popülasyondan örneklenen bireylerin ve kültür çeşitlerinin, RAPD bant desenlerinin çıkarılması,
6. İstatiksel analizlerin gerçekleştirilmesi ve sonuçların yorumlanması,
7. Uygulamaya yönelik sonuç ve önerilerin çıkarılması.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Çalışılan Populasyonlar

Bu çalışmada Türkiye'nin en büyük zeytin üretim alanını oluşturan Ege Bölgesi kıyı şeridi boyunca 7 ayrı lokasyondan yabancı zeytin örnekler toplanmıştır (Şekil 7).



Şekil 7. Örneklerin toplandığı 7 lokasyonu gösteren harita. **Pop-1:** Dikili (12 birey), **Pop-2:** Karaburun (12 birey), **Pop-3:** Bergama (10 birey), **Pop-4:** Edremit (18 birey), **Pop-5:** Burhaniye (15 birey), **Pop-6:** Ayvalık (9 birey), **Pop-7:** Muğla (8 birey)

### 2.2 Örneklerin Toplanması

Yukarıda belirtilen 7 ayrı lokasyondan yaprak örnekleri 2009 yılı yaz dönemi içerisinde toplanmıştır. Örnekleme işleminde, öncelikle çalışılacak populasyonun genel sınırları saptanmıştır. Daha sonra bu populasyonu en homojen örnekleyecek

şekilde değişik noktalardan transektler atılarak, bu transektler boyunca populasyon büyüklüğüne göre 20-80 metre ara ile ağaçların genç yaprakları toplanmıştır. Örnek alınan her ağaç, kırmızı yağlı boya ile numara vermek suretiyle ve aynı zamanda da koruyucu naylon kılıf içindeki etiketlerle işaretlenmiştir. Her ağaçtan alınan yaklaşık 100 gram yaprak, 22 cm × 16 cm ebatlarındaki her iki yüzü ve içi populasyon ve populasyon içindeki birey numarasını gösterecek şekilde etiketlenmiş kilitli naylon poşetler içinde, uygun koşullarda laboratuvara ulaştırılmış ve DNA ekstraksiyon yapılmaya kadar -80°C'ta derin dondurucuda saklanmıştır.

Ülkemizde yaygın olarak kullanılan Domat, Memecik, Uslu, Gemlik, Çekişte, İzmir Sofralık, Girit ve Ödemiş Eşek Zeytini çeşitlerine ait örnekler Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı İzmir-Bornova Zeytincilik Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Enstitüden alınan bilgiler ve Enstitü Yayınlarına göre (<http://www.zeytinportali.com/article/>) bu çeşitlere ilişkin bilgiler aşağıda sunulmuştur.

**Domat:** Orijini Manisa İli'nin Akhisar İlçesi'dir. Ağacı kuvvetli gelişir. Geniş ve yayvan taç oluşturur. Erken verime yatar. Meyveleri iri ve silindriktir. Bol ve çimlenme gücü yüksek polen oluşturur. İyi bir tozlayıcıdır. Tam çiçek oranı yüksektir. Sulu şartlarda soğuğa hassas olup, zeytin dal kanseri ve kızıl kurda karşı kısmen dayanıklıdır. Genellikle yeşil dolgulu zeytin şeklinde işlenir.

**Memecik:** Sinonimleri Aşçı Yeli, Gülümbe, Şehir, Taş Arası, Tekir ve Yağlık'tır. Orijini Muğla İli'dir. Ege Bölgesi'ndeki ağaç varlığının % 50'den fazlasını, Türkiye genelinde ise yaklaşık % 45'ini oluşturur. İyi bakım şartlarında kuvvetli gelişir. Taçı iyi giyimli toplu, yuvarlak-yayvandır. Meyve iri ve oval şekilde, ucu memelidir. Kısmen kendine verimlidir. Tam çiçek oranı orta düzeydedir. Tozlayıcıları Ayvalık, Gemlik, Erkence ve Memeli'dir. Verimi yüksek olup, kuvvetli periyodisite gösterir. Yağ ve et / çekirdek oranı yüksektir. Zeytin sineğine karşı orta derecede hassastır. Yağının kalitesi yüksektir. Yağı kimyasal ve duyuşsal kalite kriterlerine göre Ayvalık çeşidinden sonra gelir. Yağlık ve sofralık olarak çok yönlü değerlendirmeye elverişlidir.

**Uslu:** Orijini Manisa ilinin Akhisar İlçesi'dir. Yoğun, büyük, geniş bir taç oluşturur. Sulanan koşullarda çok kuvvetli gelişir. O nedenle bu çeşit için sık aralık ve mesafelerin uygulanmaması gerekir. Meyve oval ve orta büyüklüktedir. Meyve ucu

memesiz, yuvarlaktır. Verimi orta düzeyde, iyi bakım şartlarında düzenlidir. Erken kararan bir çeşittir. Çekirdeği kolay ayrılır. Et / çekirdek oranı yüksektir. Soğuğa karşı hassastır. Siyah sofralık zeytin olarak değerlendirilmeye uygundur.

**Gemlik:** Sinonimleri Trilye, Kaplık, Kıvırcık ve Kara'dır. Orijini Bursa İli'nin Gemlik İlçesi'dir. Ağacı orta kuvvette gelişir. Fazla büyük olmayan yarı dik bir taç oluşturur. Kısmen kendine uyusur bir çeşit olduğundan tozlayıcı olarak Ayvalık, Çakır ve Erkence baba çeşit olarak önerilebilir. Meyveleri orta büyüklükte olup, yuvarlağa yakın silindirikdir. Erken verime yatar, verim yüksek ve düzenlidir. Soğuğa karşı kısmen dayanıklıdır. Marmara Bölgesi'ndeki ağaç varlığının büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Son yıllardaki yoğun fidan üretimi dikkate alındığında Türkiye genelinde hızla yayılmaktadır. Siyah sofralık zeytin olarak değerlendirilen en önemli çeşittir. Meyveleri yağ bakımından zengin olduğundan sofralık kalite dışı ürün yağlık olarak değerlendirilebilir.

**Çekişte:** Sinonimleri Kırma ve Memeli'dir. Fakat Ege Bölgesi'nde yetiştirilen Memeli çeşidinden farklı bir çeşit olup, sadece isim benzerliği söz konusudur. Orijini İzmir İli'nin Ödemiş İlçesi'dir. Meyve şekli iri, ovaldır ve meyve ucu hafif memelidir. Verimi iyi olup, iyi bakım şartlarında düzenli ürün verir. Soğuğa duyarlı değildir. Değişik bölgelerde yetişebilir. Yeşil sofralık ve kırma zeytin tipinde işlenmektedir. Ancak yağ bakımından zengin olan meyveler yağlık olarak işlenebilir.

**İzmir Sofralık:** Orijini İzmir İli'dir. Ağacı orta kuvvette, tacı geniş ve dağınıktır. En önemli problemi boncuklu meyve oluşturmalarıdır. Şiddetli periyodisite gösterir. Kendine kısırdır, tam çiçek oranı düşüktür. Memecik, Gemlik ve Erkence tozlayıcı olarak önerilebilir. Meyvesi çok iri ve ovaldır. Meyve ucu memelidir. Verimi düşük ve dalgalıdır. Zeytin sineği ve zeytin güvesine duyarlıdır. Yeşil sofralık zeytin olarak değerlendirilmektedir.

**Girit:** Ege Bölgesi'nin sahil kesimlerinde dağılım göstermektedir. Meyveleri çok küçüktür ve ağaç dalları üzerinde üzüm salkımı gibi gelişir. Verimi iyidir fakat meyveleri küçük olduğundan pek yaygın değildir. Yunanlıların "Koroneiki" çeşidine çok benzemektedir. Meyveleri küçük olduğundan ağaç başına elde edilen verim düşüktür. Olgunluk düzenli olarak seyretmez. Soğuya karşı dayanıklıdır. Çeliklerinin köklenme oranı % 39 civarındadır. Ekonomik öneme sahip olmadığı söylenen bu çeşidin çekirdek kabuğunun ince oluşu nedeniyle çimlenme özelliği iyidir. Meyveleri

Ekim ayında hasat edilerek katlama işlemine tabi tutulduktan sonra sıcak yastıklara dikildiğinde % 45 oranında çimlenme oluşur. Genellikle yağlık olarak değerlendirilir. **Ödemiş Eşek Zeytini:** İzmir'in ödemiş ilçesi ve civarında yaygın olarak görülür. Meyve ve çekirdekleri çok iridir. Meyveleri % 21,8 oranında yağ içerir. Meyve eti sert olduğundan beklemeye dayanıklıdır. Daneleri çok iri olduğundan standart dışıdır. Ancak son yıllarda iç ve dış piyasada iri zeytin talebinin artması nedeniyle yeşil sofralık zeytin olarak değerlendirilmeye başlanmıştır.

### 2.3 Genomik DNA İzolasyonu

Bu çalışmada genç yaprak örneklerinden genomik DNA izolasyonu için pek çok yöntem denenmiştir. Bu yöntemler; Doğaç (2008)'in Doyle ve Doyle (1987)'yi, Cullings (1992)'yi ve Sharma vd. (2003)'ü esas alarak optimize etmiş ve kullanmış olduğu yöntem, Altan (2010)'un Doyle ve Doyle (1987)'den modifiye etmiş olduğu yöntem, Özkaya vd. (2009)'un kullanmış olduğu değiştirilmiş Doyle ve Doyle (1987) yöntemi, Çalışkan (2005)'in Doyle ve Doyle (1988)'i esas alarak optimize etmiş olduğu yöntem, Della Porta vd. (1983)'ün yöntemi, Ilıkcı (2003)'ün Pich vd. (1993)'den adapte etmiş olduğu yöntem, Bronzini de Caraffa vd. (2002)'nin kullanmış olduğu ve tarafımızdan bazı basamakları modifiye edilen Saghai-Marooof vd. (1984)'ün yöntemi. Bu yöntemin ilk basamağına Sharma vd. (2003)'ün alkol kurutma yöntemi adapte edilmiştir.

Bu yöntemlerin ilk 6'sında test jellerinde örneklerden yeterli ve iyi kalitede DNA izole edilmiş görünmesine karşın, PCR'da ürün elde edilememiştir. Yedinci yöntem ile izole edilen genomik DNA'lar ile iyi kalitede PCR ürünlerinin elde edilmesi mümkün olduğundan tüm örneklerin DNA'ları bu yöntem kullanılarak izole edilmiştir. Bu yöntemde, 2,5 gr genç yaprak dokusu tartılarak bir behere konulur ve üzerine 12,5 ml % 96'lık etil alkol eklenerek 30 dk bekletilir. Bekleyen örnekler porselen havan içine alınıp iyice ezildikten sonra, üstüne 12,5 ml % 96'lık etil alkol eklenerek alkolün tamamen uçması için çeker ocak altına alınır. Alkol tamamen uçurulduktan sonra örnekler havan eli ile tekrar iyice ezilerek izolasyona hazır hale getirilir. Toz haline getirilen yapraklardan 1 gr tartılarak 15 ml'lik falkon tüpe alınarak üzerlerine 4 ml CTAB tamponu (100 mM Tris-HCl pH 8,00, 1.4M NaCl, 20 mM EDTA, % 0,2'lik CTAB) ve % 0,2'lik  $\beta$ -merkaptoethanol eklenir ve daha

önceden 65°C'a getirilmiş su banyosunda her 15 dk bir vorteksleme yapmak suretiyle 1 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon bitiminde örneklerin üzerlerine 2 ml kloroform: izoamilalkol (24:1) eklenir ve karıştırılır, 8400 rpm'de 20 dk santrifüjleme yapıldıktan sonra sıvı faz alınarak, bu basamak 1 defa daha tekrarlanır. Üst faz alınarak temiz bir tüpe konulduktan sonra üzerine 2/3 oranında -20°C'ta bekletilen izopropanol eklenir, hafifçe karıştırılır ve 8400 rpm'de 5 dk santrifüj işlemine tabi tutulur. Santrifüj sonrası üst faz dökülerek, oluşmuş olan pellet'in üzerine % 76'lık EtOH ve 10 mM'lık amonyum asetat stok çözeltisinden 2 ml eklenir, 8400 rpm'de 5 dk santrifüje tabi tutulur. Tüpte bulunan üst faz döküldükten sonra tüp içine 500 µl TE (10 mM Tris-HCl p H 7,6, 1 mM EDTA pH 8,00) buffer eklenerek pelletlerin çözünmesi sağlanır. Çözünmüş olan pelletler içine 8 µl RNase (10 mg/ml) eklenir ve 37°C'ta 3 saat inkübasyona bırakılır. İnkübasyon sonrası çözelti içine 750 µl Fenol: Kloroform: İzoamilalkol (1:1:1) eklenir ve 10 000 rpm'de 16 dk santrifüj işlemi uygulanır. Santrifüj sonrası alınan üst faz üzerine 750 µl Kloroform: İzoamilalkol (24:1) eklenir ve tekrar 10 000 rpm'de 16 dk santrifüj işlemi uygulanır. Santrifüj sonrası alınan üst faz üzerine alınan miktarın 3/10 katı kadar 7,5 M amonyumasetat ve 2 katı kadar % 76'lık EtOH eklenir. Tüpler 10 000 rpm'de 16 dk santrifüj işlemine tabi tutulur. Santrifüj sonrası süper natant dökülür ve tüp dibinde kalan DNA'ların alkolden kurtulması için kurumaya bırakılır. Kurutma işleminden sonra tüp içine 500 µl TE solüsyonu eklenerek DNA'ların çözünmesi sağlanır.

#### **2.4 DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi**

İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyonları fluorometrik analiz yöntemiyle belirlenmiştir. Yapılan ölçüm sonucu DNA miktarları 4 200 ng ile 41 400 ng arasında değişmiştir. PCR uygulamaları için DNA örnekleri 10 ng / µl'ye seyreltilmiştir. Seyreltilmiş DNA örnekleri çalışma boyunca -20°C'ta saklanmıştır.

#### **2.5 RAPD Primerleri**

Bu çalışmada OPERON Technologies (Alameda, California)'ya ait OPA-OPG arasındaki 7 kitten toplam 30 adet 10 bazlık RAPD oligonükleotit primeri kullanılmıştır. Tüm bu primerler rastgele dizinden oluşuyor olup, hepsinin (G+C) içerikleri % 60 - % 70 arasındadır.

## 2.6 PCR Koşulları

Bu çalışmada kullanılan PCR koşulları Göçmen (1994) ve Göçmen (2001) esas alınarak çalışılan türe uygulanmıştır. Buna göre, optimum PCR karışımı 25 µl reaksiyon hacmi için 8 ng kalıp DNA, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 µM primer, 200 µM dNTP (her bir dNTP için), 1 ünite *Taq* DNA polimeraz, 2,5 µl PCR tamponu (10X'likten) ve 0,13 µl Tween-20'den oluşmuştur.

Eppendorf Mastercycler Gradient Thermalcyclers'da gerçekleştirilen PCR için optimum döngü sayısı 45 olarak kullanılmış ve her bir döngü 94°C'ta 1 dakika (denaturasyon), 37°C'ta 1 dakika (bağlanma) ve 72°C'ta 2 dakika (uzama)'dan oluşmuştur. 45 döngü sonunda oluşan PCR ürünleri, 72°C'ta 10 dakika süre ile döngü sonrası uzamaya tabi tutularak net bir hale getirilmiştir. PCR ürünleri % 1'lik agaroz jelde 80 V sabit akımda 180 dakika yürütülmüştür.

## 2.7 Populasyonların RAPD Analizinde İzlenen Strateji

Çalışma materyalini oluşturan 7 populasyona ait tüm bireylerin RAPD primeri ile çalışılmasındaki zorluktan dolayı, öncelikle bu 7 populasyonun bireyleri arasından rastgele seçilerek oluşturulan 5 bireylik bir alt populasyonda 30 primer taranmış ve en iyi sonuç alınan 20 primer tüm çalışma materyaline uygulanmıştır.

## 2.8 Verilerin Analizi

Populasyonlara ait RAPD bant desenleri Vilber Lourmant Infinity-115 jel görüntüleme cihazı yardımıyla görüntülenmiştir. Bu tek lokustaki segregasyon verisinin değerlendirilmesinde bantın bulunması "1", bulunmaması "0" , hiç PCR ürünü saptanmaması ise "." ile gösterilmiş ve POPGENE Versiyon 1.31 (Yeh vd., 1997) bilgisayar programı kullanılarak analiz edilmiştir. Analizde, populasyon içi ve populasyonlar arası varyasyonu değerlendirmek için aşağıdaki parametreler kullanılmıştır:

- 1) Çalışılan populasyonlara ait gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ ) ve ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ ),
- 2) Polimorfik lokus oranı ( %  $P$  ),
- 3) Nei'nin genetik çeşitliliği ( $H_e$ ),
- 4) Toplam genetik çeşitlilik ( $H_T$ ),

- 5) Populasyon içi genetik çeşitlilik ( $H_S$ ),
- 6) Populasyonlar arası genetik çeşitlilik ( $D_{ST}$ ),
- 7) Gen akışı ( $Nm$ ),
- 8) Genetik uzaklık( $D_N$ ),
- 9) Genetik farklılaşmanın göreceli düzeyi ( $G_{ST}$ ).

Bu parametrelere ilişkin açıklamalar Velioğlu vd. (2002)'ye göre aşağıda verilmiştir.

### 2.8.1 Allel sayısı

Genetik varyasyonun bir diğer göstergesi de lokus başına düşen allel sayısıdır ( $N_a$ ). Allelik zenginlik olarak da anılan bu ölçüt örnek sayısından etkilenmekte ve aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır (Nei, 1987)

$$\text{Ortalama}(n_a) = \frac{\sum_i n_{a_i}}{r}$$

Bu formülde,

**$n_{ai}$** :  $i$  lokusunun allel sayısı

**$r$** : Lokus sayısı'dır.

### 2.8.2 Etkili allel sayısı

Kimura ve Crow (1978) tarafından geliştirilen bu ölçüt homozigotluğun tersidir ve aşağıdaki formülle hesaplanır. Bu formülde,

$$N_e = 1 / \sum x_i^2$$

**$N_e$** : Etkili allel sayısı

**$x_i$** :  $i$  allelinin frekansı'dır.

### 2.8.3 Polimorfik lokus oranı

Bir çalışmada kullanılan örnek sayısı yeterince yüksekse, genetik varyasyon polimorfik lokus oranı ve ortalama heterozigotlukla tespit edilebilir. En yaygın allelinin ( $x_i$ ) frekansı 0,99 veya 0,95'e eşit veya az ise o lokusa polimorfik denmektedir. Bu çalışmada 0,99 kriteri kullanılmıştır (Nei, 1987). Polimorfik lokus oranı ( $P$ ) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$P = \frac{n_p}{r}$$

Bu formülde,

$n_p$ : polimorfik lokus sayısı

$r$ : lokus sayısı'dır.

### 2.8.4 G-istatistiği

POPGENE Version 1.31 (Yeh vd., 1997) bilgisayar programından elde edilen Nei'nin G-istatistiği verileri değerlendirilerek kullanılmıştır. Nei'nin G-istatistiği, toplam genetik çeşitliliğin popülasyon içi ve popülasyonlar arasındaki dağılımını ve genetik farklılaşmanın göreceli düzeyini belirlemek için yapılan bir istatistiktir. Nei'nin G-istatistiği, Wright'ın F-istatistiğinin bir modifikasyonudur. Bunda  $H_S$ , popülasyon içi genetik çeşitliliği,  $H_T$ , toplam genetik çeşitliliği,  $D_{ST}$ , popülasyonlar arası genetik çeşitliliği ve  $G_{ST}$  ise genetik farklılaşmanın göreceli düzeyini gösterir ve aşağıdaki formüllere göre hesaplanır:

$$H_S = \frac{\sum_{j=1}^s \hat{h}_j}{s}$$

Bu formülde,

$\hat{h}_j$ :  $j$  popülasyonundaki beklenen heterozigotluk değeridir.

$$H_T = 1 - \sum_i x_{ia}^2$$

Bu formülde,

$x_i$  :  $i$  allelinin tüm populasyonlar için ortalama frekansdır.

$$D_{ST} = H_T - H_S$$

$$G_{ST} = D_{ST} / H_T$$

Wright'ın  $F_{ST}$  değeri ile Nei'nin  $G_{ST}$  değeri birbirine eşittir. Ayrıca,  $F_{ST}$  ( $G_{ST}$ ) kullanılarak populasyonlar arasındaki gen akışı ( $Nm$ ) aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$Nm = 0,5(1 - G_{ST}) / G_{ST}$$

Her generasyonda 1 bireyin göçü genetik sürüklenmeden kaynaklanan genetik varyasyon azalmasını önleyecektir. Bu değer populasyon büyüklüğünden bağımsızdır. Eğer  $Nm$  değeri 1'den küçükse populasyonlar arası farklılaşma gözlenmektedir (Wright, 1951)

### 2.8.5 Genetik Uzaklık

Populasyonlar arasındaki genetik farklılaşma düzeyini saptayabilmek amacıyla, çalışılan populasyonlar arasındaki genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri (Nei, 1978)' de POPGENE Version 1.31 bilgisayar programı ile elde edilmiştir. Sonuçların görsel bir ifadesini elde edebilmek için bu ( $D_N$ ) değerleri ve UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average) yöntemi kullanılarak bir dendrogram da aynı bilgisayar programı ile elde edilmiştir. Genetik uzaklık populasyon (ya da tür) çiftleri arasındaki gen farklılıklarının büyüklüğüdür. Bu değerler genellikle geometrik uzaklıklarla eşitir, yani uzaklık değerinin "0" olması farklılık olmadığına işarettir. Benzerlik ( $I$ ) ve uzaklık ( $D$ ) değerleri birbirine komplementerdir ( $I+D=1$ ).

En fazla kullanılan genetik uzaklık değeri Nei'nin Genetik Uzaklığıdır (Nei, 1972).

$$I = \frac{J_{xy}}{(J_x J_y)^{1/2}}$$

$$J_{xy} = \sum_i^m x_i y_i \quad J_x = \sum_i^m x_i^2 \quad J_y = \sum_i^m y_i^2$$

**I:** x ve y populasyonlarının genetik benzerliğidir.

**i x ve i y:** i allelinin x ve y populasyonlarındaki frekanslarıdır.

Çalışılan tüm lokuslar için  $J_{xy}$ ,  $J_x$  ve  $J_y$  toplanıp lokus sayısına bölünerek tüm alleller için ortalaması alınmaktadır. Elde edilen ortalama değerler ( $J_{xy}$ ,  $J_x$ ,  $J_y$ ) genetik uzaklık ( $D'$ ) ve benzerliğin tahmininde kullanılmaktadır x,  $J_y$ ) genetik uzaklık ( $D'$ ) ve benzerliğin tahmininde kullanılmaktadır.

$$I' = \frac{J'_{xy}}{(J'_x J'_y)^{1/2}} \quad D' = -\ln I'$$

### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI

#### 3.1. Otuz RAPD Primerinin Alt Populasyonda Taranmasına İlişkin Bulgular

Çalışılan 7 yabancı zeytin populasyonu ve 8 kültür zeytini çeşidine ait toplam 92 birey arasından rasgele seçilerek oluşturulan 5 bireylik alt populasyonun 30 primerle taranması sonucunda, 1 primerin (OPB-09) alt populasyon bireylerinin hiç birinde RAPD bandı oluşturmadığı, geriye kalan 29 primerin ise en az 2 polimorfik bant ürettiği görülmüştür. Buna göre çalışılan tür için polimorfik RAPD primerlerinin bulunma oranı % 96,67 olarak saptanmıştır. Taranan primerin oluşturduğu toplam bant sayısı 520 olup bu bantların 332'si (% 63,85) polimorfiktir. Primer başına ortalama bant sayısı 17, primer başına ortalama polimorfik bant sayısı ise 11'dir. Yirmidokuz primer tarafından oluşturulan RAPD ürünlerinin büyüklükleri 250 ile 10.000 baz çifti aralığında değişmiştir (Tablo 1). Beş bireylik alt populasyonda primerlerin taranması çalışmasına ilişkin örnek bir jel fotoğrafı şekil 8'de sunulmuştur.

Taranan primerlerin en fazla ürettikleri toplam bant sayıları 26-31 arasında olup 5 primer tarafından üretilmiştir. Primerlerin büyük çoğunluğunun (8 primer) 21-25 arasında toplam bant sayısına sahip oldukları görülmüştür. Buna karşılık toplam bant sayısı 1-5 arasında değişen sadece 3 primer saptanmıştır. En çok bant üreten primer OPA-10 (31 bant), en az bant üreten primerler ise OPB-04 ile OPC-03 (4 bant)'tür (Tablo 1, 2).

29 polimorfik primer arasında en fazla polimorfik bant üreten 2 primer, 20 polimorfik bant sayısı ile OPA-01 ile OPF-09 olmuştur. Bu primerlerin büyük çoğunluğunun (10 primer) 6-10 arasında değişen sayılarda polimorfik bant oluşturdukları saptanmıştır. OPB-04 ise, 2 polimorfik bant sayısı ile, en az polimorfik bant üreten primer olmuştur (Tablo1, 2).

Taranan 30 primer arasından en polimorfik, tekrarlanabilirliği en yüksek ve net bant üreten 20 primer seçilmiş ve tüm yabancı populasyonlara ve çeşitlere uygulanmıştır. Bütün bireylere uygulanan primerler Tablo 1'de kalın puntolarla ve yıldız simgesiyle işaretlenmiştir.

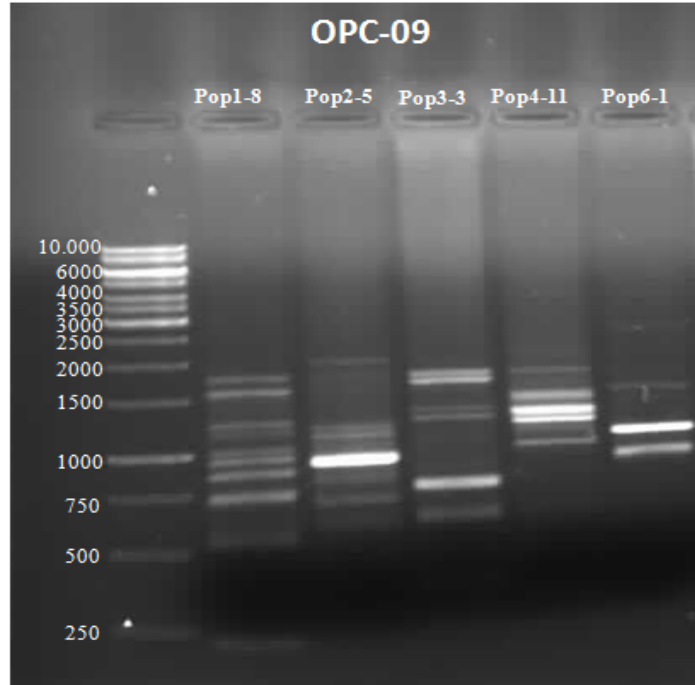
**Tablo 1.** Beş bireylik alt populasyonda taranan primerler

	<b>Primer Kodu</b>	<b>Primer Dizini (5'-3')</b>	<b>Toplam Bant Sayısı</b>	<b>Bant Uzunluk Aralığı (bp)</b>	<b>Polimorfik Bant Sayısı</b>
1	<b>OPA-01*</b>	CAGGCCCTTC	24	250-2100	20
2	<b>OPA-02*</b>	TGCCGAGCTG	26	250-2200	16
3	<b>OPA-04*</b>	AATCGGGCTG	28	300-2200	14
4	<b>OPA-05*</b>	AGGGGTCTTG	18	500-1700	18
5	<b>OPA-07*</b>	GAAACGGGTG	26	250-3100	16
6	<b>OPA-10*</b>	GTGATCGCAG	31	300-3100	10
7	<b>OPB-01*</b>	GTTTCGCTCC	19	600-10000	6
8	OPB-04	GGA CTGGAGT	4	800-2250	2
9	<b>OPB-05*</b>	TGCGCCCTTC	23	450-3000	6
10	<b>OPB-07*</b>	GGTGACGCAG	22	500-2600	11
11	OPB-08	GTCCACACGG	7	550-900	4
12	OPB-09	TGGGGGACTC	-	-	-
13	OPC-01	TTCGAGCCAG	5	650-1600	5
14	OPC-03	GGGGGTCTTT	4	850-1250	3
15	<b>OPC-04*</b>	CCGCATCTAC	20	300-2000	7
16	OPC-05	GATGACCGCC	7	750-2500	7
17	<b>OPC-09*</b>	CTCACCGTCC	19	500-2500	17
18	<b>OPD-02*</b>	GGACCCAACC	23	500-2600	14
19	<b>OPD-03*</b>	GTCGCCGTCA	19	550-2500	19
20	<b>OPD-05*</b>	TGAGCGGACA	24	250-3000	12
21	OPD-08	GTGTGCCCCA	11	750-4000	10
22	OPE-01	CCCAAGGTCC	9	750-2000	7
23	<b>OPE-09*</b>	CTTCACCCGA	26	300-2200	17
24	<b>OPF-01*</b>	ACGGATCCTG	21	500-3500	13
25	OPF-03	CCTGATCACC	8	900-3000	8
26	OPF-05	CCGAATTCCC	8	900-2400	8
27	<b>OPF-06*</b>	GGGAATTCGG	25	400-4000	14
28	<b>OPF-09*</b>	CCAAGCTTCC	20	400-2200	20
29	<b>OPG-02*</b>	GGCACTGAGG	23	300-3500	18
30	<b>OPG-03*</b>	GAGCCCTCCA	20	650-2500	10

\* Çalışılan tüm yabancı populasyon ve çeşitlere uygulanan primerler.

**Tablo 2.** Primerler tarafından üretilen toplam bant ve toplam polimorfik bant sayıları

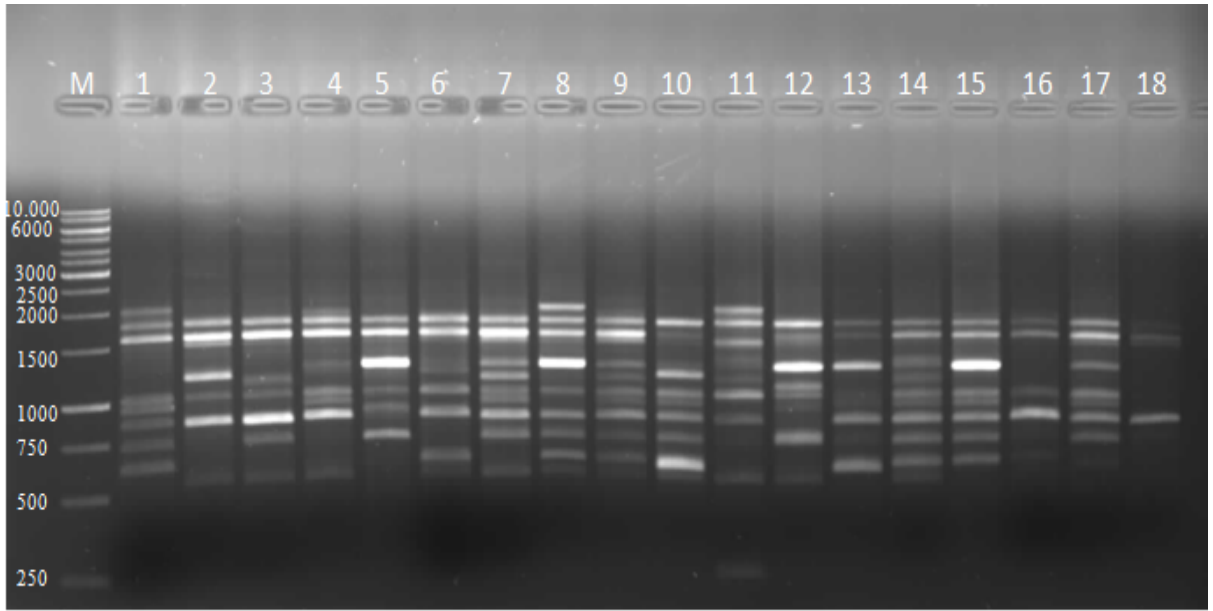
Toplam Bant Sayısı	Primer Sayısı	Polimorfik Bant Sayısı	Primer Sayısı
0	1	0	-
1-5	3	1-5	4
6-10	5	6-10	10
11-15	1	11-15	6
16-20	7	16-20	9
21-25	8		
26-31	5		



Şekil 8. OPC-09 primerinin 5 bireylik alt populasyonda oluşturduğu bant desenleri

### 3.2. Yirmi Polimorfik Primere Göre Yabani Zeytin Populasyonlarının Genetik Yapıları

Toplam 84 yabani bireye uygulanan 20 primerin analizi sonucu toplam 457 lokus saptanmış, bu lokuslardan 441 tanesinin (% 96,50) polimorfik olduğu belirlenmiştir. Şekil 9'da tüm bireylere uygulanan primerlerden OPA-01'in Pop-4'ün 18 bireyinde oluşturduğu RAPD bant desenleri sunulmuştur.



Şekil 9. Populasyon 4'ün 18 bireyinde OPA-01 primeri ile saptanan RAPD bant desenleri

#### 3.2.1. Populasyon içi ve populasyonlar arası genetik çeşitliliğe ilişkin bulgular

##### 3.2.1.1. *polimorfik lokus oranı*

0,99 kriterine göre, çalışılan yabani populasyonlarda ortalama polimorfik lokus oranı % 38,42 olarak bulunmuştur. En düşük polimorfik lokus oranına sahip olan populasyon % 31,29 değeri ile Pop 7 olmuştur. Pop 5 ise % 47,05 değeri ile en yüksek polimorfik lokus oranına sahip populasyondur (Tablo 3).

##### 3.2.1.2 *allel sayısı*

Genetik çeşitliliğin bileşenlerinden birisi olan ortalama gözlenen allel sayısı ( $N_a$ ), bütün populasyonlar için  $1,38 \pm 0,48$ , ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ ) ise  $1,20 \pm 0,33$

olarak bulunmuştur (Tablo 3). Bütün lokuslar için ise gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ )  $1,96 \pm 0,18$ , ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ )  $1,32 \pm 0,32$  olarak bulunmuştur (Tablo 4). Çalışılan populasyonlarda  $1,31 \pm 0,46$  ile en düşük ' $N_a$ ' değerine sahip populasyon Pop 7 iken,  $1,47 \pm 0,50$  ile en yüksek " $N_a$ " değerine sahip populasyon Pop 5 olmuştur (Tablo 3).

### 3.2.1.3 *Nei'nin genetik çeşitliliği (heterozigotluk)*

Bu çalışmada *Nei*'nin genetik çeşitlilik değeri ( $h$ ) tüm RAPD lokusları için ortalama  $0,20 \pm 0,16$  olarak bulunmuştur (Tablo 4). Çalışılan populasyonlar için ise bu değer ortalama  $0,12 \pm 0,18$ 'dir (Tablo 3). En fazla genetik çeşitlilik  $0,14 \pm 0,18$  değeri ile Pop 5'de saptanırken, en düşük genetik çeşitlilik ise  $0,10 \pm 0,17$  değeri ile Pop 7'de saptanmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Çalışılan yabani zeytin populasyonlardaki populasyon içi ve populasyonlar arası çeşitliliğe ilişkin genetik parametreler

Populasyonlar	Ortalama Örnek Sayısı	Polimorfik Lokus Yüzdesi (%)	$N_a$	$N_e$	$H_e$
Pop 1	10	38,29	$1,38 \pm 0,49$	$1,21 \pm 0,33$	$0,12 \pm 0,18$
Pop 2	12	37,64	$1,38 \pm 0,48$	$1,20 \pm 0,33$	$0,12 \pm 0,18$
Pop 3	9	35,01	$1,35 \pm 0,48$	$1,19 \pm 0,32$	$0,11 \pm 0,18$
Pop 4	16	44,64	$1,45 \pm 0,50$	$1,22 \pm 0,33$	$0,13 \pm 0,18$
Pop 5	14	47,05	$1,47 \pm 0,50$	$1,24 \pm 0,34$	$0,14 \pm 0,18$
Pop 6	7	35,01	$1,35 \pm 0,48$	$1,19 \pm 0,33$	$0,12 \pm 0,18$
Pop 7	8	31,29	$1,31 \pm 0,46$	$1,18 \pm 0,32$	$0,10 \pm 0,17$
<b>ORTALAMA</b>	10,86	38,42	$1,38 \pm 0,48$	$1,20 \pm 0,33$	$0,12 \pm 0,18$

$N_a$  : Gözlenen allel sayısı.

$N_e$  : Etkili allel sayısı.

$H_e$  : *Nei* (1973)'nin genetik çeşitlilik değeri.

Tablo 4. Çalışılan yabancı zeytin populasyonları için tüm RAPD lokuslarına ait ortalama örnek sayısı, gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ ), ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ ), Nei'nin genetik çeşitliliği ( $H_e$ )

$N_a$	$N_e$	$H_e$
$1,96 \pm 0,18$	$1,32 \pm 0,32$	$0,20 \pm 0,16$

### 3.2.1.4 G-istatistiği

G-istatistiğine göre, 457 RAPD lokusundaki toplam genetik çeşitlilik ( $H_T$ )  $0,20 \pm 0,03$  olarak bulunmuştur. Bunun  $0,12 \pm 0,01$  (% 60)'sini populasyon içi genetik çeşitlilik ( $H_S$ ) ve  $0,08$  (% 40)'ini ise populasyonlar arası genetik çeşitlilik ( $D_{ST}$ ) oluşturmaktadır. Yine 457 lokus bazında, genetik farklılaşma katsayısı ( $G_{ST}$ )  $0,40$  olarak bulunmuştur (Tablo 5). Her bir lokus için saptanan  $H_T$ ,  $H_S$  ve  $G_{ST}$  değerleri ve bu değerlerin her bir primer tarafından saptanan lokuslar için ortalama değerleri Ek-1'de sunulmuştur.

Lokuslarda  $G_{ST}$ , 0,00 ile 1,00 arasındaki değerlerde değişmiştir. En düşük  $G_{ST}$  değerlerine sahip 3 lokus, 0,00 ile OPA 05-500, OPA 07-3100, OPA 10-2100 lokuslarıdır. En yüksek  $G_{ST}$  değerlerine sahip 11 lokus, 1,00 ile OPA 01-300, OPA 05-1600, OPA 05-1500, OPA 05-1100, OPA 05-700, OPA 07-3000, OPB 01-2000, OPC 04-550, OPD 02-1250, OPD 05-750, OPG 02-1300 lokusları olmuştur (Ek 1).

Tablo 5. Çalışılan yabancı zeytin populasyonları için hesaplanan gen çeşitliliği, genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri.

$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$N_m$
$0,20 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,01$	0,40	0,76

$H_T$  : Toplam genetik çeşitlilik.

$H_S$  : Populasyon içi genetik çeşitlilik.

$G_{ST}$  : Genetik farklılaşmanın göreceli düzeyi.

$N_m$  : Gen akış düzeyi.

### 3.2.1.5 gen akış düzeyi ( $Nm$ )

Bu çalışmada örneklenen yabani populasyonlar için hesaplanan gen akış düzeyi değeri ( $Nm$ ) 0,76'dır (Tablo 5). Her bir lokus için saptanan  $Nm$  değeri ve bu değerin her bir primer tarafından saptanan lokuslar için ortalamaları Ek-1'de sunulmuştur.

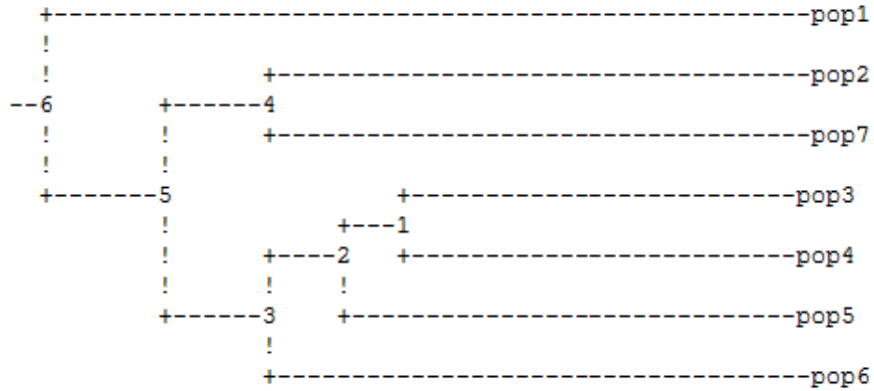
### 3.2.1.6 populasyonlar arasındaki genetik uzaklık ( $D_N$ )

Çalışılan populasyon çiftleri için Nei (1978)'in Standart Genetik Uzaklık ( $D_N$ ) değerleri hesaplanarak populasyonlar arasındaki genetik farklılaşmanın düzeyi saptanmıştır. 457 lokusa dayanılarak elde edilen  $D_N$  değerleri Tablo 6'da verilmiştir. En düşük genetik uzaklık,  $D_N=0,0675$  değeri ile, Pop 3 (Bergama) ve Pop 4 (Edremit) arasında bulunurken, en yüksek genetik uzaklık değeri ise,  $D_N=0,1430$  değeri ile, Pop 1 (Dikili) ve Pop 2 (Karaburun) arasında saptanmıştır (Tablo 6).

Populasyonlar arası genetik uzaklıkların görsel ifadesi,  $D_N$  değerleri ve UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average) yöntemi kullanılarak oluşturulan dendrogramda verilmiştir (Şekil 10). Dendrograma bakıldığında iki ana grup göze çarpmaktadır: Pop 2 (Karaburun) ile Pop 7 (Muğla)'nin oluşturduğu birinci grup ve Pop 3 (Bergama), Pop 4 (Edremit), Pop 5 (Burhaniye) ve Pop 6 (Ayvalık)'nin oluşturduğu ikinci grup. Bu her iki grubun ise Pop 1 (Dikili)'den köken aldığı görülmektedir (Şekil 10).

Tablo 6. Çalışılan yabani zeytin populasyonları arasındaki genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri (Nei 1978)

	Pop-1	Pop-2	Pop-3	Pop-4	Pop-5	Pop-6	Pop-7
Pop-1	****						
Pop-2	0,1430	****					
Pop-3	0,1150	0,1236	****				
Pop-4	0,1245	0,1061	0,0675	****			
Pop-5	0,1202	0,1164	0,0722	0,0825	****		
Pop-6	0,1288	0,1061	0,0917	0,0898	0,0892	****	
Pop-7	0,1333	0,0906	0,1058	0,1038	0,1108	0,0937	****



Şekil 10. Çalışılan yabancı zeytin populasyonlarının arasında saptanmış olan genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri ile UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average) yöntemi kullanılarak oluşturulan dendrogram

Yukarıdaki dendograma göre populasyonlar iki ana grup şeklinde kümelendi. Pop 1, birinci grubu oluştururken diğerlerine uzak populasyon olarak kümelendi. İkinci grupta bulunan populasyonlar kendi aralarında alt gruplar şeklinde kümelendi. Pop 2 ve Pop 7 birinci alt grubu oluştururken, Pop 3, Pop 4, Pop 5 ve Pop 6 ise ikinci alt grubu oluşturmaktadır.

### 3.2 Yirmi Polimorfik Primere Göre Çeşitlerin Genetik Yapıları

Sekiz kültür çeşidine ait bireylerin 20 polimorfik primerle analizi sonucu yabancı zeytin populasyonlarının analizinde saptanmış olan toplam 457 lokusun sadece 186 (% 40,70)'sı saptanmış ve bunlardan 137 (% 73,66)'sinin polimorfik olduğu görülmüştür. Her bir primer için çeşitlerde saptanan toplam lokus ve toplam polimorfik lokus sayıları Tablo 7'de sunulmuştur. Kültür çeşitleri ile yabancı populasyonlar arasında en fazla oranda (% 56,52) ortak lokus OPF-09 primeri ile saptanırken, en düşük oranda (% 21,43) ortak lokus ise OPA-04 primeri ile saptanmıştır. OPA-10 çeşitlerde en fazla sayıda (15) polimorfik lokus saptanan primer iken, OPB-05 ise en düşük sayıda (2) polimorfik lokus saptanan primer olmuştur (Tablo 7).

**Tablo 7.** Çeşitlerin 20 polimorfik RAPD primeri ile analizi sonucunda her bir primer için saptanan toplam lokus ve polimorfik lokus sayıları

<b>Primer Kodu</b>	<b>Çeşitlerde Saptanan Toplam Lokus Sayısı</b>	<b>Yabanilerde Saptanan Toplam Lokus Sayısı</b>	<b>Yabanilerde Kaybedilen Toplam Lokus Oranı</b>	<b>Polimorfik Lokus Sayısı</b>
<b>OPA-01</b>	24	12	%50,00	10
<b>OPA-02</b>	26	10	% 61,54	6
<b>OPA-04</b>	28	06	% 78,57	5
<b>OPA-05</b>	18	10	% 44,44	3
<b>OPA-07</b>	26	11	% 57,69	8
<b>OPA-10</b>	31	16	% 48,39	15
<b>OPB-01</b>	19	9	% 52,63	8
<b>OPB-05</b>	23	6	%73,91	2
<b>OPB-07</b>	22	11	% 50,00	7
<b>OPC-04</b>	20	8	% 60,00	4
<b>OPC-09</b>	19	7	% 63,16	7
<b>OPD-02</b>	23	6	% 73,91	5
<b>OPD-03</b>	19	6	% 68,42	5
<b>OPD-05</b>	24	9	% 62,50	5
<b>OPE-09</b>	26	11	% 57,69	8
<b>OPF-01</b>	21	11	% 47,62	9
<b>OPF-06</b>	25	10	% 60,00	9
<b>OPF-09</b>	23	13	% 43,48	11
<b>OPG-02</b>	20	5	% 75,00	3
<b>OPG-03</b>	20	9	% 55,00	7
<b>TOPLAM</b>	<b>457</b>	<b>186</b>	<b>% 59,30</b>	<b>137</b>

### 3.3.1 Çeşitler arası genetik çeşitliliğe ilişkin bulgular

Çalışılan 8 kültür zeytini çeşidi için tüm RAPD lokuslarına ait gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ )  $1,33 \pm 0,47$ , ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ )  $1,20 \pm 0,33$  ve heterozigotluk ( $H_e$ ) ise  $0,12 \pm 0,18$ 'dir (Tablo 8). Toplam genetik eşitlilik ( $H_T$ ) ise  $0,08 \pm 0,04$  olarak bulunmuş ve beklendiği gibi bu çeşitliliğin tümünün çeşitler arası genetik çeşitlilikten ( $D_{ST}$ ) kaynaklandığı görülmüştür. Çalışılan çeşitlerin birbirlerinden tamamen farklı olduklarının bir göstergesi olarak da genetik farklılaşma katsayısı ( $G_{ST}$ )  $1,00 \pm 0,00$  ve çeşitler arası gen akış değeri ( $Nm$ )  $0,00$  olarak bulunmuştur.

Tablo 8. Çalışılan kültür zeytini eşitleri için tüm RAPD lokuslarına ait gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ ), ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ ), Nei'nin genetik eşitliliği ( $H_e$ )

$N_a$	$N_e$	$H_e$
$1,33 \pm 0,47$	$1,20 \pm 0,33$	$0,12 \pm 0,18$

Tablo 9. Çalışılan kültür zeytini eşitleri için hesaplanan gen çeşitliliği, genetik farklılaşma ve gen akış değerleri

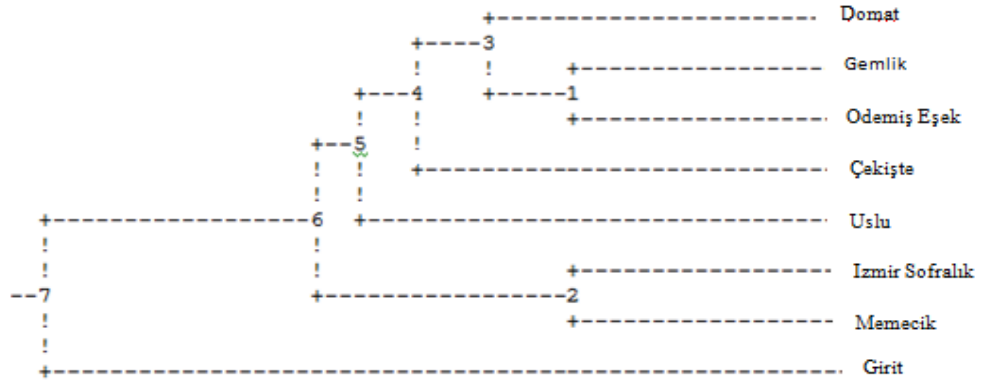
$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm$
$0,08 \pm 0,04$	$0,00 \pm 0,00$	$1,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$

Yzseksenaltı lokus esas alınarak, çalışılan çeşit çiftleri için Nei (1978)'in Standart Genetik Uzaklık ( $D_N$ ) değerleri Tablo 10'da verilmiştir. En düşük genetik uzaklık,  $D_N=0,1159$  değeri ile, demiş Eşek Zeytini ve Gemlik eşitleri arasında bulunurken, en yüksek genetik uzaklık ise,  $D_N=0,3946$  değeri ile, İzmir Sofralık ve Girit eşitleri arasında saptanmıştır (Tablo 10).

Tablo 10. Çalışılan kültür zeytini çeşitleri arasındaki genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri (Nei, 1978)

Çeşitler	Domat	Çekişte	Girit	İz.Sof.	Gemlik	Ödemiş Eş.	Uslu	Memecik
<b>Domat</b>	****							
<b>Çekişte</b>	0,1766	****						
<b>Girit</b>	0,2611	0,3501	****					
<b>İzmir</b>	0,2139	0,2469	0,3946	****				
<b>Sofralık</b>								
<b>Gemlik</b>	0,1433	0,2004	0,3165	0,1793	****			
<b>Ödemiş</b>	0,1585	0,1637	0,2928	0,1688	0,1159	****		
<b>Eşek</b>								
<b>Uslu</b>	0,1924	0,2582	0,3564	0,2526	0,1740	0,2004	****	
<b>Memecik</b>	0,2442	0,2668	0,3785	0,1183	0,2358	0,1924	0,2442	****

Çeşitler arasındaki genetik uzaklıkların görsel ifadesi,  $D_N$  değerleri ve UPGMA yöntemi kullanılarak oluşturulan dendrogramda verilmiştir (Şekil 11). Dendrogramdan da görüleceği üzere, çeşitler iki ana grupta toplanmışlardır: Yakın geçmişte Uslu çeşidinden köken almış olan Çekişte, Domat, Gemlik ve Ödemiş Eşek Zeytini çeşitlerinin oluşturduğu birinci grup ve İzmir Sofralık ve Memecik Çeşitlerinin oluşturduğu ikinci grup. Girit Çeşidinin ise uzak bir geçmişte her iki gruba köken verdiği görülmektedir (Şekil 11).



Şekil 11. Çalışılan kültür zeytini çeşitleri arasında saptanmış olan genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri ile UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average) kullanılarak oluşturulan dendrogram

Yukarıdaki dendrograma göre populasyonlar iki ana grup şeklinde kümelenmiştir. Girit populasyonu, ikinci grubu oluştururken diğerlerine uzak populasyon olarak kümelenmiştir. Birinci grupta bulunan populasyonlar kendi aralarında alt gruplar şeklinde kümelenmiştir. Memecik ve İzmir Sofralık birinci alt grubu oluştururken, Uşlu, Çekişte, Ödemiş Eşek, Gemlik, Domat ise ikinci alt grubu oluşturmaktadır.

### 3.4 Yirmi Polimorfik Primere Göre Çalışılan Yabani Zeytin Populasyonları ve Kültür Zeytini Çeşitlerinin Birlikte Değerlendirilmesi Sonucu Elde Edilen Bulgular

Seksendördünü yabani populasyonlara ait bireylerin, 8'inde çeşitlere ait bireylerin oluşturduğu toplam 92 bireyden oluşan çalışma materyalinin 20 primerle vermiş oldukları sonuçların birlikte değerlendirilmesi sonucunda, saptanan 457 lokustan 455 tanesinin (% 99,56) polimorfik olduğu saptanmıştır. Tüm materyal için tüm lokuslara ait gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ )  $2,00 \pm 0,07$ , ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ )  $1,33 \pm 0,31$  ve heterozigotluk ( $H_e$ ) ise  $0,21 \pm 0,16$  olarak bulunmuştur.

Tablo 11. Çalışılan yabani zeytin populasyonları ve kültür zeytini çeşitleri için tüm RAPD lokuslarına ait gözlenen ortalama allel sayısı ( $N_a$ ), ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ ) ve Nei'nin genetik çeşitliliği ( $H_e$ )

$N_a$	$N_e$	$H_e$
2,00 ± 0,07	1,33 ± 0,31	0,21 ± 0,16

Toplam genetik çeşitlilik ( $H_T$ ) 0,19 ± 0,03 olarak bulunmuştur. Bunun 0,06 ± 0,00 (% 31,58)'sını populasyon içi genetik çeşitlilik ( $H_S$ ) ve 0,13 (% 68,42)'ünü ise populasyonlar arası genetik çeşitlilik ( $D_{ST}$ ) oluşturmaktadır. Genetik farklılaşma katsayısı ( $G_{ST}$ ) 0,69 ve gen akış düzeyi ( $Nm$ ) 0,22 olarak bulunmuştur (Tablo 12).

Tablo 12. Çalışılan yabani zeytin populasyonları ve kültür zeytini çeşitleri için hesaplanan gen çeşitliliği, genetik farklılaşma ve gen akışı değerleri.

$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm$
0,19 ± 0,03	0,06 ± 0,00	0,69 ± 0,00	0,22 ± 0,00

$H_T$  : Toplam genetik çeşitlilik.

$H_S$  : Populasyon içi genetik çeşitlilik.

$G_{ST}$  : Genetik farklılaşmanın göreceli düzeyi.

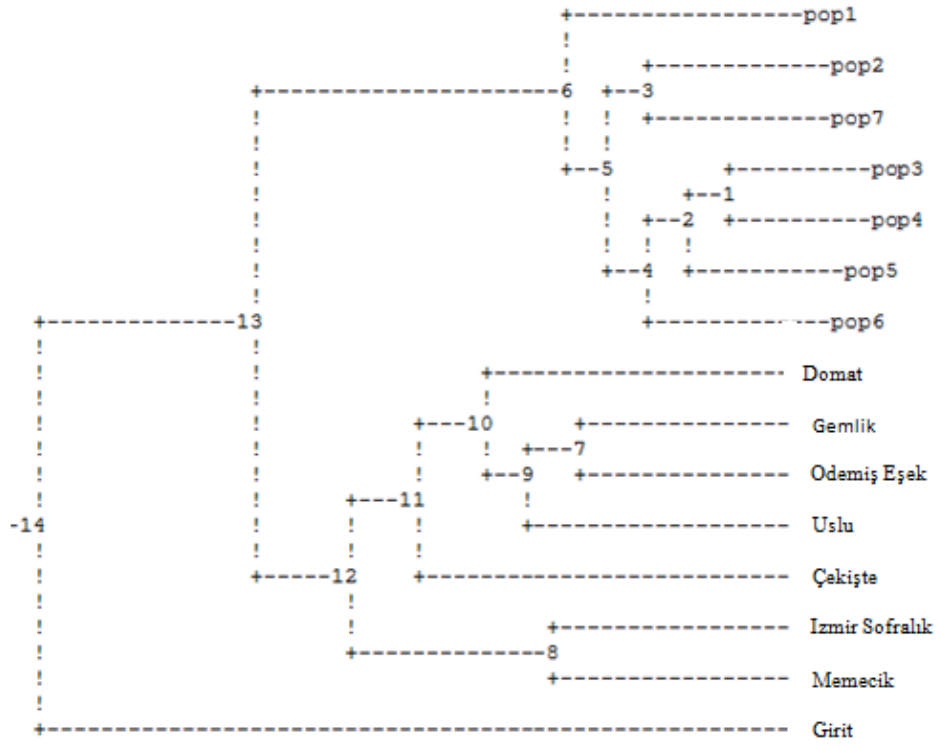
$Nm$  : Gen akış düzeyi

Yabani zeytin populasyonları ve kültür zeytini çeşitlerinin birlikte değerlendirilmesi sonucu elde edilen Nei (1978)'in Standart Genetik Uzaklık ( $D_N$ ) değerleri Tablo 13'de verilmiştir. En düşük genetik uzaklık,  $D_N= 0,0676$  değeri ile, Pop 3 (Bergama) ve Pop 4 (Edremit) arasında bulunurken, en yüksek genetik uzaklık ise,  $D_N=0,4061$  değeri ile, Pop 5 (Burhaniye) populasyonu ve Girit çeşidi arasında saptanmıştır (Tablo 13). Saptanan bu  $D_N$  değerleri ve UPGMA yöntemi kullanılarak oluşturulan dendrogram Şekil 12'de verilmiştir. Dendrogramdan görüleceği üzere,

Çalışılan 7 yabani zeytin populasyonu ve 8 kültür çeşidinden de Girit eşidi hariç 7'si kendi aralarında olmak üzere iki farklı ana grupta toplanmışlardır. Girit eşidi ise bu iki ana grubun dışında ve kökeninde yer almıştır.

Tablo 13. Çalışılan yabancı zeytin populasyonları ve kültür zeytini çeşitleri arasındaki genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri (Nei 1978)

	Pop-1	Pop-2	Pop-3	Pop-4	Pop-5	Pop-6	Pop-7	Domat	Çekişte	Girit	İz.Sof.	Gemlik	Ö. Eş.	Uslu	Memecik
<b>Pop-1</b>	****														
<b>Pop-2</b>	0,1280	****													
<b>Pop-3</b>	0,1019	0,1201	****												
<b>Pop-4</b>	0,1099	0,1027	0,0676	****											
<b>Pop-5</b>	0,1081	0,1149	0,0725	0,0825	****										
<b>Pop-6</b>	0,1138	0,1015	0,0908	0,0899	0,0892	****									
<b>Pop-7</b>	0,1178	0,0887	0,1063	0,1038	0,1108	0,0937	****								
<b>Domat</b>	0,2213	0,2382	0,2235	0,2291	0,2207	0,2058	0,2228	****							
<b>Çekişte</b>	0,2827	0,2887	0,2890	0,2905	0,2689	0,2828	0,2937	0,1766	****						
<b>Girit</b>	0,3796	0,3968	0,3890	0,3779	0,4061	0,3976	0,3911	0,2611	0,3501	****					
<b>İzmir Sof.</b>	0,3092	0,3351	0,3169	0,3331	0,2941	0,3102	0,3037	0,2139	0,2469	0,3946	****				
<b>Gemlik</b>	0,2305	0,2330	0,2332	0,2360	0,2303	0,2148	0,2266	0,1433	0,2004	0,3165	0,1793	****			
<b>Ö.Eş.</b>	0,2224	0,2381	0,2414	0,2358	0,2247	0,2165	0,2272	0,1585	0,1637	0,2928	0,1688	0,1159	****		
<b>Uslu</b>	0,2148	0,2363	0,2157	0,2268	0,2107	0,2060	0,2057	0,1560	0,1978	0,3256	0,2085	0,1332	0,1483	****	
<b>Memecik</b>	0,2954	0,3409	0,2966	0,3126	0,2801	0,3005	0,3061	0,2442	0,2668	0,3785	0,1183	0,2358	0,1924	0,1898	****



Şekil 12. Çalışılan yabani zeytin populasyonları ve kültür zeytini çeşitleri arasında saptanmış olan genetik uzaklık ( $D_N$ ) değerleri ile UPGMA (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Average) yöntemi kullanılarak oluşturulan dendrogram

#### 4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Tarımsal üretimde amaç, bitkinin verim potansiyeline ulaşabilmesi için gerekli girdileri sağlayarak en üst düzeyde verim elde etmektir. Bunun yanı sıra bitkinin kullanım amacına bağlı olarak ürün kalitesinin de en üst düzeylerde tutulması hedeflenir. Tüm bunların gerçekleşebilmesi için ise bitkinin çeşitli biyotik (viral, bakteriyel, fungal enfeksiyonlar, böcek zararlıları vb.) ve abiyotik (kuraklık, soğuk, tuzluluk, mikroelement azlığı veya fazlalığı vb.) stres faktörlerine karşı dirençli olması gerekir. Her geçen gün artan dünya nüfusunun gereksinimlerini karşılamak için ise tarımı yapılan bitkilerin hemen tümünde yukarıda bahsedilen unsurların gerçekleştirilebilmesi için yeni çeşitlerin geliştirilmesi zorunludur. Bu amaçla yapılacak çalışmalarda ıslahçının en büyük yardımcısı ise “Bitkisel Gen Kaynakları”dır (Şehirli ve Özgen, 1987). Artan gereksinimi karşılayabilmek için ıslahçılar, geçmişe oranla günümüzde daha geniş genetik kaynağa gereksinim duymaktadırlar. Kültür bitkilerinin yabani formları, ilkel kültür çeşitleri ya da yerel ırklar bu genetik kaynağın en değerli materyallerini oluşturmakta olup, sıklıkla bitkilerin kültüre alındığı doğal alanlarda bulunmaktadır.

Günümüzde genetik kaynaklar konusu çok sayıda ülkede hükümetlerin dikkatini çekmekte, konu uluslararası düzeyde de ele alınmaktadır. Genetik kaynaklara karşı ilgi ve duyarlılık her geçen gün artmaktadır. Geçmişte üç temel doğal kaynak olarak değerlendirilen toprak, su ve havaya, yakın bir geçmişte “genetik kaynaklar” dördüncü temel doğal kaynak olarak eklenmiş bulunmaktadır. Genetik kaynaklar, canlıların gelişimini yönlendiren genleri içerir. Bu genlerin farklı kombinasyonları geçmişte ve günümüzde yapılmış, gelecekte yapılacak bitki ıslahı çalışmaları için son derece önemli olan genetik çeşitliliği oluşturmaktadır. Başta konunun ilgilileri olmak üzere tüm insanlık, geleceği güvence altına alabilmek için bu çok değerli genlerin korunmasından sorumludur (Şehirli vd., 2009).

Bitki genetik kaynakları yönünden kendine yeterli olmak, bütün ana germplasm sistemlerinin hedefidir. Ancak bunu hiçbir ülke tek başına gerçekleştiremeyeceği için ulusal ve uluslar arası kuruluşlar oluşturulmuş, genetik kaynakların gelecek için korunması ve saklanması amacıyla paylaşımları gereği de kavranmıştır (Şehirli vd., 2009).

Her ne kadar genetik kaynakların korunarak geleceğe aktarılmasına verilen önem yeni yeni artmakta ise de bu fikrin en az yazılı tarih kadar eski olduğu Sümer ve Mısır'lılara ait kaynaklardan anlaşılmaktadır. Yakın tarihimizde ise, bitkilerin çeşitliliği ve yabani akrabaların önemini ilk açıklayan ve onları toplayan kişi N. I. Vavilov'dur. Kendisi bitkilerin "Orijin Merkezleri" hipotezini de formüle etmiştir. Türkiye'de bitki genetik kaynaklarının toplanması ve değerlendirilmesi konusundaki çalışmalar ise ilk kez, XX. Yüzyılın ilk çeyreğinde Mirza Gököl'ün Türkiye'nin her yanından binlerce buğday örneğini toplaması ve karakterize etmesi ile başlamıştır.

Bilindiği üzere Türkiye, tarih boyunca çok sayıda uygarlığın geçiş yolu olmuş ve bunlardan bazılarında da ev sahipliği yapmıştır. İnsan topluluklarının hareketi, çok sayıda kültür bitkisinin yabani türlerinin bir yerden bir yere taşınmasına yol açmış, bu yolla genetik çeşitliliğin artmasına katkıda bulunulmuştur. Bu nedenle Türkiye, bitki genetik kaynakları yönünden çok özel bir konuma sahiptir. Vavilov (1994)'un açıklamış olduğu çeşitlilik ve orijin merkezlerinden Akdeniz ve Yakın Doğu Merkezleri Türkiye'de örtüşmektedir. Bir başka deyişle Türkiye çok sayıda önemli kültür bitkisi ve diğer bitki türlerinin orijin ya da çeşitlilik merkezidir. Bu çalışmanın konusunu oluşturan, ekonomik değeri çok yüksek bir bitki olan zeytin bitkisi de bunlardan birisi olup, anavatanı olarak "Yukarı Mezopotamya" yani Anadolu'nun Mardin, Kahraman Maraş ve Hatay üçgenini içeren bölge gösterilmektedir. Zeytin, çok uzun yıllara dayanan tarımı nedeniyle, ciddi anlamda genetik erozyona uğramış olmakla birlikte kültür formları doğal olarak bulunan yabani formlarını baskılamış olduğundan günümüzde pek çok bölgede yabancılar de yok olmuştur (Quazzani vd., 1993). Kalanların ise Akdeniz kıyılarında kısıtlı alanlarda sınırlı kaldığı bilinmektedir (Zohary ve Spiegel-Roy, 1975). Ülkemiz yabancı zeytin popülasyonları bakımından çok özel bir konuma sahip olup, sahip olunan zeytinliklerinin büyük bir çoğunluğu doğal florada bulunan yabancı zeytin (delice) üzerine aşı yapılarak kültüre alınmış zeytinliklerden oluşmaktadır (Aykas, 1998). Dünyanın diğer zeytincilik bölgelerinde görülmeyen bu durum, zeytin ağacının anavatanının günümüz Türkiye'si olabileceği görüşünü desteklemenin yanı sıra, yabancı zeytin kaynaklarının korunması ve ıslah amaçlı kullanımları konularında ülkemize özel fırsatlar sunarken, beraberinde de ciddi sorumluluklar yüklemektedir.

Ancak, ne yazık ki, tüm zeytin üreticisi ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de kültür çeşitlerinin genetik karakterizasyonlarına verilen öncelik nedeniyle, yabancı popülasyonların çeşitliliğine ilişkin çalışmalar geri planda kalmış, literatürdeki önemli konularını yeni yeni almaya başlamışlardır. Gerçekleştirilen bu çalışma ile, ülkemiz zeytin alanlarının % 55,11'ine ve zeytin ağacı toplamının % 75,83'üne sahip bulunan batı kıyılarından örneklenen yabancı zeytin popülasyonlarına ilişkin çeşitlilik bilgisi ilk kez ortaya konulmuş ve yaygın olarak kullanılan kültür çeşitlerinden 8'i de genetik olarak karakterize edilmek suretiyle yabancı ve kültür formları arasındaki genetik ilişki saptanmaya çalışılmıştır.

Çalışmada, toplam 84 yabancı bireye uygulanan 20 primerin analizi sonucu toplam 457 lokus saptanmış ve bu lokusların 441 tanesinin (% 96,50) polimorfik olduğu görülmüştür. Diğer taraftan popülasyonlardaki ortalama polimorfik lokus oranı % 38,42 olarak bulunmuştur. En düşük polimorfik lokus oranına sahip popülasyon % 31,29 değeri ile Pop 7, en yüksek polimorfik lokus oranına sahip popülasyon ise % 47,05 değeri ile Pop 5 olmuştur. Bu oranlar diğer bazı yapraklı ağaç türlerine göre düşüktür. Örneğin, Huang vd. (1998) Amerikan kestanesinde polimorfik lokus oranını % 79,2 olarak saptarken, Yeh vd. (1995) de titrek kavaktaki polimorfik lokus oranını % 90 olarak saptamışlardır. Hamrick vd. (1992) tarafından sınırlı alanlarda dağılım gösteren diğer odunsu türler için saptanan ortalama değer % 61,5, Hamrick ve Goth (1996) tarafından uzun yaşayan çok yıllık allogam türler için gösterilen ortalama değer ise % 65,5 olup, yine çalışılan popülasyonlarda saptanmış olan oraların üzerindedir.

Popülasyonlardaki etkili allel sayıları ( $N_e$ ) beklendiği gibi gözlenen allel sayılarından ( $N_a$ ) düşük bulunmuştur. Çünkü, öldürücü alleller etkili allel sayısına dahil edilmediğinden, etkili allel sayısı gözlenen allel sayısından her zaman daha düşük olacaktır. Gözlenen allel sayısı sadece bütün alleller aynı frekansta olduğu zaman etkili allel sayısına eşit olacaktır (Kimura ve Crow, 1978).

RAPD lokusları için hesaplanan ortalama gözlenen allel sayısı ( $N_a$ ), bütün popülasyonlar için  $1,38 \pm 0,48$ , ortalama etkili allel sayısı ( $N_e$ ) ise  $1,20 \pm 0,33$  olarak bulunmuştur. Bu değerler, diğer yapraklı türler için elde edilen değerlere göre düşüktür. Örneğin, yine Huang vd. (1998)'in Amerikan kestanesinde RAPD belirteçlerini kullanarak yapmış oldukları çalışmada  $N_a=1,80$  ve  $N_e=1,57$  olarak

hesaplanmıştır. Hamrick vd. (1992)'de de sınırlı alanlarda dağılım gösteren diğer odunsu türler için  $N_a$ 'nın ortalama değeri 2,08 olarak bildirilmektedir.

Genetik çeşitliliğin önemli bileşenlerinden birisi olan heterozigotluğun tüm yabancı popülasyonlar için ortalaması  $0,12 \pm 0,18$  olarak hesaplanmıştır. Bu değer, Hamrick vd. (1992)'nin diğer odunsu türler için vermiş oldukları ortalama değere (0,16) yakın iken, diğer bazı yapraklı türler için saptanmış olan değerlere göre çok düşük kalmaktadır. Örneğin, Yeh vd. (1995)'in titrek kavakta bulmuş oldukları değer 0,65'dir.

RAPD analizinden elde edilen  $H_T$ ,  $H_S$  ve  $G_{ST}$  değerleri (Ek-1) saptanan tüm lokuslarda farklı bulunmuştur. Bu durum, her popülasyondaki her bir lokusun çevresel faktörlerdeki değişimlerden bağımsız olarak etkilendiğini göstermektedir. Toplam genetik çeşitliliğin büyük bir kısmını (% 60) popülasyon içi çeşitliliğin oluşturduğu görülmüştür.  $G_{ST} = 0,40 > 0,25$  olup, Wright (1978)'in kriterine göre popülasyonlar arasında büyük oranlarda farklılaşmanın olduğuna işaret etmektedir. Hamrick ve Goth (1996), uzun yaşayan çok yıllık allogam türler için ortalama  $G_{ST}$  değerini 0,094 olarak bildirmekte olup, yabancı zeytin popülasyonları için saptanmış olduğumuz değer çok altındadır. Saptanan  $G_{ST}$  değerini destekler nitelikte, örneklenen yabancı zeytin popülasyonları için hesaplanan ortalama gen akış düzeyi  $Nm = 0,76$  olmuştur. Bu değer 1'den küçük olduğu için popülasyonlar arasında genetik sürüklenme nedeniyle farklılaşmanın başladığını, ancak 0,5'ten büyük olduğu için henüz sürüklenmenin bir sonucu olarak farklılaşmanın kritik bir durum olmadığını yani gen akışının genetik sürüklenmeyi henüz önleyecek düzeyde olduğunu söyleyebiliriz. Ledig (1998),  $Nm$  değerlerini kızılbaş için 4,8, pıral meşesi için 5,3, kestane için 3,5 ve Avrupa kayını için 3,9 olarak bildirmektedir.

Tüm bitki kaynaklarımız için tehdit oluşturan unsurlar, yabancı zeytin gen kaynaklarımız için de geçerlidir. Bunların başında hızlı nüfus artışına paralel olarak artan şehirleşme, endüstrileşme, yol ve baraj yapımları, tarımsal faaliyetler (aşırı otlatma, aşırı gübre ve tarımsal ilaç kullanımı, yüksek verimli çeşitlerin yaygınlaşması) ve turizm sektöründeki hızlı gelişmeler gelmektedir. Yoğun insan aktiviteleri nedeniyle yayılış alanları çok hızlı bir şekilde daralmakta olan ve günümüzde varlıklarını çoğunlukla parçalanmış popülasyonlar halinde sürdürmeye çalışan, sadece ülkemizin değil zeytincilikte çok önemli bir alan olan Akdeniz

Havzası'nın bu önemli gen kaynağına ait populasyonlarda saptamış olduğumuz bu düşük çeşitlilik ve populasyonlar arası yüksek farklılaşma oranları, tüm bu zeytin alanları için ciddi bir *in-situ* korumanın önemine işaret etmektedir. Doğal dağılış alanlarının büyük bir çoğunluğunun ülkenin önemli turizm bölgelerinden Ege Bölgesi'nde olması nedeniyle *in-situ* korumayla birlikte *ex-situ* korumanın da uygulanması son derece gerekli görünmektedir.

Sekiz kültür çeşidine ait bireylerin 20 polimorfik primerle analizi sonucu yabancı zeytin populasyonlarının analizinde saptanmış olan toplam 457 lokusun sadece 186 (% 40,70)'sının saptanmış olması ise doğal yabancı populasyonlara oranla kültür çeşitlerindeki genetik erozyonun boyutlarını ortaya koymaktadır.

Diğer RAPD çalışmalarında olduğu gibi, bu çalışmada da RAPD belirteçlerinin iyi bilinen avantaj ve dezavantajları ile karşılaşılmıştır. Diğer genetik belirteçlere oranla uygulama kolaylığının olması, teorik olarak sınırsız sayıda üretilebilen rastgele RAPD primerleri ile çok sayıda lokusun taranabilmesi çalışmadaki en önemli avantajları oluştururken, dominant bir belirteç olması ve bazı primerler için tekrarlanabilirlik konusunda yaşanan sıkıntılar ise en önemli dezavantajları oluşturmuştur. Ülkemiz yabancı zeytin populasyonlarının genetik olarak ilk kez karakterize ediliyor olması nedeniyle, tüm genomun çok sayıda lokus bakımından taranması hedeflendiğinden, çalışma için en uygun DNA belirteç sistemi olarak RAPD seçilmiştir. Ancak, bu türde koniferlerde bulunan megagametofit gibi haploid bir dokunun bulunmaması nedeniyle belirtecin dominantlık dezavantajının ortadan kaldırılması mümkün olamamıştır. Buna karşılık, türde çok iyi çalışan, optimize edilmiş bir RAPD protokolünün kullanılması ve alt populasyonda taranan 30 primer arasından en polimorfik ve aynı zamanda tekrarlanabilirliği en fazla olan primerlerin seçilmesi ile de sistemin tekrarlanabilirlik konusundaki dezavantajı mümkün olan en yüksek oranda ortadan kaldırılmıştır.

Ülkemizin zeytincilikteki ve genel olarak bitki gen kaynakları bakımından dünyadaki konumunu dikkate aldığımızda, bu tez çalışması kapsamında elde edilen bulguların mevcut literatüre katkısının önemli olduğu düşünülmektedir. Ancak, ülkemizin diğer zeytin alanlarından örneklenecek daha çok sayıda yabancı zeytin populasyonunun ve ayrıca yaygın olarak kullanılmakta olan daha fazla kültür çeşidinin, sadece RAPD belirteçleri ile değil, diğer DNA belirteçleri ile de

karakterize edilmesi bu önemli ekonomik bitkimizdeki mevcut durumun daha net bir şekilde ortaya konularak, çok geç kalmadan, gelecek için gerçekçi koruma ve ıslah programlarının hayata geçirilebilmesi için büyük önem taşımaktadır.

## KAYNAKÇA

Altan, F., *Doğal Kahverenkli Pamukta (Gossypium hirsutum L.) Bağlantı Gruplarının Belirlenmesi, Lif Uzunluğu ve Lif Renk Genlerinin Haritalanması*. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, İzmir 2010

Augustinos, A. A., Mamuris Z., Stratikopoulus E.E., D'Amelio S., Zacharopoulou A., Mathiopoulos K.D., 2005. Microsatellite Analysis of Olive Fly Populations Inthe Mediterranean Indicates a Westward Expansion of the Species, *Genetica*, 125: 231–241

Angiolillo, A., Mencuccini, M., Baldoni, L., 1999. Olive Genetic Diversity Assessed usin Amplified Fragment Lenght Polymorphisms. *Theor. Appl. Genet*, 98: 411-421

Anonim, Tarımsal Yapı ve Üretim T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Ankara, 2000

Avise, J. C., 1994. *Molecular Markers, Natural History And Evolution*, Chapman & Hall. International Thomson Publishing, 3-359 p, New York

Aykas B., 1998. Zeytinciliğinin Genel Durumu. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Zeytin Yetiştiriciliği Kursu, İzmir, 40-41-43

Bandelj, D., Jakse, J., Javornik, B., 2004. Assessment of Genetic Variability of Olive Varieties by Microsatellite and AFLP Markers. *Euphytica*, 136: 93 -102

Barronca, D., Cimato, A., Fiorino, P., Rallo, L., Touzani, A., Castanẽda, C., Serafı'n, F., Trujillo, I., 2000. *World Catalogue of Olive Varieties*. Consejo Oleı'cola Internacional, Madrid, Espanã

Belaj, A., Trujillo I, De la Rosa R, Rallo L., 2001. Polymorphism and Discrimination Capacity of Randomly Amplified Polymorphic Markers in an Olive Germplasm Bank. *J Am Soc Hortic Sci.*, 126: 64–71

Belaj, A., Satovic Z, Rallo L, Trujillo I., 2002. Genetic Diversity and Relationships in Olive (*Olea europaea* L.) Germplasm Collections as Determined by Amplified Polymorphic DNA. *Theor Appl Genet.*, 105: 638–644

Besnard G., Bervillé A., 2000. Multiple Origins for Mediterranean Olive (*Olea europaea* L. ssp *europaea*) Based Upon Mitochondrial DNA Polymorphismis. *Life Sci*, 323:173-181

- Besnard, G., Breton, C., Baradat, P.H., Khadari, B., Berville', A., 2001. Cultivar Identification in Olive Based on RAPD Markers. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 126: 668–675
- Besnard, G., Rubio de Cassas R, Vargas P., 2007. Plastid and Nuclear DNA Polymorphism Reveals Historical Processes of Isolation and Reticulation in the Olive Tree Complex (*Olea europaea*). *Journal of Biogeography*, 34: 736-752
- Breton, C., Pinatel C., Fre'de' ric Me' dail , Bonhomme F., Berville' A., 2008. Comparison Between Classical and Bayesian Methods to Investigate the History of Olive Cultivars Using SSR-Polymorphisms. *Plant Science*, 175: 524–532
- Bretting, P. K. and Widrlechner, M. P., 1995. Genetic Markers and Horticultural Germplasm Management. *Hort. Sci.*, 30 (7): 1349-1356
- Bronzini De Caraffa, V., Maury, J., Gambotti, C., Breton, C., Berville, A., Giannettini, J., 2002. Mitochondrial DNA Variation and RAPD Mark Oleasters, Olive and Feral Olive from Western and Eastern Mediterranean. *Theor Appl Genet.*, 104:1209-1216
- Carriero, F., Fontanazza, G., Cellini, F., Giorio, G., 2002. Identification of Simple Sequence Repeats (SSRs) in Olive (*Olea europaea* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 104: 301–307
- Cipriani, G., Marrazzo, M.T., Marconi, R., Cimato, A., Testolin, R., 2002. Microsatellites Markers Isolated in Olive are Suitable for Individual Fingerprinting and Reveal Polymorphism Within Ancient Cultivars (*Olea europaea* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 104: 223–228
- Cravia, T., Dünya Zeytin Ansiklopedisi, 1997
- Cullings, K.W., 1992. Design and Testing of A Plant Specific PCR Primer for Ecological and Evolutionary Studies. *Mol. Ecol.*, 1: 233–240
- Çalışkan, M., *RAPD Analizi İle Güllerde ( Rosa sp.) Genetik Tanımlama*. Doktora Tezi, Ankara Üniv, Ankara 2005
- De La Rosa, R., James, C.M., Tobutt, K.R., 2002. Isolation and Characterization of Polymorphic SSRs in Olive (*Olea europaea* L.) and Their Transferability to Other Genera in the Oleaceae. *Mol. Ecol. Notes*, 2: 265–267
- Dellaporta, S.L., Wood, J., Hicks, J.B., 1983. A Plant DNA Minipreparation: Version II. *Plant Mol.Biol.Rptr.*,1: 19-21

Di'az, A., Marti'n, A., Rallo, P., Barranco, D., De la Rosa, R., 2006. Selfincompatibility of 'Arbequina' and 'Picual' Olive Assessed by SSR Markers. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 131: 250–255

Doğaç, E., *Türkiye'deki Relikt Endemik Sığıla Ağacı (Liquidambar orientalis Mill. var. orientalis ve L.Orientalis Mill. var. integriloba Fiori) Populasyonlarındaki Genetik Çeşitliliğin RAPD Belirteçleri Yardımıyla Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Muğla, 2008

Doyle J.J. and Doyle J.L., 1987. A Rapid DNA isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochem Bull*, 19: 11-15

Doyle, J.J. and Doyle, L.H., 1988. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. *Focus*, 12 (1): 13-15

Do, N., Adams, R.P., 1991. A Simple Technique for Removing Plant Polysaccharides Contaminants from DNA. *Bio Techniques*, 10:162-166

Erlich H.A., Gelfald D. ve Sninsky L., 1991. Recent Advances in the Polymerase Chain Reaction, *Science.*, 252: 1643-1650

Fabbri, A., Hormaza JI, Polito VS., 1995. Random Amplified Polymorphic DNA Analysis of Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars. *J Am Soc Hortic Sci.*, 120:538–542

Fang, G., Hammer, S., Grumet, R., 1992. A Quick and Inexpensive Method for Removing Polysaccharides from Plant Genomic DNA. *Bio Techniques*, 13 (1): 52-56.

Ganino, T., Beghè, D., Valenti, S., Nisi, R., Fabbri, A., 2006. RAPD and SSR markers for characterization and identification of ancient cultivars of *Olea europaea* L. in the Emilia region, Northern Italy, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54:1531–1540

Gemas, V.J.V., Almadanim, M.C., Tenreiro, R., Martins, A., Fevereço, P., 2004. Genetic Diversity in the Olive Tree (*Olea europaea* L. subsp. *Europaea*) Cultivated in Portugal Revealed by RAPD and ISSR Markers. *Genet. Resour. Crop Evol.*, 51: 501–511

Gil, F., Busconi, M., da Ca'mara, A., Fogher, C., 2006. Development and Characterization of Microsatellite Loci from *Olea europaea*. *Mol. Ecol. Notes*, 6: 1275–1277

Göçmen, B., *Single Tree Genetic Linkage Mapping of Taxus brevifolia Nutt. Based on Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers Using DNA from Haploid Megagametophytes*. Master Thesis, The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara 1994

Göçmen, B., *Genetic Characterization Of 150 F6-Inbred Durum Wheat Lines Derived From Kunduru-1149 x Cham-1 Cross Using Molecular Markers And Economically Important Traits*, PhD Thesis, The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara 2001

Green, P.S., Wickens G.E., 1989. *The Olea europaea Complex*. In: Tan K (ed) The Davis and Hedge Festschrift. Edinburgh University Pres, Edinburgh, 287-299p.

Guerin, J.R., Sweeney, S.M., Collins, G.G., Sedgley, M., 2002. The Development of A Genetic Database to Identify Olive Cultivars. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 127: 977–983

Hamrick, J.L., Godt M.J.W., 1992. Shermen-Broyless SL., Factors Influencing Levels of Genetic Diversity in Woody Plant Species, *New Forests*, 6:95-124

Hamrick, J.L. & Godt M.J.W., 1996. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 351. 1291-1298

Hess, J., Kadereit JW, Vargas P., 2000. The Colonization History of *Olea europaea* L. in Macaronesia Based on Internal Transcribed Spacer 1 (ITS -1) Sequences, Randomly Amplified Polymorphic DNAs (RAPD), and Intersimple Sequences Repeat (ISSR). *Mol Ecol.*, 9: 857–868

Huang, H., Dane F., Kubisiak TL., 1998. Allozyme and RAPD analysis of the genetic diversity and geographic variation in wild populations of the *American chestnut* (Fagaceae), *American Journal of Botany*, 85: 1013-1021

İlıkçı, R., *Bazı Zeytin Klonlarında RAPD Markörleri Kullanarak Genetik İlişkinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniv., Balıkesir, 2003

Innis, M.A., Gelfald, D.H., 1990. *PCR Protocols: A Guide to Methods An Application*, Academic Pres, San Diego, USA

Karakır, N., 1992. Zeytin Üretimi, İklim ve Toprak İstekleri İle Hasılat Şekilleri, *Standart* , 31; 372

- Karp, A., Issar, P.G. and Ingram, D.S., 1998. *Molecular tools for screening biodiversity*. Chapman & Hall, London
- Kimura, M., Crow, J.M., 1978. Effect of Overall Phenotypic Selection On Genetic Change At Individual Loci. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Washington. 75: 6168-6171
- Lavee, S., 1990. Aims, Methods and Advances in Breeding of New Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars. *Acta Hort.*, 286: 23-26
- Ledig, F. T. 1998. Genetic diversity in tree species: with special reference to conservation in Turkey and the Eastern Mediterranean, *The Proceedings of International Symposium on in situ Conservation of Plant Genetic Diversity*, CRIFC, 1998, Turkey, : 249-256p
- R.C. Lewontin, 1972. The apportionment of human diversity, *Evolutionary Biology* 6 : 381-398
- Loumou, A., Giourgo, C., 2003. Olive Groves. The life and identity of the Mediterranean. *Agriculture and Human Values*, 20: 87-95
- Lui, B.H., 1998. *Statistical Genomics. Linkage, Mapping and QTL Analysis*. CRC Press, 2000 n.W. Corporate Blvd., Boca Raton, Florida 33431, 66-75 p
- Madhavalatha, L., Sekhar, M.R., Sunnetha, Y., Sirinivas, T., 2005. Studies on Isozyme Variability in Rice (*Oryza sativa* L.), *Oryza* 42(4) 333:335
- Malyshev, S.V. and Kartel, N.A., 1997. Molecular Markers In Mapping Plant Genomes, *Molecular Biology*, 31(2): 163-171
- Mazzolani, G., Altamura B., 1977-1981. *Elementi Per La Revisione Del Genere Olea* (Tourn). *Linn. Ann. Botanica* 36; 463-469, 37; 127-154, 38; 140-172, 39; 177-196
- Mekuria, G.T., Collins, G.G., Sedgley, M., 1999. Genetic variability between different accessions of some common commercial olive cultivars. *J. Hort. Sci. Biotech.*, 74:309-314
- Morettini, A., 1972. *Olivicoltura*, Ramo Editoriale Degli Agricoltori, Roma
- Nardi, F., Carapelli, A., Dallai, R., Roderick, G.K., Frati, F., 2005. Population Structure and Colonization History of the Olive Fly, *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae), *Molecular Ecology*, 14: 2729-2728

Nei, M., 1972. Genetic Distance Between Populations. *American Naturalist.*, 106:283-292

Nei, M., 1978. Estimation of Average Heterozygosity and Genetic, Distance from A Small Number of Individuals. *Genetic*, 89: 583-590

Nei, M., 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia Uni. Press, New York

Newbury, H.J. and Ford-Lloyd, B.V., 1993. The Use of RAPD for Assessing Variation in Plants. *Plant Growth Regulation*, 12: 43-51

Özkaya, M., Ülger, S., 2002. Bazı Yerli Ve Yabancı Zeytin ( *Olea europaea* L.) Çeşitlerinin RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) –PCR Tekniği Kullanarak Tanımlanması. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi-3358. Tarım ve Gıda Teknolojileri Araştırma Kurumu, Ankara

Özkaya, M.T., Ergülen, E., Ülger, S., Özilbey, N., 2004. Genetic and Biologic Characterization of Some Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars Grown in Turkey *J. Agric .Sci.*, 10: 231-236

Özkaya, M.T., Cakir, E., Gokbayrak Z., Ercan H., Taksın N., 2006. Morphological and Molecular Characterization of Derik Halhali Olive (*Olea europaea* L.) Accessions Grown in Derik-Mardin Province of Turkey. *Scientia Horticulturae*, 108: 205 -209

Özkaya, M.T., Ergülen, E., Ülger, S., Özilbey, N., 2008. Molecular, Morphological and Oil Composition Variability Within Olive ( *Olea europaea* L.) At Semi-Arid Conditions, *J. Biotechnology and Equipment*, 22(2): 699-704

Özkaya, M.T., Ergülen, E., Ülger, S., Özilbey, N., 2009. Molecular Characterization of Some Selected Wild Olive ( *Olea oleaster* L.) Ecotypes Grown İn Turkey, *Acta Horticulturae* ,586:91-95

Pich, U., Schubert, I., 1993. ‘Miniprep Method for Isolation of DNA from Plants with A High Content of Polyfenols. *Nucl. Acids RE*, 21: 3328

Pasqualone, A., Caponio, F., Blanco, A., 2001. Inter-Simple Sequence Repeat DNA Markers for Identification of Drupes from Different *Olea europea* L. Cultivars. *Eur. Food Res. Technol.*, 213: 240–243

Quazzani, N., Lumaret, R., Villemur, P., Di-Giusto, F., 1993. Leaf Allozyme Variation in Cultivated and Wild Olive Tree (*Olea europea* L.) *J. Hered.*, 84:34-42

- Rafalski, J.A., Tingey, S.V. 1993. Genetic Diagnostics in Plant Breeding, RAPDs, Microsatellites and Machines. *TIG*, 9(8): 275-280
- Rallo, P., Dorado, G., Marti'n, A., 2000. Development of Simple Sequence Repeats (SSRs) in Olive Tree (*Olea europaea* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 101: 984–989
- Reale, S., Doveri, S., Di'az, A., Angiolillo, A., Lucentini, L., Pilla, F., Marti'n, A., Donini, P., Lee, D., 2006. SNP-Based Markers for Discriminating Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars. *Genome*, 49: 1193–1205
- Rugini, E., Lavee, S., 1992. Olive. In: *Hammerschlag, F.A., Litz, R.E. (Eds.), Biotechnology of Perennial Fruit Crops*. CAB Int., Wellingford, UK, 371–382 p.
- Saghai, Maarof, M.A., Solinam K.M., Jorgensen R.A., Allerd R.W., 1984. Ribosomal DNA Spacer Length Polymorphism in Barley: Medelian Inheritance, Chromosomal Location and Population Dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 81:8014–8018
- Sanchez, J.J., Goodman, M.M., Bird, R.M., Stuber, C.B., 2006. Isozyme and Morphological Variation in Maize of Five Andean Countries. *Maydica*, 51 (1) : 25-42
- Scarafani, A., Duranti, M., 2001. An Approach to Critical Assessment of the Experimental Conditions in Practical Molecular Biology: Isolation of Plant DNA. *Biochemistry and Molecular Biology Education, Science*, 9:21-23, 230-1350
- Sefc, M.S., Lopes, D., Mendonça, M., Rodrigues Dos Santos, L.M. Laimer, D. Camara Machado, A. Da Camara Manchado, 2000. Identification of Microsatellites Loci in Olive (*Olea europaea*) and Their Characterization in Italian and Iberian Trees, *Mol.Ecol.*, 9 : 1171 -1193
- Sesli, M. Yeğenoğlu, E.D., 2009a. RAPD-PCR Analysis of Cultivated Type Olives in Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8 (15): 3418-3423
- Sharma, R., Mahla, H.R., Mohapatra, T., Bhargava, S.C., Sharma, M.M., 2003. Isolating Plant Genomic DNA Without Liquid Nitrogen. *Plant Molecular Biology Reporter*, 21: 43–50
- Soller, M., Beckmann, J. S., 1983. Genetic Polimorphism in Varietal Identification and Genetic Improvement, *Theor. Appl. Genet.*, 67: 25-33
- Staub, J.E., Serquen, F.C., 1996. Genetic Markers, Map Construction And Their Application in Plant Breeding. *Horti Science*, 31 (5): 729-741

Şehirali, S., Özgen, M., 1987. *Bitki Genetik Kaynakları*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları ,Ankara, 1020 : 294

Şehirali, S., Özgen, M., Karagöz, A., Sürek, M., Adak, S., Güvenç, İ., Tan, A., Burak, M., Kaymak, H.Ç., 2009. Bitki Genetik Kaynaklarını Koruma Ve Kullanımı

Şeker, M., O. Tuzcu, P. Ollitrault, 2003 .Comparison of Nuclear DNA Content of Citrus Rootstock Populations by Flow Cytometry. *Plant Breeding*, 122(2): 169–172

Şeker, M., Kaynaş, N., Kuzucu, F.C., 2003. Önemli Zeytin Çeşitleri ve Tipleri İle Anaç Populasyonlarının İzoenzim Polimorfizmleri ve Genetik Özellikleri. Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Tarım Orman ve Gıda Teknolojileri Araştırma Grubu-2788, Çanakkale

Şeker, M., 2008. *Subtropik Meyveler*. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını, Çanakkale

Şeker, M., Gül, M.K., İpek, M., Kaleci, N., Yücel, Z., Yılmaz, E., Topak, U., 2008. Zeytin (*Olea europaea* L.) Çeşitlerinin AFLP ( Amplified Fragment Length Polymorphism) ve SSR ( Simple Sequence Repeats) Makörleri Polimorfizminin Yağ Asitleri ve Tokoferol Düzeyleri ile İlişkilendirilmesi. Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi-2559, Çanakkale

Tanksley, S. D., Young, N. D., Paterson, A. H. and Bonierbale, M. W., 1983. RFLP Mapping in Plant Breeding: New Tools for An Old Science, *Biotechnology*, 47:257-264

Trujillo, I., Rallo L, Arús P, 1995. Identifying Olive Cultivars by Isozyme Analysis. *J Am Soc Hortic Sci.*, 120:318–324

Tunalıoğlu, R., 2002. Zeytinyağı. *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü Bakış*, 1(4): 1-4

Turrill W. B., 1951. Wild and Cultivated Olives, *Kew Bull.*, 3: 437-442

Vavilov, N., 1994. *Origin and Geography of Cultivated Crops*. Cambridge Univ. Press. U.K

Velioğlu, E., Çengel, B., İçgen, Y., Kandemir, G., Alan, M., Kaya, Z., 2002. Moleküler Belirteçler Yardımıyla Karaçam (*Pinus nigra* Arnold subspecies *pallasiana* (Lamb.) Holmboe) Tohum Meşcerelerinde, Tohum Bahçelerinde ve Ağaçlandırmalarında Bulunan Genetik Çeşitliliğin Karşılaştırılması

Welsh, J. and M C Clelland, M., 1990. Fingerprinting Menomes Using PCR with Arbitrary Primers. *Nucleic Acids Res.*, 18: 7213-7218

Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalski, J.A., Tingey, S.V., 1990. DNA Polimorphisms Amplified by Arbitrary Primers are Useful as Genetic Markers. *Nucl. Acids Res.*, 18: 6531-6535

Wright S., 1951. The Genetical Structure of Populations. *Annals of Eugenics.*, 15: 323-354

Yeh, F.C., Chong, D.K.X., Yang, R-C., 1995. RAPD Variation Within and Among Natural Populations of Trembling Aspen (*Populus tremuloides* Michx.) From Alberta. *Journal of Heredity.*, 86: 454-460

Yeh, F.C., Yang, R., Boyle, T., 1997. POPGENE Version 1.31. Windows-based Software for Population Genetics Analysis

Zohary, D., 1973. *Geobotanical Foundations of The Middle East. Fisher, Swets and Zeitlinger* Stuttgart/Amsterdam, 739 p

Zohary, D., Spiegel-Roy, P., 1975. Beginnings of Fruit Growing in the Old World, *Science*, 187:319-327

Zohary, D., 1994. The Wild Genetic Resources of the Cultivated Olive. *Acta Horticulturae*, 356: 62 -65

## EKLER

## Ek 1.

**Tablo 14.** Çalışılan yabancı zeytin populasyonlarında saptanan 457 RAPD lokusu ve bu lokuslar için toplam genetik çeşitlilik ( $H_T$ ), populasyon içi genetik çeşitlilik ( $H_S$ ), genetik farklılaşma katsayısı ( $G_{ST}$ ) ve gen akış düzeyi ( $Nm$ ) değerleri.

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
OPA01-1	0,0146	0,0139	0,0443	10,7840
OPA01-2	0,0146	0,0139	0,0443	10,7840
OPA01-3	0,1230	0,1112	0,0954	4,7434
OPA01-4	0,0080	0,0078	0,0242	20,1208
OPA01-5	0,2594	0,1254	0,5166	0,4678
OPA01-6	0,0096	0,0094	0,0292	16,6200
OPA01-7	0,4964	0,3791	0,2363	1,6160
OPA01-8	0,3798	0,3347	0,1188	3,7104
OPA01-9	0,2535	0,0116	0,9541	0,0241
OPA01-10	0,4374	0,2976	0,3196	1,0643
OPA01-11	0,4233	0,1583	0,6262	0,2985
OPA01-12	0,2901	0,2241	0,2274	1,6990
OPA01-13	0,4624	0,3560	0,2301	1,6728
OPA01-14	0,2886	0,2518	0,1278	3,4129
OPA01-15	0,4062	0,3295	0,1888	2,1480
OPA01-16	0,0340	0,0321	0,0559	8,4454
OPA01-17	0,4940	0,4582	0,0723	6,4134
OPA01-18	0,0511	0,0428	0,1615	2,5955
OPA01-19	0,4443	0,4148	0,0663	7,0369
OPA01-20	0,0195	0,0184	0,0598	7,8646
OPA01-21	0,4633	0,4290	0,0740	6,2594
OPA01-22	0,0511	0,0428	0,1615	2,5955
OPA01-23	0,2449	0,0000	1,0000	0,0000
OPA01-24	0,0825	0,0773	0,0625	7,4993
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2396</b>	<b>0,1724</b>	<b>0,2290</b>	<b>5,3281</b>
OPA02-1	0,0456	0,0390	0,1434	2,9880
OPA02-2	0,2518	0,1493	0,4072	0,7280
OPA02-3	0,0707	0,0645	0,0883	5,1644
OPA02-4	0,0297	0,0270	0,0919	4,9421
OPA02-5	0,0587	0,0528	0,1013	4,4367
OPA02-6	0,0103	0,0100	0,0313	15,4529
OPA02-7	0,4821	0,2949	0,3883	0,7878
OPA02-8	0,2031	0,1661	0,1821	2,2459
OPA02-9	0,4687	0,0938	0,8000	0,1250
OPA02-10	0,1278	0,1041	0,1850	2,2023

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
OPA02-12	0,0694	0,0682	0,0170	28,8712
OPA02-13	0,4018	0,2687	0,3312	1,0095
OPA02-14	0,4617	0,3811	0,1746	2,3631
OPA02-15	0,3683	0,0807	0,7809	0,1403
OPA02-16	0,3480	0,2657	0,2364	1,6148
OPA02-17	0,4893	0,3726	0,2385	1,5960
OPA02-18	0,4472	0,0887	0,8018	0,1236
OPA02-19	0,2392	0,2106	0,1196	3,6805
OPA02-20	0,4891	0,3151	0,3557	0,9055
OPA02-21	0,0511	0,0428	0,1615	2,5955
OPA02-22	0,3179	0,0678	0,7866	0,1356
OPA02-23	0,0515	0,0471	0,0869	5,2529
OPA02-24	0,3473	0,1190	0,6572	0,2608
OPA02-25	0,2735	0,0390	0,8574	0,0832
OPA02-26	0,0121	0,0116	0,0367	13,1187
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2434</b>	<b>0,1353</b>	<b>0,3234</b>	<b>3,9136</b>
OPA04-1	0,4027	0,1818	0,5486	0,4115
OPA04-2	0,0132	0,0127	0,0402	11,9514
OPA04-3	0,0121	0,0116	0,0367	13,1187
OPA04-4	0,0582	0,0517	0,1108	4,0135
OPA04-5	0,1455	0,0706	0,5144	0,4719
OPA04-6	0,0375	0,0332	0,1171	3,7707
OPA04-7	0,2589	0,1403	0,4580	0,5916
OPA04-8	0,1044	0,0887	0,1507	2,8170
OPA04-9	0,1442	0,1107	0,2325	1,6510
OPA04-10	0,0701	0,0542	0,2265	1,7074
OPA04-11	0,1322	0,1115	0,1567	2,6900
OPA04-12	0,0146	0,0139	0,0443	10,7840
OPA04-13	0,3229	0,2926	0,0939	4,8271
OPA04-14	0,3182	0,2406	0,2437	1,5518
OPA04-15	0,2652	0,2382	0,1016	4,4191
OPA04-16	0,2833	0,2381	0,1596	2,6337
OPA04-17	0,1932	0,1303	0,3258	1,0348
OPA04-18	0,3539	0,3365	0,0490	9,7054
OPA04-19	0,2388	0,1484	0,3786	0,8206
OPA04-20	0,2473	0,1281	0,4821	0,5370
OPA04-21	0,1671	0,1466	0,1225	3,5822
OPA04-22	0,0103	0,0100	0,0313	15,4529
OPA04-23	0,4785	0,2603	0,4561	0,5963
OPA04-24	0,4706	0,3733	0,2068	1,9173
OPA04-25	0,1455	0,0706	0,5144	0,4719
OPA04-26	0,4991	0,2183	0,5627	0,3886
OPA04-27	0,4315	0,2337	0,4583	0,5911
OPA04-28	0,4957	0,2319	0,5322	0,4395

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2255</b>	<b>0,1492</b>	<b>0,2626</b>	<b>3,6767</b>
OPA05-1	0,1215	0,0891	0,2661	1,3787
OPA05-2	0,0874	0,0622	0,2880	1,2360
OPA05-3	0,4082	0,0000	1,0000	0,0000
OPA05-4	0,2449	0,0000	1,0000	0,0000
OPA05-5	0,2579	0,0173	0,9331	0,0359
OPA05-6	0,4884	0,2764	0,4341	0,6518
OPA05-7	0,1048	0,0930	0,1129	3,9305
OPA05-8	0,2449	0,0000	1,0000	0,0000
OPA05-9	0,4492	0,0774	0,8277	0,1041
OPA05-10	0,2908	0,0516	0,8227	0,1077
OPA05-11	0,0183	0,0173	0,0559	8,4486
OPA05-12	0,2194	0,1754	0,2003	1,9965
OPA05-13	0,0000	0,0000	****	****
OPA05-14	0,4437	0,3302	0,2558	1,4543
OPA05-15	0,2449	0,0000	1,0000	0,0000
OPA05-16	0,1981	0,1341	0,3231	1,0475
OPA05-17	0,4276	0,2761	0,3543	0,9112
OPA05-18	1,0000	1,0000	0,0000	0,0000
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2916</b>	<b>0,1444</b>	<b>0,5220</b>	<b>1,2531</b>
OPA07-1	1,0000	1,0000	0,0000	0,0000
OPA07-2	2,0000	1,0285	1,0277	0,0738
OPA07-3	2,0000	1,0139	0,0137	0,0411
OPA07-4	2,0000	1,1242	0,1105	0,2233
OPA07-5	2,0000	1,2422	0,1950	0,3454
OPA07-6	2,0000	1,0929	0,0850	0,1819
OPA07-7	2,0000	1,0141	0,0139	0,0418
OPA07-8	2,0000	1,2677	0,2112	0,3669
OPA07-9	2,0000	1,0927	0,0848	0,1816
OPA07-10	2,0000	1,0285	0,0277	0,0739
OPA07-11	2,0000	1,1937	0,1623	0,3004
OPA07-12	2,0000	1,2058	0,1707	0,3122
OPA07-13	2,0000	1,3097	0,2365	0,3995
OPA07-14	2,0000	1,0472	0,0451	0,1098
OPA07-15	2,0000	1,0931	0,0852	0,1822
OPA07-16	2,0000	1,1735	0,1479	0,2797
OPA07-17	2,0000	1,1053	0,0953	0,1989
OPA07-18	2,0000	1,4789	0,3238	0,5048
OPA07-19	2,0000	1,0138	0,0137	0,0411
OPA07-20	2,0000	1,0860	0,0792	0,1720
OPA07-21	2,0000	1,8843	0,4693	0,6621
OPA07-22	2,0000	1,3993	0,2854	0,4597
OPA07-23	2,0000	1,1504	0,1307	0,2545
OPA07-24	2,0000	1,0584	0,0552	0,1292
OPA07-25	2,0000	1,0283	0,0275	0,0734
OPA07-26	2,0000	1,0426	0,0409	0,1014

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
<b>ORTALAMA</b>	<b>1,9615</b>	<b>1,1605</b>	<b>0,1591</b>	<b>0,2196</b>
OPA10-1	2,0000	1,0640	0,0601	0,1383
OPA10-2	2,0000	1,3671	0,2685	0,4393
OPA10-3	2,0000	1,1521	0,1320	0,2564
OPA10-4	2,0000	1,2489	0,1993	0,3512
OPA10-5	1,0000	1,0000	0,0000	0,0000
OPA10-6	2,0000	1,4667	0,3182	0,4983
OPA10-7	2,0000	1,0481	0,0459	0,1114
OPA10-8	2,0000	1,0481	0,0459	0,1114
OPA10-9	2,0000	1,0841	0,0775	0,1692
OPA10-10	2,0000	1,0708	0,0661	0,1491
OPA10-11	2,0000	1,2236	0,1827	0,3288
OPA10-12	2,0000	1,0491	0,0468	0,1132
OPA10-13	2,0000	1,0386	0,0371	0,0938
OPA10-14	2,0000	1,2754	0,2160	0,3731
OPA10-15	2,0000	1,0153	0,0151	0,0446
OPA10-16	2,0000	1,3024	0,2322	0,3941
OPA10-17	2,0000	1,0486	0,0464	0,1123
OPA10-18	2,0000	1,0821	0,0759	0,1623
OPA10-19	2,0000	1,2394	0,1932	0,3430
OPA10-20	2,0000	1,1003	0,0911	0,1922
OPA10-21	2,0000	1,1792	0,1522	0,2860
OPA10-22	2,0000	1,4272	0,2993	0,4763
OPA10-23	2,0000	1,1090	0,0938	0,2039
OPA10-24	2,0000	1,0317	0,0307	0,0804
OPA10-25	2,0000	1,7687	0,4346	0,6263
OPA10-26	2,0000	1,9750	0,4937	0,6868
OPA10-27	2,0000	1,4500	0,3104	0,4892
OPA10-28	2,0000	1,0707	0,0661	0,1491
OPA10-29	2,0000	1,4250	0,2982	0,4750
OPA10-30	2,0000	1,4015	0,2865	0,4610
OPA10-31	2,0000	1,1948	0,1631	0,3015
<b>ORTALAMA</b>	<b>1,9677</b>	<b>1,2244</b>	<b>0,1606</b>	<b>0,2779</b>
OPB01-1	0,1046	0,0678	0,3517	0,9215
OPB01-2	0,3302	0,0924	0,7203	0,1942
OPB01-3	0,0000	0,0000	****	****
OPB01-4	0,4706	0,1971	0,5812	0,3604
OPB01-5	0,4912	0,2034	0,5858	0,3535
OPB01-6	0,4923	0,1266	0,7429	0,1731
OPB01-7	0,4898	0,0000	1,0000	0,0000
OPB01-8	0,1592	0,1312	0,1757	2,3461
OPB01-9	0,0456	0,0390	0,1434	2,9880
OPB01-10	0,4274	0,3269	0,2351	1,6271
OPB01-11	0,0580	0,0473	0,1850	2,2020
OPB01-12	0,0375	0,0332	0,1171	3,7707
OPB01-13	0,0698	0,0600	0,1460	3,0563

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
OPB01-15	0,0792	0,0698	0,1186	3,7142
OPB01-16	0,0802	0,0592	0,2620	1,4083
OPB01-17	0,0000	0,0000	****	****
OPB01-18	0,0000	0,0000	****	****
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,1928</b>	<b>0,0880</b>	<b>0,3598</b>	<b>2,5047</b>
OPB05-1	0,0623	0,0499	0,1996	2,0046
OPB05-2	0,0332	0,0298	0,1030	4,3567
OPB05-3	0,1520	0,0851	0,4400	0,6365
OPB05-4	0,0733	0,0627	0,1442	2,9679
OPB05-5	0,0550	0,0454	0,1749	2,3596
OPB05-6	0,4413	0,3372	0,2360	1,6184
OPB05-7	0,0456	0,0390	0,1434	2,9890
OPB05-8	0,3843	0,1332	0,6534	0,2653
OPB05-9	0,0146	0,0139	0,0443	10,7840
OPB05-10	0,0623	0,0499	0,1996	2,0046
OPB05-11	0,1039	0,0774	0,2548	1,4626
OPB05-12	0,3671	0,1279	0,6516	0,2673
OPB05-13	0,4673	0,0984	0,7894	0,1334
OPB05-14	0,0183	0,0173	0,0559	8,4486
OPB05-15	0,0661	0,0601	0,0903	5,0354
OPB05-16	0,0305	0,0293	0,0395	12,1504
OPB05-17	0,1144	0,1067	0,0674	6,9201
OPB05-18	0,3423	0,2844	0,1692	2,4558
OPB05-19	0,4348	0,1849	0,5748	0,3698
OPB05-20	0,1953	0,1556	0,2034	1,9584
OPB05-21	0,2855	0,2249	0,2122	1,8563
OPB05-22	0,0694	0,0629	0,0939	4,8247
OPB05-23	0,0933	0,0796	0,1466	2,9098
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,1700</b>	<b>0,1024</b>	<b>0,2472</b>	<b>3,4251</b>
OPB07-1	0,0000	0,0000	****	****
OPB07-2	0,0342	0,0327	0,0445	10,7384
OPB07-3	0,4656	0,2133	0,5419	0,4226
OPB07-4	0,0183	0,0173	0,0559	8,4486
OPB07-5	0,2239	0,1717	0,2331	1,6453
OPB07-6	0,1102	0,0916	0,1682	2,4718
OPB07-7	0,4803	0,2883	0,3996	0,7512
OPB07-8	0,0612	0,0559	0,0867	5,2693
OPB07-9	0,0580	0,0473	0,1850	2,2020
OPB07-10	0,4405	0,2730	0,3803	0,8149
OPB07-11	0,4947	0,2361	0,5227	0,4567
OPB07-12	0,1702	0,1264	0,2571	1,4444
OPB07-13	0,1672	0,1547	0,0744	6,2199
OPB07-14	0,0569	0,0525	0,0779	5,9178
OPB07-15	0,1742	0,1033	0,4069	0,7289
OPB07-16	0,4477	0,2925	0,3467	0,9424
OPB07-17	0,2800	0,1304	0,5344	0,4355

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
OPB07-18	0,2988	0,2788	0,0671	6,9480
OPB07-19	0,0332	0,0298	0,1030	4,3567
OPB07-20	0,1788	0,1603	0,1034	4,3350
OPB07-21	0,1986	0,1367	0,3116	1,1047
OPB07-22	0,2091	0,1787	0,1452	2,9428
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2091</b>	<b>0,1396</b>	<b>0,2402</b>	<b>3,2665</b>
OPC04-1	0,1896	0,1332	0,2973	1,1818
OPC04-2	0,0802	0,0592	0,2620	1,4083
OPC04-3	0,0623	0,0499	0,1996	2,0046
OPC04-4	0,4018	0,1455	0,6380	0,2837
OPC04-5	0,3701	0,2975	0,1961	2,0492
OPC04-6	0,0210	0,0196	0,0643	7,2804
OPC04-7	0,1826	0,0587	0,6787	0,2367
OPC04-8	0,3489	0,2435	0,3021	1,1551
OPC04-9	0,0375	0,0332	0,1171	3,7707
OPC04-10	0,4999	0,4500	0,0998	4,5125
OPC04-11	0,2780	0,0425	0,8471	0,0903
OPC04-12	0,0096	0,0094	0,0292	16,6200
OPC04-13	0,3423	0,0711	0,7923	0,1310
OPC04-14	0,4195	0,1537	0,6336	0,2892
OPC04-15	0,0000	0,0000	****	****
OPC04-16	0,4967	0,2634	0,4697	0,5645
OPC04-17	0,2449	0,0000	1,0000	0,0000
OPC04-18	0,0297	0,0270	0,0919	4,9421
OPC04-19	0,1763	0,0618	0,6495	0,2698
OPC04-20	0,2971	0,0680	0,7713	0,1483
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2244</b>	<b>0,1093</b>	<b>0,4284</b>	<b>2,4704</b>
OPC09-1	0,4457	0,3452	0,2255	1,7177
OPC09-2	0,1971	0,1546	0,2158	1,8168
OPC09-3	0,0146	0,0139	0,0443	10,7840
OPC09-4	0,0438	0,0409	0,0669	6,9724
OPC09-5	0,0227	0,0220	0,0301	16,1293
OPC09-6	0,2013	0,1765	0,1231	3,5627
OPC09-7	0,1145	0,1000	0,1271	3,4346
OPC09-8	0,1783	0,1672	0,0625	7,5021
OPC09-9	0,1653	0,1116	0,3250	1,0384
OPC09-10	0,1325	0,1217	0,0817	6,6235
OPC09-11	0,1125	0,0697	0,3856	0,7968
OPC09-12	0,3909	0,1391	0,6442	0,2762
OPC09-13	0,4713	0,2982	0,3674	0,8610
OPC09-14	0,1896	0,1379	0,2725	1,3348
OPC09-15	0,0210	0,0196	0,0643	7,2804
OPC09-16	0,3609	0,2072	0,4260	0,6736
OPC09-17	0,2946	0,2049	0,3044	1,1427
OPC09-18	0,0385	0,0358	0,0703	6,6160
OPC09-19	0,0183	0,0173	0,0559	8,4486

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
OPD02-1	0,2366	0,1227	0,4815	0,5384
OPD02-2	0,3389	0,2781	0,1793	2,2782
OPD02-3	0,1046	0,0678	0,3512	0,9215
OPD02-4	0,0802	0,0592	0,2620	1,4083
OPD02-5	0,3855	0,1273	0,6699	0,2464
OPD02-6	0,3820	0,3000	0,2147	1,8287
OPD02-7	0,0246	0,0227	0,0756	6,1117
OPD02-8	0,1887	0,1616	0,1436	2,9808
OPD02-9	0,3655	0,2934	0,1973	2,0340
OPD02-10	0,3113	0,2520	0,1905	2,1253
OPD02-11	0,0132	0,0127	0,0402	11,9514
OPD02-12	0,4172	0,1101	0,7362	0,1791
OPD02-13	0,2449	0,0000	1,0000	0,0000
OPD02-14	0,1797	0,0602	0,6651	0,2518
OPD02-15	0,0195	0,0184	0,0598	7,8646
OPD02-16	0,2086	0,1282	0,3855	0,7969
OPD02-17	0,3620	0,1822	0,4966	0,5068
OPD02-18	0,4604	0,2069	0,5507	0,4080
OPD02-19	0,4384	0,2949	0,3274	1,0272
OPD02-20	0,0183	0,0173	0,0559	8,4486
OPD02-21	0,0674	0,0631	0,0640	7,3073
OPD02-22	0,0995	0,0664	0,3325	1,0038
OPD02-23	0,2241	0,1840	0,1786	2,2990
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2248</b>	<b>0,1317</b>	<b>0,3329</b>	<b>2,7181</b>
OPD03-1	0,0504	0,0452	0,1028	4,3651
OPD03-2	0,0132	0,0127	0,0402	11,9514
OPD03-3	0,2803	0,2333	0,1677	2,4823
OPD03-4	0,1157	0,0897	0,2241	1,7313
OPD03-5	0,1337	0,1174	0,1223	3,5874
OPD03-6	0,0132	0,0127	0,0402	11,9514
OPD03-7	0,1228	0,1056	0,1402	3,0668
OPD03-8	0,0446	0,0384	0,1402	3,0663
OPD03-9	0,0794	0,0671	0,1546	2,7349
OPD03-10	0,1649	0,1388	0,1582	2,6610
OPD03-11	0,4968	0,2304	0,5363	0,4324
OPD03-12	0,3439	0,1900	0,4475	0,6173
OPD03-13	0,0297	0,0270	0,0919	4,9421
OPD03-14	0,0000	0,0000	****	****
OPD03-15	0,3985	0,2628	0,3406	0,9681
OPD03-16	0,0269	0,0247	0,0830	5,5270
OPD03-17	0,0594	0,0552	0,0707	6,5714
OPD03-18	0,1377	0,0963	0,3004	1,1645
OPD03-19	0,0096	0,0094	0,0292	16,6200
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,1326</b>	<b>0,0924</b>	<b>0,1772</b>	<b>4,6911</b>
OPD05-1	0,0981	0,0728	0,2584	1,4353
OPD05-2	0,1123	0,0933	0,1694	2,4522

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
OPD05-4	0,0905	0,0829	0,0835	5,4851
OPD05-5	0,0873	0,0759	0,1315	3,3024
OPD05-6	0,0080	0,0078	0,0242	20,1208
OPD05-7	0,3628	0,0635	0,8250	0,1061
OPD05-8	0,1801	0,1519	0,1568	2,6895
OPD05-9	0,0000	0,0000	****	****
OPD05-10	0,0000	0,0000	****	****
OPD05-11	0,4998	0,4363	0,1271	3,4351
OPD05-12	0,0995	0,0900	0,0957	4,7257
OPD05-13	0,0375	0,0332	0,1171	3,7707
OPD05-14	0,0810	0,0715	0,1165	3,7922
OPD05-15	0,4898	0,0000	1,0000	0,0000
OPD05-16	0,3367	0,0714	0,7879	0,1346
OPD05-17	0,0551	0,0498	0,0968	4,6654
OPD05-18	0,4944	0,1345	0,7279	0,1869
OPD05-19	0,4253	0,0359	0,9157	0,0460
OPD05-20	0,3762	0,1405	0,6264	0,2982
OPD05-21	0,4540	0,1839	0,5949	0,3405
OPD05-22	0,0000	0,0000	****	****
OPD05-23	0,0561	0,0461	0,1785	2,3005
OPD05-24	0,0000	0,0000	****	****
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,1815</b>	<b>0,0772</b>	<b>0,3536</b>	<b>3,5619</b>
OPE09-1	0,0802	0,0592	0,2620	1,4083
OPE09-2	0,0146	0,0139	0,0443	10,7840
OPE09-3	0,1976	0,1205	0,3902	0,7815
OPE09-4	0,2001	0,0888	0,5564	0,3986
OPE09-5	0,2854	0,0686	0,7595	0,1583
OPE09-6	0,0332	0,0298	0,1030	4,3567
OPE09-7	0,0162	0,0154	0,0494	9,6164
OPE09-8	0,0462	0,0447	0,0325	14,8993
OPE09-9	0,0825	0,0726	0,1200	3,6676
OPE09-10	0,1329	0,1140	0,1417	3,0293
OPE09-11	0,3312	0,1929	0,4176	0,6974
OPE09-12	0,0388	0,0366	0,0552	8,5632
OPE09-13	0,1418	0,1329	0,0630	7,4381
OPE09-14	0,4750	0,2386	0,4978	0,5044
OPE09-15	0,0860	0,0782	0,0916	4,9614
OPE09-16	0,0162	0,0154	0,0494	9,6164
OPE09-17	0,4441	0,0837	0,8115	0,1162
OPE09-18	0,4866	0,3309	0,3199	1,0629
OPE09-19	0,4991	0,2703	0,4585	0,5906
OPE09-20	0,1332	0,1137	0,1464	2,9158
OPE09-21	0,4915	0,3066	0,3762	0,8291
OPE09-22	0,1452	0,1201	0,1731	2,3886
OPE09-23	0,0912	0,0820	0,1005	4,4767
OPE09-24	0,0183	0,0173	0,0559	8,4486

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
OPE09-26	0,1170	0,0951	0,1405	3,0583
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,1821</b>	<b>0,1099</b>	<b>0,2435</b>	<b>4,1766</b>
OPF01-1	0,4720	0,4154	0,1200	3,6674
OPF01-2	0,0511	0,0428	0,1615	2,5955
OPF01-3	0,1127	0,0944	0,1630	2,5676
OPF01-4	0,0705	0,0600	0,1487	2,8628
OPF01-5	0,0375	0,0332	0,1171	3,7707
OPF01-6	0,0903	0,0808	0,1054	4,2453
OPF01-7	0,1728	0,1649	0,0455	10,4897
OPF01-8	0,4955	0,3270	0,3401	0,9701
OPF01-9	0,0200	0,0195	0,0270	18,0151
OPF01-10	0,0952	0,0880	0,0764	6,0467
OPF01-11	0,0332	0,0298	0,1030	4,3567
OPF01-12	0,4661	0,0934	0,7996	0,1253
OPF01-13	0,4703	0,0653	0,8611	0,0806
OPF01-14	0,0103	0,0100	0,0313	15,4529
OPF01-15	0,1664	0,1410	0,1526	2,7771
OPF01-16	0,2254	0,2067	0,0828	5,5396
OPF01-17	0,0447	0,0425	0,0484	9,8236
OPF01-18	0,4941	0,3368	0,3183	1,0709
OPF01-19	0,4992	0,2214	0,5564	0,3986
OPF01-20	0,2141	0,1242	0,4198	0,6910
OPF01-21	0,0080	0,0078	0,0242	20,1208
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2023</b>	<b>0,1240</b>	<b>0,2239</b>	<b>5,508</b>
OPF06-1	0,0907	0,0635	0,3000	1,1667
OPF06-2	0,0103	0,0100	0,0313	15,4529
OPF06-3	0,0701	0,0542	0,2265	1,7074
OPF06-4	0,0534	0,0494	0,0758	6,0999
OPF06-5	0,0332	0,0298	0,1030	4,3567
OPF06-6	0,3220	0,2078	0,3547	0,9094
OPF06-7	0,0000	0,0000	****	****
OPF06-8	0,2699	0,1630	0,3959	0,7628
OPF06-9	0,1956	0,1612	0,1763	2,3365
OPF06-10	0,4734	0,4191	0,1147	3,8604
OPF06-11	0,4145	0,2210	0,4668	0,5712
OPF06-12	0,0246	0,0227	0,0756	6,1117
OPF06-13	0,3885	0,2957	0,2387	1,5948
OPF06-14	0,1226	0,1149	0,0630	7,4427
OPF06-15	0,1522	0,1254	0,1760	2,3408
OPF06-16	0,4962	0,4769	0,0388	12,3855
OPF06-17	0,2926	0,2477	0,1534	2,7585
OPF06-18	0,0848	0,0779	0,0807	5,6988
OPF06-19	0,4084	0,3684	0,0980	4,6028
OPF06-20	0,0630	0,0559	0,1135	3,9069
OPF06-21	0,0162	0,0154	0,0494	9,6164
OPF06-22	0,4095	0,3738	0,0873	5,2304

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
OPF06-24	0,4998	0,3971	0,2056	1,9319
OPF06-25	0,0223	0,0217	0,0288	16,8831
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2018</b>	<b>0,1617</b>	<b>0,1714</b>	<b>4,9296</b>
OPG02-1	0,0096	0,0094	0,0292	16,6200
OPG02-2	0,0912	0,0763	0,1634	2,5608
OPG02-3	0,3999	0,3538	0,1154	3,8339
OPG02-4	0,0691	0,0641	0,0729	6,3572
OPG02-5	0,4944	0,3370	0,3183	1,0708
OPG02-6	0,3335	0,1960	0,4122	0,7129
OPG02-7	0,4195	0,1709	0,5927	0,3436
OPG02-8	0,1797	0,0602	0,6651	0,2518
OPG02-9	0,2449	0,0000	1,0000	0,0000
OPG02-10	0,3214	0,0690	0,7852	0,1367
OPG02-11	0,0888	0,0724	0,1845	2,2105
OPG03-12	0,3613	0,2940	0,1862	2,1853
OPG02-13	0,2684	0,1726	0,3570	0,9005
OPG02-14	0,2543	0,0127	0,9501	0,0162
OPG02-15	0,1373	0,1263	0,0802	5,7378
OPG02-16	0,1477	0,0886	0,4001	0,7498
OPG02-17	0,4708	0,3836	0,1853	2,1982
OPG02-18	0,3105	0,2091	0,3265	1,0315
OPG02-19	0,3606	0,2722	0,2452	1,5388
OPG02-20	0,1044	0,0847	0,1884	2,1533
OPG02-21	0,0790	0,0740	0,0629	7,4456
OPG02-22	0,1204	0,1087	0,0972	4,6432
OPG02-23	0,3920	0,3839	0,0207	23,6956
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2460</b>	<b>0,1573</b>	<b>0,3234</b>	<b>3,7562</b>
OPF09-1	0,4923	0,0173	0,9649	0,0182
OPF09-2	0,4956	0,1081	0,7818	0,1395
OPF09-3	0,2234	0,1867	0,1642	2,5445
OPF09-4	0,0580	0,0473	0,1850	2,2020
OPF09-5	0,3726	0,1324	0,6446	0,2757
OPF09-6	0,4842	0,3870	0,2007	1,9911
OPF09-7	0,2881	0,2256	0,2169	1,8052
OPF09-8	0,4371	0,0547	0,8748	0,0716
OPF09-9	0,4806	0,1655	0,6557	0,2626
OPF09-10	0,2866	0,1651	0,4238	0,6797
OPF09-11	0,3197	0,0862	0,7306	0,1844
OPF09-12	0,0421	0,0406	0,0354	13,6146
OPF09-13	0,1818	0,1635	0,1008	4,4598
OPF09-14	0,0246	0,0227	0,0756	6,1117
OPF09-15	0,0727	0,0594	0,1832	2,2290
OPF09-16	0,1773	0,1362	0,2319	1,6562
OPF09-17	0,1346	0,0827	0,3854	0,7972
OPF09-18	0,2393	0,1752	0,2679	1,3666
OPF09-19	0,1571	0,1426	0,0925	4,9038

Tablo 14<sup>devam</sup>

Locus	$H_T$	$H_S$	$G_{ST}$	$Nm^*$
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,2497</b>	<b>0,1212</b>	<b>0,3628</b>	<b>2,8575</b>
<b>OPG03-1</b>	0,1104	0,0979	0,1132	3,9169
<b>OPG03-2</b>	0,0689	0,0536	0,2222	1,7500
<b>OPG03-3</b>	0,1839	0,1380	0,2497	1,5021
<b>OPG03-4</b>	0,0762	0,0683	0,1034	4,3345
<b>OPG03-5</b>	0,1228	0,1066	0,1322	3,2812
<b>OPG03-6</b>	0,0938	0,0646	0,3114	1,1058
<b>OPG03-7</b>	0,4948	0,4161	0,1590	2,6439
<b>OPG03-8</b>	0,4649	0,2599	0,4409	0,6340
<b>OPG03-9</b>	0,5000	0,2644	0,4711	0,5613
<b>OPG03-10</b>	0,1653	0,1116	0,3250	1,0384
<b>OPG03-11</b>	0,4993	0,0856	0,8285	0,1035
<b>OPG03-12</b>	0,2877	0,2177	0,2433	1,5552
<b>OPG03-13</b>	0,4876	0,3186	0,3465	0,9431
<b>OPG03-14</b>	0,4935	0,1373	0,7217	0,1928
<b>OPG03-15</b>	0,0701	0,0542	0,2265	1,7074
<b>OPG03-16</b>	0,3080	0,2594	0,1579	2,6660
<b>OPG03-17</b>	0,3202	0,2730	0,1474	2,8929
<b>OPG03-18</b>	3,3556	0,2693	0,2425	1,5616
<b>OPG03-19</b>	0,0462	0,0419	0,0929	4,8814
<b>OPG03-20</b>	0,0090	0,0088	0,0273	17,7870
<b>ORTALAMA</b>	<b>0,4079</b>	<b>0,1623</b>	<b>0,2781</b>	<b>2,7529</b>

## **ÖZGEÇMİŞ**

Duygu IŞIK, 15.06.1983 yılında Van-Merkez’de doğdu. İlk ve orta öğretimini Van’da tamamladı. 2007 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Orta Öğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Biyoloji Öğretmenliği Programından mezun oldu. 2008 yılında Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümünde, Moleküler Biyoloji ve Genetik alanında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Yabancı dili İngilizcedir.