T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

QTL HARİTALAMA YÖNTEMLERİNİN GEÇERLİLİĞİ ÜZERİNE BİR SİMÜLASYON ÇALIŞMASI

SÜMEYYE GÜNDÜZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROF. DR. ORHAN KAVUNCU

EKİM - 2023
KASTAMONU

TEZ ONAYI

Sümeyye GÜNDÜZ tarafından hazırlanan "**QTL HARİTALAMA YÖNTEMLERİNİN GEÇERLİLİĞİ ÜZERİNE BİR SİMÜLASYON ÇALIŞMASI**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **06.10.2023** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy çokluğu ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Genetik ve Biyomühendislik Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Prof. Dr. Orhan KAVUNCU Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Fırat SEFAOĞLU Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Yasemin GEDİK Osmangazi Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Doç. Dr. Selçuk MEMİŞ .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Sümeyye GÜNDÜZ

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

QTL HARİTALAMA YÖNTEMLERİNİN GEÇERLİLİĞİ ÜZERİNE BİR SİMÜLASYON ÇALIŞMASI

SÜMEYYE GÜNDÜZ

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GENETİK VE BİYOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN:PROF. DR. ORHAN KAVUNCU

Bu çalışma QTL analiz yöntemleriyle yapılan tahminlerin geçerliliğini araştırmak üzere yapılmış bir simülasyon çalışmasıdır. Bilgisayarda R yazılım ile yapılan simülasyon programı ile lokusların yeri ile ilgili çeşitli senaryolara uygun çeşitli genişlikte örnekler üretilmiştir. Çalışma sonunda farklı senaryolar için farklı sonuçlar bulunmuştur. Programın her çalışmasında sonuçlar tesadüfi değişiklikler gösterecektir. Çalışma sonunda, lokuslar yakın olduğu zaman tahminin daha sapmasız olduğu, örnek genişliği arttıkça tahminin etkinliğinin arttığı bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELER:QTL haritalama, genetik, biyoistatistik

Ekim 2023, 26 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

A SIMULATION STUDY ON THE VALIDITY OF QTL MAPPING METHODS

SÜMEYYE GÜNDÜZ

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF GENETICS AND BIOENGINEERING
SUPERVISOR:PROF. DR. ORHAN KAVUNCU

This study is a simulation study for detecting the validity of the QTL estimation methods. Samples with different sizes are generated using a simulation program written in R. Various scenarios are tried related to mapping the loci. At the end of the study, different results are found for different scenarios. At each run of the R program results are changed randomly. At the end of the study, as the loci are closer the estimations are approached to be unbiased. When the sample size gets greater the efficiency of the estimates increases.

KEYWORDS:QTL Mapping, Genetics, Biostatistics.

October 2023, 26 Page

TEŞEKKÜR

Tez çalışması boyunca yardım ve yönlendirmelerinden dolayı değerli tez danışmanım Prof. Dr. Orhan KAVUNCU'ya teşekkürü bir borç bilirim. Yüksek lisans sürecinde ve hayatımın her anında maddi ve manevi katkılarıyla, sabır ve anlayışlarıyla çalışmalarımdaki başarıma büyük katkısı olan canım aileme ve her daim beni bir ileriye taşıyan sevgili arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

SÜMEYYE GÜNDÜZ

Kastamonu, 2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ..... **ii**
TAAHHÜTNAME ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **viii**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. KAYNAK TARAMASI **4**
3. MATERYAL METOT **8**
3.1 Materyal: Simülasyonla Elde Edilen Örnekler 8
3.2 Metot 11
3.2.1 İki Marker Lokus İle QTL Haritalama Yöntemi 12
3.2.2 Simülasyon Programı 14
4. BULGULAR **17**
5. SONUÇ VE ÖNERİLER **19**
KAYNAKLAR **20**
ÖZGEÇMİŞ **26**

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1 AHB/ahb * AHB/AHB Melezlemesinden Elde Edilecek Geri Melez Döllerinin Genotipleri (Gi), Frekansları (Fi), Kümülatif Frekansları (KFi), O Genotip İçin Üretilen Tesadüf Sayısının Düşmesi Gereken Aralık ve Genotipik Değerleri 9
Tablo 3.2 Tek Bir Deneme İçin Kontrol Programı ve Sonuçları (r=0,08; r1=0,04; r2=0,08; n=20) 10
Tablo 3.3 Simülasyon Kontrol Programı (r1=0,04; r2=0,08 ve n=30) 14
Tablo 4.1 Simülasyonla Elde Edilen Örneklere İlişkin 2000 Denemenin Mesafe Tahminlerinin (r1 ve r2) Ortalamaları 18
Tablo 4.2 Simülasyonla Elde Edilen Örneklere İlişkin 2000 Denemenin Mesafe Tahminlerinin (r1 ve r2) Standart Sapmaları 18

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

F1	**:** Bir çaprazlamadan meydana gelen döldür
BC1	**:** Geriye melez
G_i	**:** Geri melez döllerinin genotipleri
F_i	**:** Geri melez döllerinin frekansları
KF_i	**:** Geri melez döllerinin kümülatif frekansları
cM	**:** Santimorgan

Kısaltmalar

QTL	**:** Kantitatif Karakter Lokusları
DNA	**:** Deoksiribo Nükleik Asit
ML	**:** Maksimum olabilirlik
SNP	**:** Tek Nükleotid Polimorfizmi
SSLP	**:** Basit Dizi Uzunluğu Polimorfizmi
RFLP	**:** Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
MAS	**:** Belirteç temelli seleksiyon
PHS	**:** Hasat öncesi filizlenme
HB	**:** Harita birimi

1. GİRİŞ

Niceliksel veya çok faktörlü kalıtım olarak da bilinen poligenik kalıtım, Fisher (1918) ve Wright (1922)'ın klâsik yayınlarından beri önemini korumakta ve gerek bitki, gerek hayvan ıslahı çalışmalarında katkısı gelişerek devam etmektedir. Kantitatif özellikler her biri küçük etkilere sahip, çok sayıda gen tarafından kontrol edilmektedir. Bunun anlamı döllerde her bir genin etkisinin ayrılamaması, bunun yerine kantitatif özelliklerin normal bir dağılım göstermesidir. Diğer yandan kantitatif özelliklerde çevrenin etkileri de görülmektedir (Eriksson vd., 2013). Bu bakımdan kantitatif karakterle ilgili genetik ve çevreye ilişkin parametrelerin tahmin edilmesi, türe ilişkin uyum (adaptasyon) ve genetik yapı hakkında bilgi üretilmesini sağlayacaktır.

Kantitatif karakterler kesikli değildir, süreklilik gösterir ve çok sayıda genin eklemeli etkileri tarafından kontrol edilen karakterlerdir. Kantitatif karakterleri kodlayan genlerin, kromozom üzerinde bulunduğu bölgelere ise kantitatif karakter lokusları (İngilizce Quantitative Trait Loci, kısaltılmışı QTL) adı verilmektedir.

QTL analizinin en bilinen uygulama alanı ıslah ve ıslah öncesi çalışmalar ile markörler aracılığıyla QTL seleksiyonudur. QTL analizinin temel amacı, QTL'in kromozomlar üzerinde yerini belirlemektir. Bu amaçla deneme şeklinin, açılma gösteren popülasyonunun tipinin, genişliğinin, DNA markörlerinin bilgi sağlama düzeyi ile polimorfizm düzeyinin, bağlantı haritasının kurulması ve QTL analizinin yapılması için gerekli istatistik yöntemlerin hepsinin birlikte değerlendirilmesi gerekir. Başarı, bilginin sağlandığı QTL analizinin güvenilirliği ve doğruluğuna dayanır (Asins, 2002).

Genom dizileme, gen ekspresyon analizleri veya gen transformasyonu gibi yerleşik çeşitli metodolojiler arasında, özellikle genetik markör sistemleri, yeni biyoteknoloji keşiflerini mevcut bitki yetiştirme stratejilerine uyarlama imkânı sunar. Genetik belirteçlerin yardımıyla, özellikleri belirleyen sabit genler veya transgenler, üreme hızını ve etkinliğini artıran üreme türleriyle takip edilebilir. Genetik belirteçler, germplazmın yapısındaki filogeniyi ortaya çıkarabilir ve ebeveyn germplazmının karakterizasyonunu sağlayabilir. Genetik belirteçler, QTL haritalama yanında, henüz fonksiyonları bilinmeyen genleri tanımlamak için de kullanılabilirler. Gen

fonksiyonlarının karşılaştırılmasına ve karşılaştırmalı haritalamaya dayanan yöntemlerle akraba olduğu düşünülen türlerin genomlarının belirlenmesinde ve mukayesesinde de belirteçlerden yararlanılmaktadır.

İşlevsel belirteçlerin QTL haritalamada yararlı olabilmesi için, üzerinde durulan özelliğin fenotipini etkileyen genler arasında polimorfik olanlarla bağlantı halinde olması lazımdır. Açılan popülasyonlar veya özel germplazm panelleri oluşturmak için QTL veya ilişkili haritalama analizi yapılmalıdır ve belirteç ile QTL allelleri arasındaki bağlantı fazları atanabilmelidir.

Genetik kaynakların çeşitliliğini artıran çalışmalar, özgün genotiplerin belirlenmesini sağlar. Bu nedenle, bu çalışmalar, geri melezleme yoluyla QTL haritalama gibi tekniklerin temelini oluşturur (Tanksley ve Nelson 1996). Belirteç-kantitatif özellik ilişkilerinden yararlanarak geri melezleme yoluyla QTL haritalama, QTL'lerin genetik kaynaklardan gelişmiş üreme germplazmına aktarılabilmesi için değerli bir yöntemdir (Buckler ve Thornsberry, 2002).

QTL haritalama ile araştırılan kantitatif özelliği etkileyen gen bölgeleri belirlenebilir ya da bu özellik üzerindeki etkisi incelenebilir, QTL bölgelerinin araştırılan özellik üzerindeki etkisi görülebilir, kantitatif özellikteki varyasyon miktarının ne kadarının belirlenen spesifik gen bölgesi tarafından etkilendiğini tespit edilebilir, Tespit edilen QTL gen bölgelerinin hangi tip gen etkisi (eklemeli, dominant, epistatik) tarafından etkilendiği analiz edilebilir, araştırılan özelliğin hangi alleller tarafından etkilendiği gibi daha pek çok konuda bilgi sahibi olunabilir.(Kavuncu 2021)

QTL belirlemede kullanılan popülasyonun büyüklüğünün fazla olması çalışmanın güvenilirliğini artırır, ancak maliyet hesaplarından dolayı böyle toplulukların oluşturulması özellikle sığır gibi bazı hayvan türleri için ve et kalitesi gibi bazı karakterler için zordur.

Kanatlılarda çok döl alma imkânı, generasyon süresinin kısalığı, yetiştirme maliyet ve işgücünün azlığı gibi nedenlerden dolayı daha kolay olması QTL çalışmaları bakımından literatürün kanatlılarda zengin olmasını sağlamıştır. Tribolium, fare gibi

hayvan türlerinde ve buğday, çeltik, domates gibi bitkilerde belirteç lokuslara dayanarak QTL belirleme çalışmaları oldukça fazladır (Şahin ve Kavuncu 2019).

Ne var ki bu çalışmalarda elde edilen sonuçların güvenilir olması gerekir. Bu sonuçların çıkarıldığı yöntemlerin güvenilirliğinin canlı materyalle test edilmesi mümkündür. Ancak maliyet, yukarıda bahsedilen ve benzeri sınırlandırmalardan, dezavantajlardan dolayı yöntemleri bilgisayarda simülasyonla elde edilmiş sanal materyalle test etmek daha kolay ve hızlı sonuçlar verebilir.

İşte bu sebeple bu tez çalışmasında iki belirteç lokusla bağlı olan bir QTL lokusunu, iki hattın melezlerinin yüksek fenotipli hatla geri melezlenmesine dayanan haritalama yönteminin, simülasyonla üretilmiş sanal materyalde uygulaması yapılarak, yöntemin geçerliliği sınanmıştır. R yazılım ile hazırlanan bir simülasyon programı ile üç rekombinasyon parametresi ve üç örnek genişliği için 3*3=9 senaryonun her biri için yöntem 2000 defa denenmiştir. Önceden yapılan kontrol çalışmalarında 50, 100, 500, 1000, 2000, 5000 ve 10 000 deneme yapılmış, 2000 denemenin parametrelerin isabetli bir şekilde tahmini için yeterli olduğu görülmüştür. İki parametre seti aşağıdaki gibi belirlenmiştir:

1. Rekombinasyon değerleri (a ve b marker lokusları ile QTL lokusu arasındaki uzaklıklar: r1=0,08; r2=0,07; r1=0,11; r2=0,04; r1=0,12; r2=0,03. Görüldüğü gibi a ve b marker lokusları arasındaki toplam uzaklığın 15 HB olduğunu varsaydık.
2. Örnek genişliklerini ise n=30, n=50, n=100 olarak alınmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

Kantitatif bir özelliğin varyasyonunu etkileyen genlerin genellikle küçük etkili olduğu ve bütün bir genoma yayılmış bulunduğu, varyasyonda bu genler yanında çevrenin de etkili olduğu varsayılır. Bitkilerde bodur-sırık oluş, hayvanlarda cücelik gibi boyla ilgili fenotipik sınıflamaları mümkün kılan büyük etkili genlerin varlığından da bahsedilebilir. Dolayısıyla bir kısmı büyük etkili olabilen, birçok lokusa dağılmış genlerin ve çevre şartlarının etkisi altında ortaya çıkan bu varyasyonu analiz etmek, monogenik özelliklerdeki kadar kolay değildir. Çünkü bu özellikler bakımından fenotipik açılma oranlarını genotiplere göre sınıflandırmak mümkün değildir. Bu özellikler için kullanılan "poligenik" tabiri yerinde bir ifadedir. Bazıları bu gibi özellikler için "kantitatif" yerine "kompleks" sıfatını da kullanmaktadır. (Kavuncu 2021)

Bunlar da, diğer genler gibi transkripsiyon faktörlerini, hücre yüzeyindeki proteinleri, metabolizma veya DNA replikasyon, transkripsiyon veya tamir enzimlerini kodlayabilirler (Griffith vd., 2012). Bu genlerin bulunduğu lokusların bir kısmı büyük etkili olabilir veya küçük etkili genlerin bulunduğu bazı lokuslar genom üzerinde bir yerde topluca blok halinde bulunabilir. Çevre etkisi de eklenince, hangi genotipin hangi fenotipte olduğunu ayırt etmek imkânsız hale gelir. Bununla birlikte, nasıl ki Mendel genetiğinin geliştirdiği yöntemlerden farklı yöntemlerle, bu allellere ve genotiplere değerler vererek fenotip üzerine etkilerini bir model olarak ifade edebiliyorsak, bunların bulunduğu lokusların genom üzerinde yerlerini haritalamak için de mevcutlardan geliştirilmiş yeni yöntemler kullanılabilir.

1990'lardan itibaren, moleküler biyoloji ve biyoteknoloji alanlarındaki gelişmelere paralel olarak, bu genlerin yerlerini, belirteç (marker) lokusları kullanarak belirlemeye yönelik yöntemler de gelişmeye başlamıştır. İşte bu büyük etkili genlerin ve/veya genom üzerinde peş peşe dizilmiş olabilen küçük etkili gen topluluğunun yerini, belirli belirteç lokuslarla bağlılığına göre belirlenebileceği varsayımı, 1990'lardan itibaren poligen yerine Kantitatif Özellik Lokusları (Quantitative Traits Loci, kısaltılmışı QTL)

deyiminin kullanılmasına sebep olmuştur. QTL deyimiyle, küçük etkili gen blokları ile birlikte büyük etkili gen dizileri de ifade edilmektedir. (Şahin ve Kavuncu, 2019)

Moleküler belirteç, belirli bir kromozomal lokus için etiket olarak kullanılan ve herhangi bir özellik bakımından fenotipik varyasyonla ilgili olmayabilen farklı allellere sahip bir DNA dizisidir (Griffith vd. 2012). Moleküler belirteçler tek bir nükleotid bakımından farklılık (Single nucleotide polymorphism – SNP) gösterebilir veya bazı küçük DNA parçacıklarının tekrarlanmasından ortaya çıkan farklı uzunluklara (Simple Sequence Length Polymorphism - SSLP) sahip olabilir (Griffith vd. 2012). Bir restriksiyon enziminin hedefindeki sitede yer alan SNP'ler (RFLP Restriction Fragment Length Polymorphism olarak isimlendirilir) haritalamada önemlidir (Lynch ve Walsh 1998).

Bitki ve hayvan ıslahında kantitatif özellikleri belirleyen genlerle bağlantı halinde olan ve morfolojik veya biyokimyasal özellikleri determine eden genlerden yararlanarak kantitatif özellikler bakımından üstün fenotipli bireyleri damızlık, anaç olarak seçmek düşüncesi öteden beri vardır (Düzgüneş ve Ekingen 1983; Kavuncu 2021). Sax isimli araştırıcı daha 1923'te fasulyede dane büyüklüğü ile tohum kabuğu renk pigmentasyonu arasındaki ilişkilerden yararlanmaya çalıştı. Daha sonra Mather, Sax'ın metodunu 1941'de yayınladığı makalesinde Drosophila'da da kullandı. Ancak bu tip özelliklerle yapılacak çalışmaların türlü çeşitli zorluklar, moleküler tekniklerdeki gelişmelere paralel olarak belirteç lokuslarla QTL'ler arasındaki bağlantıdan yararlanarak aşılmaya çalışıldı. 1961 yılında da Thoday tek belirteç lokusları kullanarak poligenlerin yerini belirteçlerle belirlemeye yönelik ilk çalışmayı yayınladı. Bütün bu çalışmalardan sonra Geldermann isimli bir araştırıcı QTL tabirini ilk defa 1975 yılında yayınladığı makalesinde kullandı (Şahin ve Kavuncu 2019).

Buğdayda QTL haritalamada kullanılan gerek SNP, gerek SSLP çok sayıda belirteç bulunmaktadır (Sönmezoğlu ve ark. 2010).

Bu belirteçlerle üzerinde durulan QTL arasında bağlantı varsa QTL'lerin yerini belirlemede bu bağlantıdan yararlanılır. Bitki ve hayvan ıslahı çalışmalarında, yeri bilinen belirteçlerle QTL arasında bağlantı olup olmadığına bakılır. Eğer bir bağlantı

varsa bundan yararlanarak belirteç temelli seleksiyon (MAS) stratejileri geliştirmeye çalışılır. Buğdayda yapılan çalışmalarla ilgili bir derleme Sönmezoğlu vd. (2010) tarafından yapılmıştır. Adı geçen derleme makalesindeki bilgilere göre moleküler belirteçlerin buğday bitkisindeki uygulama alanları "genotip tanımlama, çeşit tescili, ıslah hatlarının tanımlanması, tohum saflık testleri, hibrit çeşit saflık testleri, genetik çeşitliliğin belirlenmesi, gen kaynaklarının genetik kökeninin araştırılması, tarımsal performansın ve adaptasyon yeteneğinin tahmini, basit karakterlerin kalıtımı, kantitatif karakterlerin (QTL) aktarımı ve gen piramitlerinin oluşturulması şeklinde özetlenebilir" (Sönmezoğlu vd. 2010). Gelişen belirteç teknolojisi sayesinde buğdayda gluten sağlamlığı (Watson, 2008), nişasta özellikleri (waxy genleri) (Briney vd.., 1998), tane sertliği (puroindoline genleri) (Beecher vd., 2002), vernalizasyon (Yan vd., 2003; 2004), yarı cücelik (Peng vd., 1999), yaprak pasına (Lr10 ve Lr2) (Feuillet vd., 2003) ve küllemeye (Huang vd., 2003a) dayanıklılık gibi agronomik açıdan önemli genlerin aktarımı mümkün olmuştur (Sönmezoğlu vd. 2010).

Griffith vd. (2012), QTL haritalama tekniklerine bir misal olmak üzere domateste kırmızı ağır meyveli bir hatla sarı küçük meyveli bir hattın F1 melezlerini ağır hatla geri melezlemiş, elde edilen bitkilerin ağırlıklarını ve SNP veya SSLP belirteç lokus genotiplerini belirlemiştir. Bu belirteç lokuslardan beş tanesinin ve meyve ağırlığının ölçüldüğü geri melez bitkilerden elde edilen sonuç meyve ağırlığı bakımından varyasyona yol açan QTL ile bu belirteç lokuslardan biri arasında sıkı bağlantı olduğudur.

Buğdayda gerçekten birçok çalışma vardır. Meselâ Avustralya'da yapılan bir çalışmada (İmtiaz vd. 2008), hasat öncesi filizlenme (PHS) bakımından varyasyonu kontrol eden QTL'lerin belirlenmesi ve karakterizasyonu için yapılan çalışmada buğdayın atalarından biri olan ve PHS'ye dayanıklı olan diploit bir Aegilops taushcii hattıyla tetraploit bir Triticum turgidum hattının melezlenmesinden elde edilen sentetik bir hat oluşturulmuştur. Bu sentetik hattın kırmızı taneli A. Tauschi hattıyla sürekli geri melezlemesinden elde edilen beyaz taneli materyale PHS'ya dayanıklılık genlerinin aktarılması sağlanmıştır. Bu arada moleküler belirteç temelli seleksiyon (MAS) için aday olabilecek belirteçler belirlenmiştir.

Pamukta yaprak solgunluğu (Verticillium wilt) hastalığı ile ilgili bir çalışmada (Bardak vd. 2021), belirteç temelli seleksiyon (MAS) için kullanımı mümkün olan ve yaprak solgunluğu da dâhil, birçok hastalığa dayanıklılık/hassaslık veya tolerans bakımından varyasyonla bağlantı halinde olabilecek birçok SNP belirteç belirlenmiştir.

QTL haritalaması basit bir temele dayanır; Çalışılan kantitatif özelliklerin ve bağlantı haritası yapılmış moleküler belirteçlerin farklı fenotiplerine sahip iki hat melezlenir. Analiz için, elde edilen F1'ler kendi aralarında melezlenerek elde edilen F2'ler veya hatlardan birisiyle veya her ikisiyle geri melezlenmesiyle elde edilen geri melezler (BC1'er) kullanılır. Sonuçlar, belirteç lokusların genotiplerine göre sınıflanır ve genotip sınıfları arasında nicel özellik ortalaması bakımından fark olup olmadığına bakılır (Şahin ve Kavuncu 2019).

İki belirteç lokusla QTL haritalama yöntemi, bu tez çalışmasında uygulanan metot olması dolayısıyla, metot bölümünde ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

3. MATERYAL METOT

3.1 Materyal: Simülasyonla Elde Edilen Örnekler

Bilgisayarda R yazılım programı kullanılarak, aralarında uzaklık 15 HB kadar olan iki marker lokus ve bunlar arasında her iki marker lokusa uzaklığı ve fenotip ortalaması belli bir QTL lokusu planlanmıştır. İkişer allelli marker lokusları A ve B ile yeri belirlenmeye yine iki allelli QTL lokusu ise H ile gösterilmiştir.

Bu simülasyon çalışmasında, QTL lokusunun yerini belirlemek için yapılan çalışmalarda kullanılan klâsik bir yöntem tasarlanmıştır. Bu yöntemde yüksek fenotipli, AHB/AHB genotipinde bir hat ile düşük fenotipli, ahb/ahb genotipinde bir hattın AHB/ahb genotipli F_1 melezleri, yüksek fenotipli hatla geriye melezlenir. QTL lokusu için, eklemeli bir model varsayılmış; büyük etkili H allelinin etkisi 15, küçük etkili h allelinin etkisi ise 5 birim kabul edilmiştir. Buna göre mümkün olan üç genotipin değerleri HH için 30, Hh için 20 ve hh için de 10 alınmıştır. Geri melezlemede elde edilen her bir genotip için, ortalaması sıfır, standart sapması 2 olan ve normal dağılan bir çevre değeri üretilerek, ilgili genotipin değerine eklenmiş ve böylece her bireyin fenotipi bulunmuştur.

AHB/ahb F_1 bireyi ile AHB/AHB hattından bireyin melezlenmesinde elde edilecek geri melez bireylerinin genotipleri, standart uniform tesadüf sayıları yardımıyla belirlenmiştir. Buna göre meselâ A ve H lokusları arasında r1, H ile B arasında r2 kadar uzaklık varsa, geri melez bireylerinin genotiplerinin oluş ihtimalleri Tablo: 3.1'deki gibi olacaktır. Buna göre rastgele üretilen bir standart uniform tesadüf sayısı, (1-r1)*(1-r2)/2'ye eşit veya daha küçükse genotip AHB/AHB olacaktır. Kümülatif ihtimal değerleri yardımıyla üretilen sayı hangi aralığa düşüyorsa, geri melez dölünün genotipi, o aralığa uygun genotipte olacaktır.

Tablo 3.1 AHB/ahb * AHB/AHB Melezlemesinden Elde Edilecek Geri Melez Döllerinin Genotipleri (Gi), Frekansları (Fi), Kümülatif Frekansları (KFi), O Genotip İçin Üretilen Tesadüf Sayısının Düşmesi Gereken Aralık ve Genotipik Değerleri

Genotip (Gi)	Frekans (Fi)	Kümülatif Fekans KFi)	Uygun Aralık	Genotipik Değer
AHB/AHB	F1=(1-r1)*(1-r2)/2	KF1	X≤KF1	30
AHb/AHB	F2=(1-r1)*r2/2	KF2=KF1+F2	KF1<x≤KF2	30
AhB/AHB	F3=r1*r2/2	KF3=KF2+F3	KF2<x≤KF3	20
Ahb/AHB	F4=r1*(1-r2)/2	KF4=KF3+F4	KF3<x≤KF4	20
aHB/AHB	F5=r1*(1-r2)/2	KF5=KF4+F5	KF4<x≤KF5	30
aHb(AHB	F6=r1*r2/2	KF6=KF5+F6	KF5<x≤KF6	30
ahB/AHB	F7=(1-r1)*r2/2	KF7=KF6+F7	KF6<x≤KF7	20
ahb/AHB	F8=(1-r1)?(1-r2)/2	KF8=KF7+F8=1	KF7<x≤KF8 (=1)	20

Simülasyonu yapılan senaryolar için üç rekombinasyon parametresi ve üç örnek genişliği ele alınmıştır:

1. Rekombinasyon değerleri (a ve b marker lokusları ile QTL lokusu arasındaki uzaklıklar: r1=0,08 (r2=0,07); r1=0,11 (r2=0,04), r1=0,12 (r2=0,03). Görüldüğü gibi a ve b marker lokusları arasındaki toplam uzaklığın 15 HB olduğunu varsaydık.

2. Örnek genişliklerini ise n=30, n=50, n=100 olarak aldık.

Böylece 3*3=9 senaryonun her biri için 2000 deneme yapılmıştır. Programı test etmek üzere tek bir deneme için program ve sonuçları Tablo 3.2'deki gibi yazdırılarak kontrol edilmiştir:

Tablo 3.2 Tek Bir Deneme İçin Kontrol Programı ve Sonuçları (r=0,08; r1=0,04; r2=0,08; n=20)

```
> # F1'in vereceği gametler; AHB/ahb=111/222
> # r=0,08; r1=0,04; r2=0,08; n=20
> r=0,12
> r1=0,08
> r2=0,04
> p111=(1-r1)*(1-r2)/2
> p112=p111+(1-r1)*r2/2
> p121=p112+r1*r2/2
> p122=p121+r1*(1-r2)/2
> p211=p122+r1*(1-r2)/2
> p212=p211+r1*r2/2
> p221=p212+(1-r1)*r2/2
> p222=p221+(1-r1)*(1-r2)/2
> # a<=p111 ise 111 (AHB); 0.p111<a<=p112 ise 112 (AHb); p112<a<=p121 ise 121 (AhB);
p121<a<=p122 ise 122 (Ahb)
> # p122<a<=p211 ise 211 (aHB); p211<a<=p212 ise 212 (aHb); p212<a<=p221 ise 221 (ahB);
p221<a<=1.0000 ise 222 (ahb)
> #
> #
> n=20
> g=array(rep(0),n)
> xc=array(rep(0),n)
> xg=array(rep(0),n)
> xf=array(rep(0),n)
> nden=1
> r1t=array(rep(0),nden)
> r2t=array(rep(0),nden)
> g
 [1] 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
> ABsay=0
> for (k in 1:nden){
+ a=runif(n,0,1)
+ for (i in 1:n){
+ ifelse ((a[i]<=p111),(g[i]=111),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]<=p111),(ABsay=ABsay+1),(ABsay=ABsay))
+ ifelse ((a[i]>p111&a[i]<=p112),(g[i]=112),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p112&a[i]<=p121),(g[i]=121),(g[i]=g[i]))
```

Tablo 3.2'nin devamı

```
+ ifelse ((a[i]>p121&a[i]<=p122),(g[i]=122),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p122&a[i]<=p211),(g[i]=211),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p211&a[i]<=p212),(g[i]=212),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p212&a[i]<=p221),(g[i]=221),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p221),(g[i]=222),(g[i]=g[i]))
+ }
+ # kantitatif özellik hesabı
+ for (i in 1:n){
+ ifelse ((g[i]<=112),(xg[i]=30),(xg[i]=xg[i]))
+ ifelse ((g[i]>112&g[i]<=122),(xg[i]=20),(xg[i]=xg[i]))
+ ifelse ((g[i]>122&g[i]<=212),(xg[i]=30),(xg[i]=xg[i]))
+ ifelse ((g[i]>212),(xg[i]=20),(xg[i]=xg[i]))
+ xc[i]=rnorm(1,0,2)
+ xf[i]=xg[i]+xc[i]
+ xc[i]=round(xc[i],digits=3)
+ xf[i]=round(xf[i],digits=3)
+ }}
>
> cat(" gametler        ",format(g,width=6),"\n","genotip değerleri",format(xg,width=6),"\n",
+ "çevre değerleri  ",format(xc,width=6),"\n","fenotip değerleri",format(xf,width=6))
 gametler          222   111   112   111   222   111   222   111   222   222   111   222   222   111
211   222   111   222   222   211
 genotip değerleri    20    30    30    30    20    30    20    30    20    20    30    20    20    30    30
20    30    20    20    30
 çevre değerleri    0,753  2,757  3,665  1,759  2,762  1,510 -0,217  2,220  3,068  0,029  4,954 -1,619
3,800 -0,872  3,084  1,989  2,009  3,754 -1,135  2,930
 fenotip değerleri 20.753 32.757 33.665 31.759 22.762 31.510 19.783 32.220 23.068 20.029 34.954
18.381 23.800 29.128 33.084 21.989 32.009 23.754 18.865 32.930>
>
```

3.2 Metot

QTL haritalaması için geliştirilmiş çeşitli yöntemler vardır. Tek belirteç lokusla QTL arasındaki bağlantıdan yararlanarak QTL'in yerini belirlemeye yönelik çalışmalar göstermiştir ki, QTL ile başka bir belirteç arasında bulunabilecek bağlantı, QTL'in yeniden haritalanmasını gerektirmektedir. Bu yüzden iki, hatta daha fazla sayıda belirteç kullanılarak yapılacak haritalama, daha kesin sonuçlar vermektedir. QTL'i

oluşturan gen veya genlerin allelik ve allelik olmayan etkilere sahip olması da QTL haritalamada belirsizliğe, hatalı tahinlere yol açabilmektedir. İki hattın F_1 ve F_2 melezlerini ve F_2 melezlerinin hatların biriyle veya her ikisiyle geri melezlenmesinden elde edilen materyali analiz etmeye yönelik yöntemler halen denenmektedir.

Bu çalışmada, iki belirteç lokusla, eklemeli etkiye sahip iki allelli bir QTL lokusunun yeri belirlemeye yönelik bir yöntemin simülasyonu yapılmıştır. QTL bakımından biri yüksek, biri düşük fenotipli iki hattın F_1 melezi yüksek fenotipli hatla geriye melezlenerek elde edilen materyal kullanılarak QTL'in yeri belirlenmeye çalışılmıştır. İki hat, belirteç lokuslarda da farklı allellere sahip kabul edilmiştir. Dolayısıyla metot başlığı altında, önce birinci alt başlıkta iki belirteç lokusla yapılan QTL haritalama yöntemi, bu çalışmada kullanılan haliyle anlatılmış, daha sonra da ikinci alt başlıkta yazılan simülasyon programı verilmiştir.

3.2.1 İki Marker Lokus İle QTL Haritalama Yöntemi

Tek marker lokusla, QTL'in eklemeli, dominant etkileri ve aradaki r değerinin ayırt edilememesi, iki marker lokus kullanılarak halledilebilir. M ve N lokusları marker lokuslar olsun. QTL'i de yine H ile gösterelim. Rekombinasyon oranları M ile N lokusları arasında r, M ile H arasında r_1, N ile H arasında r_2 kadar olsun. İki saf hat M1HN1/M1HN1 ve M2hN2/M2hN2, genotipik değerleri de a ve -a olsun. F_1 M1HN1/M2hN2 genotipinde olacaktır, onun değeri de d olsun. F_1, birinci ebeveyn hatla geriye melezlensin.

İstatistik analiz sonucunda genotip ortalamaları arasındaki farklılık önemli bulunursa, QTL bu lokuslara bağlı demektir. O zaman bir adım daha ileri gidilir: Eşlenik genotiplerin ortalamaları arasındaki fark a-d, ayrık genotiplerin ortalamaları arasındaki fark ise (a-d) (r2-r1)/r kadardır. Ayrıklar arasındaki farkın, eşlenikler arasındaki farka bölümü (r2-r1)/r değeridir. Bu değer pozitifse r2>r1, demeli QTL M lokusuna daha yakın, negatifse N lokusuna daha yakın demektir.

Marker lokusların, çift rekombinasyon ihmal edilecek kadar yakın olduğunu, dolayısıyla r1+r1=r olduğunu varsayarak BC1 geri melezlerin marker lokuslar için genotiplerini, bu genotiplerin frekanslarını, ortalamalarını da hesaplamak mümkündür.

1. Misal: A ve B marker lokusları bağlı olup aralarında 16 cM uzaklık vardır. A lokusunda mutant a bir alleli ve B lokusunda mutant bir b alleli bakımından homozigot bir hatla (ab/ab), her iki lokustan yabani alleller bakımından homozigot bir hat (AB/AB) melezlenmiştir. F_1'ler (AB/ab) yabani hatla geri melezlenmiştir. Kantitatif bir özellik bakımından AB/AB yabani hattının ortalaması 30 birim, ab/ab mutan hattını ortalaması ise 12 birim hesaplanmıştır. F_1'lerin ortalaması 24 birim bulunmuştur. F_1'ler yabani hatla geriye melezlenmiştir. Elde edilen döllerin mümkün olan marker lokus genotipleri ve bunların QTL ortalamaları aşağıdaki gibi bulunduğuna göre QTL ile marker lokuslar arasında bağlantı varsa uzaklıkları hesaplayınız.

BC1 Genotipleri		QTL Ortalamaları
AB/AB	0,42	29
Ab/AB	0,08	24
aB/AB	0,08	22
ab/AB	0,42	19

Çözüm: Çift crossing over olmadığını, yani r1+r2=r olduğunu varsayarak

a-d=29-19=10

(a-d)(r2-r1)/r=24-22=2

(a-d) (r2-r1)/r=10 ((r2-r1)/16=2

(r2-r1)=16*2/10=3.2

r2=3,2 + r1

r2+r1=16 r1 = 16- r2

16-r1=3,2+r1

2r1==16-3,2=12,8

r1= 6,4 ve r2= 16-6,4=3,2+6,4=9,6

Sonuç olarak QTL ile A lokusu arasında 6,4 cM, B lokusu arasında 9,6 cM uzaklık olduğunu varsayabiliriz.

3.2.2 Simülasyon Programı

Simülasyon Programı, başlangıçta parametreleri tanımlayarak, bu çalışmada ele alınmayan senaryolar için de uygulanacak şekilde hazırlanmıştır. Programda, önce senaryoların her biri için 50, 100, 500, 1000, 2000, 5000 ve 10,000 örnek üretilmiş; 2000 denemenin parametrelerin isabetli bir şekilde tahmini için yeterli olduğu görülmüştür. Üretilen 2000 adet örnekte hesaplanan uzaklıkların ortalaması ve standart sapması hesaplanmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Yazılan program, r1=0,04; r2=0,08 ve n=30 parametreleriyle Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3 Simülasyon Kontrol Programı (r1=0,04; r2=0,08 ve n=30)

```
> # F1'in vereceği gametler; AHB/ahb=111/222
> # r=0,12; r1=0,04, r2=0,08; n=30
> r=0,15
> r1=0,08
> r2=0,07
> p111=(1-r1)*(1-r2)/2
> p112=p111+(1-r1)*r2/2
> p121=p112+r1*r2/2
> p122=p121+r1*(1-r2)/2
> p211=p122+r1*(1-r2)/2
> p212=p211+r1*r2/2
> p221=p212+(1-r1)*r2/2
> p222=p221+(1-r1)*(1-r2)/2
> # a<=p111 ise 111 (AHB); 0.p111<a<=p112 ise 112 (AHb); p112<a<=p121 ise 121 (AhB);
p121<a<=p122 ise 122 (Ahb)
> # p122<a<=p211 ise 211 (aHB); p211<a<=p212 ise 212 (aHb); p212<a<=p221 ise 221
(ahB); p221<a<=1.0000 ise 222 (ahb)
> #
> #
> n=30
> g=array(rep(0),n)
> xc=array(rep(0),n)
> xg=array(rep(0),n)
> xf=array(rep(0),n)
> nden=2000
> r1t=array(rep(0),nden)
```

Tablo 3.3'ün devamı

```
> r2t=array(rep(0),nden)
> ABsay=0
> for (k in 1:nden){
+ a=runif(n,0,1)
+ for (i in 1:n){
+ ifelse ((a[i]<=p111),(g[i]=111),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]<=p111),(ABsay=ABsay+1),(ABsay=ABsay))
+ ifelse ((a[i]>p111&a[i]<=p112),(g[i]=112),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p112&a[i]<=p121),(g[i]=121),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p121&a[i]<=p122),(g[i]=122),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p122&a[i]<=p211),(g[i]=211),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p211&a[i]<=p212),(g[i]=212),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p212&a[i]<=p221),(g[i]=221),(g[i]=g[i]))
+ ifelse ((a[i]>p221),(g[i]=222),(g[i]=g[i]))
+ }
+ # kantitatif özellik hesabı
+ for (i in 1:n){
+ ifelse ((g[i]<=112),(xg[i]=30),(xg[i]=xg[i]))
+ ifelse ((g[i]>112&g[i]<=122),(xg[i]=20),(xg[i]=xg[i]))
+ ifelse ((g[i]>122&g[i]<=212),(xg[i]=30),(xg[i]=xg[i]))
+ ifelse ((g[i]>212),(xg[i]=20),(xg[i]=xg[i]))
+ xc[i]=rnorm(1,0,2)
+ xf[i]=xg[i]+xc[i]
+ }
+ xf11=0
+ xf12=0
+ xf21=0
+ xf22=0
+ xsay11=0
+ xsay12=0
+ xsay21=0
+ xsay22=0
+ xtop=0
+ xtop2=0
+ for (i in 1:n){
+ ifelse ((g[i]<112|(g[i]>112&g[i]<=121)),(xf11=xf11+xf[i]),(xf11=xf11))
+ ifelse ((g[i]<112|(g[i]>112&g[i]<=121)),(xsay11=xsay11+1),(xsay11=xsay11))
```

Tablo 3.3'ün devamı

```
+ ifelse ((g[i]>111&g[i]<=112|(g[i]>121&g[i]<=122)),(xf12=xf12+xf[i]),(xf12=xf12))
+ ifelse ((g[i]>111&g[i]<=112|(g[i]>121&g[i]<=122)),(xsay12=xsay12+1),(xsay12=xsay12))
+ ifelse ((g[i]>122&g[i]<=211|(g[i]>211&g[i]<=221)),(xf21=xf21+xf[i]),(xf21=xf21))
+ ifelse ((g[i]>122&g[i]<=211|(g[i]>211&g[i]<=221)),(xsay21=xsay21+1),(xsay21=xsay21))
+ ifelse ((g[i]>211&g[i]<=212|(g[i]>221&g[i]<=222)),(xf22=xf22+xf[i]),(xf22=xf22))
+ ifelse ((g[i]>211&g[i]<=212|(g[i]>221&g[i]<=222)),(xsay22=xsay22+1),(xsay22=xsay22))
+ xtop=xtop+xf[i]
+ }
+ ifelse (xsay12<=0,(xsay12=1),(xsay12=xsay12))
+ ifelse (xsay21<=0,(xsay21=1),(xsay21=xsay21))
+ n2=xsay11+xsay12+xsay21+xsay22
+ xtop2=xf11+xf12+xf21+xf22
+ xort11=xf11/xsay11
+ xort12=xf12/xsay12
+ xort21=xf21/xsay21
+ xort22=xf22/xsay22
+ fark1122=xort11-xort22
+ fark1221=xort12-xort21
+ r1t[k]=(r*100-(r*100*fark1221/fark1122))/2
+ r2t[k]=r*100-r1t[k]
+ }
> sspr1=sqrt(var(r1t))
> varr2=var(r2t)
> r1t=round(r1t)
> r2t=round(r2t)
> ortr1=round(mean(r1t))
> ortr2=round(mean(r2t))
> cat (nden, "denemenin a-qtl lokus uzaklığı için ortalama ve st sapması", format(ortr1,width=10),
+ format(sspr1,width=10), "\n", nden, "denemenin b-qtl lokuslarının uzaklığı için ortalama ve
varyans",
+ format(ortr2,width=10),format(varr2,width=10),"\n")
      2000denemenin a-qtl lokus uzaklığı için ortalama ve st sapması          9   9.300654
2000 denemenin b-qtl lokuslarının uzaklığı için ortalama ve varyans    6   86.50217
```

4. BULGULAR

Simülasyonla üretilen örneklerden hesaplanan mesafe tahminlerinin 2000 denemeden elde edilen ortalamaları, Tablo 4.1'de, bu tahminlerin standart sapmaları da Tablo 4.2'de verilmiştir. İki uzaklık arasında r1+r2=r gibi bir ilişki olduğu için r1 ile r2'nin varyansı aynı olması gerekir. Yapılan tahminlerde de bu görülmüştür; r1 tahminlerinin varyansı ile r2 tahminlerinin varyansı eşittir.

QTL, bizim bu çalışmamızda olduğu gibi iki marker lokus arasında olduğu zaman tahmin edilen uzaklıklar, Tablo 4.1'de görüldüğü gibi, gerçeğe oldukça yakındır. Tahminlerin ortalaması, örnek genişliklerinin ve hb uzaklıkların tamamında baştan öngörülen parametre değerine eşit çıkmıştır. Oysa 2000 denemeden daha az sayıda yapılan denemelerde n=30 olduğu zaman ortalamadan gerçek parametre değerinde farklı çıkmakta; yani tahmin sapmasız olmamaktadır. Meselâ 20 deneme sonunda r1=0,08 ve r2=0,07 parametre değerleriyle n=30 büyüklüğünde örneklerden hesaplanan uzaklıkların ortalamaları r1=0,09, r2=0,06, bu tahminlerin standart sapması da 8,666 bulunmuştur. Deneme sayısı 50 olduğunda hesaplanan uzaklıkların ortalaması baştaki parametre değerine eşit çıkmıştır. Ancak standart sapma yine 8,532 gibi bir değer çıkmıştır. Denemeden denemeye farklılıkların bu kadar büyük olması örnek genişliğini büyük tutmamız gerektiğini göstermektedir. Deneme sayısı yine 50 için n=50 örnek genişliğinde standart sapma 6'ya düşmüştür. Optimum örnek genişliğini bu durumda 100 olarak almak gerektiği anlaşılmaktadır.

Belirteçler arası uzaklık arttığı zaman tahminlerin sapması ve etkinliği azalmaktadır. Meselâ r1=0,20; r2=0,10 (iki belirteç arasındaki uzaklık 30 hb) olduğu zaman n=50 için 50 denemenin sonuçları r1=0,21 ve r2=0,09 çıkmış, standart sapma da 4 civarında bulunmuştur.

Tablo: 4.2 incelendiği zaman görüleceği gibi, tahminlerin varyansı n büyüdükçe azalmaktadır. n=50 ile n=100 arasında da oldukça ciddi fark vardır.

Tablo 4.1 Simülasyonla Elde Edilen Örneklere İlişkin 2000 Denemenin Mesafe Tahminlerinin (r1 ve r2) Ortalamaları

Örnek Genişliği (n)	QTL ile İlk Belirteç (r1) ve İkinci Belirteç (r2) Arasındaki mesafe (Harita Birimi)		
	r1=0,08 (r2=0,07)	r1=0,11 (r2=0,04)	r1=0,12 (r2=0,03)
30		0,11 ve 0,04	0,12 ve 0,03
50	0,08 ve 0,07	0,11 ve 0,04	0,12 ve 0,03
100	0,08 ve 0,07	0,11 ve 0,04	0,12 ve 0,03

Tablo 4.2 Simülasyonla Elde Edilen Örneklere İlişkin 2000 Denemenin Mesafe Tahminlerinin (r1 ve r2) Standart Sapmaları

Örnek Genişliği (n)	QTL ile İlk Belirteç (r1) ve İkinci Belirteç (r2) Arasındaki mesafe (Harita Birimi)		
	r1=0,08 (r2=0,07)	r1=0,11 (r2=0,04)	r1=0,12 (r2=0,03)
30		9,377	9,368
50	5,258	5,306	4,685
100	2,400	2,247	1,981

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, halen kullanılan tahmin yöntemleri, lokuslar yakın olduğu zaman iyi sonuçlar vermektedir. Lokuslar arasındaki mesafe arttıkça tahminlerin ortalaması parametre değerinden daha farklı çıkmakta, yani tahminin sapması artmaktadır. Bir de deneme yapılırken veri elde edilecek örneklerin büyük olması gerektiği anlaşılmaktadır. Gerçekten örnek genişliği artıkça tahminin standart sapması küçülmekte, istatistik ifadesiyle etkinliği artmaktadır.

Bu çalışmanın belirli bir sürede bitme zorunluğu yüzünden ele alamadığımız ama çalışılması gereken bir konu, QTL iki belirteç lokus dışında olduğu zaman tahminlerin sapmasının ve etkinliğinin nasıl olacağıdır. İki belirteç lokusla tahminin sapması ve etkinliğini araştıracak, iki lokus isabetli tahminlere el vermiyorsa o zaman üçüncü belki dördüncü bir belirteç lokusu da devreye sokmak gerekip gerekmediğini araştıracak çalışmalar yapmak lazımdır.

KAYNAKLAR

Andrews, K. R., Good, J. M., Miller, M. R., Luikart, G. & Hohenlohe, P. A. (2016). "Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics", Nature Reviews Genetics, 17(2), 81.

Asins, M. J. (2002). Present and Future of Quantitative Trait Locus Analysis in Plant Breeding. Plant Breeding, 121: 281-291.Delgado R and Stefancic J (2001) Critical Race Theory: An Introduction. New York, NY: New York University Press. York Üniversitesi Yayınları.

Bardak, A., Çelik, S., Erdoğan, O., Ekinci, R. & Dumlupınar, Z., 2021, Association Mapping of Verticillium Wilt Disease in a Worldwide Collection of Cotton (Gossypium hirsutum L.),Plants 2021, 10, 306.

Beecher, B., Bettge, A., Smidansky, E. & Giroux, M.J., 2002. Expression of wild-type pinB sequence in transgenic wheat complements a hard phenotype. Theor. Appl. Genet., 105, 870-877.

Briney, A., Wilson, R., Potter, R.H., Barclay, I., Crosbie, G. & Appels, R., 1998. A PCR-based marker for selection of starch and potential noodle quality in wheat. Mol. Breed., 4, 427-433.

Buckler IV, E. S., & Thornsberry, J. M. (2002). Plant molecular diversity and applications to genomics. Current opinion in plant biology, 5(2), 107-111.

Daş, H. QTL Tespiti İçin Hayvanlarda Kullanılan Populasyonlar ve İstatistiksel Metodlar. Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 4(2), 270-291.

Düzgüneş, O. ve Ekingen, H.R. (1983) Genetik, 2. Baskı, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları 55, A.Ü. Basımevi, Ankara.

Dvorak, J., Luo, M.-C., Yang, Z.-L. & Zhang, H.B. (1998). The structure of the Aegilops tauschii gene pool and the evolution of hexaploid wheat. Theor. Appl. Genet., 97: 657-670.

Eriksson, G., Ekberg, I. & Clapham, D. 2013. Genetics Applied to Forestry: An Introduction. Department of Plant Biology and Forest Genetics, SLU, Box 7080, 750 07 Uppsala, Sweden, pp. 206.

Feuillet, C., Travella, S., Stein, N., Albar, L., Nublat, A. & Keller, B., 2003. Map-based isolation of the leaf rust disease resistance gene Lr10 from the hexaploid wheat (Triticum aestivum L.) genome. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 15253-15258.

Fidan, Y. (1985). Özel Bağcılık. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 930 Ders Kitabı No: 265. 401s.

Fisher, R. A., 1918 The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. Trans, Roy. Soc. Edinburgh 52: 3M33.

Griffith A.J.F, S.R. Wessler, S.B. Carroll & J Doeblry, 2012 (10th ed.), Introduction to Genetic Analysis, Freeman and Co.

Hackett, C. A. (2002). Statistical methods for QTL mapping in cereals. *Plant molecular biology, 48*(5), 585-599.

Hartl & Clark 2007, Principles of Population Genetics, Sinauer Assoc. Inc. Sunderland.

Ho, JC, SR McCouch & ME Smith. (2002). Improvement of hybrid yield by advanced methods. Backcross QTL analysis in elite maize. Theory. Application Genet. 105:440-448.

Huang, XQ, H. Coster, MW Ganal, & MS Roder. (2003). Analysis for the identification of quantitative trait locus alleles from advanced reverse cross QTL wild relatives wheat (Triticum aestivum L.). Theory. Application Genet. 106:1379-1389.

Huang, X.Q., Wang, L.X., Xu, M.X. & Röder, M.S., 2003a. Microsatellite mapping of the powdery mildew resistance gene Pm5e in common wheat (Triticum aestivum L.). Theor Appl. Genet., 106, 858-865.

Imtiaz, M., Ogbonnaya, F. C., Oman, J., & van Ginkel, M. (2008). Characterization of quantitative trait loci controlling genetic variation for preharvest sprouting in synthetic backcross-derived wheat lines. Genetics, 178(3), 1725-1736.

İşçi, B. (2006). Asma (Vitis vinifera L.)'da Genom Haritalaması: Önemli Morfolojik Karakterlere ve Fungal Kökenli Hastalıklara Yönelik AFLP ve SSR Linkage Gruplarının Oluşturulması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 211 s.

İşçi, B. (2008). Asmada Qtl (Kantitatif Karakter Lokus) Analizi. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 18* (2), 11-37.

Kashiani, P., Saleh, G., Panandam, J. M., Abdullah, N. A. P., & Selamat, A. (2012). Demarcation of informative chromosomes in tropical sweet corn inbred lines using microsatellite DNA markers. *Genetics and molecular biology, 35*(3), 614-621.

Kavuncu O. & Kesici, T. (1980), Populasyonların Genetik Yapılarında Seleksiyonla Meydana Gelecek Değişimlerin Çeşitli Etkenlere Bağlılığının Simulasyon Yöntemi ile Araştırılması, Ank.Ü. Zir.Fak.Dip.Son.Y.Ok. Doktora Tez Özetleri, sh.867-884.

Kavuncu, O. (2021), Populasyon genetiği ve Kantitatif Genetik, Nobel yayınları

Kimber, G. & Sears, E. R. (1987): Evolution in the genus Triticum and the origin of cultivated wheat. In: Heyne, E. G., (ed.), Wheat and Wheat Improvement, 2nd Ed. Am. Soc. Agron., Madison, WI. pp. 154–164.

Lander, E. S. & Botstein, D. (1989). Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using RFLP Linkage Maps. Genetics, 121: 185-199.

Li, C. C. (1968). Fisher, Wright, and path coefficients. *Biometrics*, 471-483.

Lynch, M. & Walsh, B. (1998). Genetics and Analysis of Quantitative Traits. Sunderland, ABD, s. 319-532.

Imtiaz, M., Ogbonnaya, F. C., Oman, J. & van Ginkel, M. (2008), Characterization of QTL controlling Genetic Variation for Pre-Harvest Sprouting in Synthetic Backcross Derived Wheat lines, Genetics: Published Articles Ahead of Print, published on February 3, 2008 as 10.1534/genetics.107.08493

Madini, A., Marino, R., Sevini, F., Di Gaspero, G., Velasco, R. & Grando, M.S., (2003). Mapping Defense-Related Genes and QTLs in Vitis.. Plant and Animal Genome XI Conference Abst. 11-15 Ocak 2003, San Diego, CA, ABD.

Mandl, K., J. L. Santiago, R. Hack, A. Fardossi, & F. Regner. (2006). A Genetic Map of Welschrieslingx Sirius for The Identification of Magnesium-Deficiency by QTL Analysis. Euphytica, 149 (1-2): 133-144.

Marino, R., F. Sevini, A., Madini, A., Vecchione, I., Perlot, A., Della Serra, G., Versini, R. Velasco, & M. S. Grando. (2003). QTL Mapping for Disease Resistance and Fruit Quality in Grape. ISHS VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding. Acta Horticulturae, 603: 528-533

Merdinoğlu, D., Wiedeman-Merdinoğlu, S., Coste, P., Dumas, V., Haetty, S., Butterlin, G. & Greif, C. (2003). Genetic Analysis of Downy Mildew Resistance Derived from Muscadinia rotundifolia. ISHS Acta: VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding. Horticulturae, 603: 451-456.

Model Plants and Crop Improvement (Editors: R. K. Varshey, R. M. D. Koebner) (2007).

Nei, M. (1975). *Moleküler popülasyon genetiği ve evrimi*. Kuzey Hollanda Yayıncılık Şirketi..

Nurengin, M., & Çetin, Ö. *Zeytinde Genom Haritalama Çalışmaları*. Zeytin Bilimi, 7(1), 33-37.

Ohtsuka, I. (1998). Origin of the central European spelt wheat. In A.E. Slinkard, ed. Proc. 9th Int. Wheat Genetics Symp, vol. 2, p. 303-305. University of Saskatchewan, Canada, University Extension Press.

Özcan, S., Gurel E. & Babaoğlu, M. (2001). Bitki Biyoteknolojisi (Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları). S. Ü. Vakfı Yayınları, 456s.

Paterson, A. H., Lander, E. S., Hewitt, J. D., Paterson, S., Lincoln, S. E. & Tanksley, S. D. (1988). Resolution of Quantitave Traits into Mendelian Factors by Using a Complete Map of Restriction Fragment Length Polymorphisms. Nature, 335: 721-726.

Peng, J.R., Richards, D.E., Hartley, N.M., Murphy, G.P., Devos, K.M. & Flintham, J.E., (1999). 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. Nature, 400, 256-261.

Pinto, RS., Reynolds, MP., Mathews, KL., McIntyre, CL., Olivares-Villegas, JJ. & Chapman, SC. (2010) Adaptation to heat and drought and QTL in a wheat population designed to minimize confounding agricultural effects. Theoretical and Applied Genetics 121, 1001–1021.

Riaz, S. & Walker. M. A. (2003). Extended Genetic Linkage Map of a Vitis rupestris and Muscadinia rotundifolia Population and Comparisons with the International Vitis vinifera Reference Map. Genetics, ASEV 54th Annual Meeting Reno, Nevada.

Riaz, S., Dnagl, G. S., Edwards, K. J. & Meredith, C. P. (2004). A Microsatellite Marker Based Framework Linkage Map of Vitis vinifera L. Theor. Appl. Genet., 108: 864-872.

Salmaso, M., Malacarne, G., Troggio, M., Faes, G., Stefanini, M., Grando, M. S. & Velasco, R. (2008). A grapevine (Vitis vinifera L.) Genetic Map Integrating the Position of 139 Expressed Genes. Theor Appl Genet., 116:1129–1143.

Sevini, F., Marino, R. & Grando, M. S. (2004). Mapping Candidate Genes and QTLs For Aroma Content in Grape. Proc. Ist Int'l. Symp. on Grapevine. Acta Hort., 652: 439-446

Slate, J. (2013). From Beavis to beak color: a simulation study to examine how much QTL mapping can reveal about the genetic architecture of quantitative traits. Evolution, 67(5), 1251-1262.

Sönmezoğlu, Ö. A., Yıldırım, A., Güleç, T. E. & Kandemir, N. (2010), Markör Destekli Seleksiyonun Buday Islahında Kullanımı, GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi, 27(1), 105-112.

Staub, J. E. & F. C. Serquen. (1996). Genetic Markers, Map Construction, and Their Application in Plant Breeding. Hortscience, Vol: 31(5): 729-741

Striem, M. J., Ben-Hayyim, G. & Spiegel-Roy, P. (1996). Identifying Molecular Genetic Markers Associated with Seedlessness in Grape. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 121 (5): 758-763.

Şahin, Ö., & Kavuncu, O. QTL Analysis Methods. Kastamonu University Journal of Engineering and Sciences, 5(1), 51-57.

Takuno, S., Terauchi, R., & Innan, H. (2012). The power of QTL mapping with RILs.

Tanksley, SD & Nelson, JC (1996). Enhanced backcross QTL analysis: Simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm to elite breeding lines. Theory. Application Genet. 92:191-203.

Thomson, M. J., Zhao, K., Wright, M., McNally, K. L., Rey, J., Tung, C. W., Reynolds, A., Scheffler, B., Eizenga, G., McClung et.al. (2012). "High-throughput single nucleotide polymorphism genotyping for breeding applications in rice using the BeadXpress platform", Mol. Breed., 29, 875-886.

Velioğlu, E. , Alan, M. , Atmaca, C. , Taştan, Y. & Uzan, B. (2020). Türkiye'deki Prunus avium L. popülasyonlarında bazı kantitatif özellikler için genetik parametrelerin tahmini . Ormancılık Araştırma Dergisi , 7 (2) , 179-192 . DOI: 10.17568/ogmoad.740178

Walker, M. A. & Jin, Y. (2000). Breeding Vitis rupestris x Muscadinia rotundifolia Rootstocks to Control Xiphinema index and Fanleaf Degeneration. Proc. of VII. International Symp. On Grapevine Genetics and Breeding, Montpellier, France, 6-10 Tem. 1998, Vol 2. Acta Horticulturae, 528: 511-515

Wang, J., Chapman, SC., Bonnet, DG. & Rebetzke, GJ. (2009) Simultaneous selection of major and minor genes: use of QTL to increase selectivity of coleopil length (Trii cum aesi vum L.) in wheat. Theoretical and Applied Generics 119(1), 65-74.

Watson, B., (2008). Use of Marker Assisted Selection for the Introgression of Quality Traits from Australian into Chinese Wheats. University of Southern Queensland. Master of Science thesis (PhD).

Welter, L., Göktürk-Baydar, N., Akkurt, M., Maul, E., Eibach, R., Töpfer, R. & Zyprian, M. E. (2007). Genetic Mapping and Localization of Quantitative Trait Loci Affecting Fungal Disease Resistance and Leaf Morphology in Grapevine (Vitis vinifera L). Moleculer Breeding. Vol 20 (4), 359-374.

Winkler, A. J., Cook, J. A., Kliwer, W. M. & Lider, A. (1974). General Viticulture. Univ. Calif. Pres, Berkeley and Los Angeles, 710 p.j

Wright, S., (1922) Coefficients of inbreeding and relationship. Am. Nat. 56: 330-338.

Yagcioglu, M., Jiang, B., Wang, P., Wang, Y., Ellialtioglu, S. S., & Weng, Y. (2019). QTL mapping of low temperature germination ability in cucumber. Euphytica, 215(4), 1-11.

Yan, L., Loukoianov, A., Tranquilli, G., Helguera, M., Fahima, T. & Dubcovsky, J., (2003). Positional cloning of wheat vernalization gene VRN1. Proc. Natl. Acad. Sci., 100, 6263-6268.

Yan, L., Loukoianov, A., Tranquilli, G., Blechl, A., Khan, I.A. & Ramakrishna, W., (2004). The wheat VRN2 gene is a flowering repressor down-regulated by vernalization. Science, 303, 1640-1644.

Yang, W., Liu, D., Li, J., Zhang, L., Wei, H., Hu, X., Zheng, Y., He, Z. & Zou, Y. (2009), Synthetic hexaploid wheat and its utilization for wheat genetic improvement in China. *Journal of Genetics and Genomics*.; 36:539–546.

Yaşa, Z. (2005). *Asma (Vitis vinifera L.)'da Önemli Vegetatif ve Generatif Karakterler ile Hastalıklara Dayanım Özelliklerine Yönelik Genom Haritalaması*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 123 s.

Ye, G. N., Lodhi, M. A., Weeden, N. F. & Reisch. B. I. (1995). A RAPD Linkage Map for Grape and Identification of Major QTL for Powdery Mildew Resistance. BARD Project. Final BARD Report, US 1888-90. pp 54-67.

Yurter, H. E. (2001). Gen Ekspresyon Analizinde Microarray Teknolojisinin Kullanımı. DEU Tıp Fakültesi Dergisi Özel Sayısı 41-48

Zavala, K., Mejia, N., Sagredo, B. & Hinrichsen, P. (2002). Consruction of a Linkage Map for Apirenic Table Grapes and Identification of Markers Linked to Seedlessness. Plant Animal & Microbe Genome x Conference Abst. 12-16 Ocak 2002.

Zyprian, E., Eibach, R., Akkurt, M. & Topfer, R. (2005). Genetic Mapping of SSR Markers in Grapevine for The Analysis of Disease Resistance and Flavor Compounds. Plant and Animal Genome XIII Conference Abst. 15-19 Ocak 2005, San Diego, CA, ABD.

Zyprian, E., Salakhutdinov, L., Fischer, B., Akkurt, M. & Topfer, R. (2002). Molecular Mapping of Grapevine and QTL Analysis of Fungal Disease Resistances. Plant and Animal & Microbe Genome x Conference Abst. 12 -16 Ocak 2002, San Diego, C A, ABD. San Diego, C A, ABD.