



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KAMAN-1 CEVİZ ÇEŞİDİNDE SERBEST  
TOZLANMIŞ TOHUMLARDAN ELDE EDİLEN  
GENOTİPLERİN FENOLOJİK VE MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU**

**ÖZLEM KELEŞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**KAHRAMANMARAŞ 2020**

**T.C.**

**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KAMAN-1 CEVİZ ÇEŞİDİNDE SERBEST  
TOZLANMIŞ TOHUMLARDAN ELDE EDİLEN  
GENOTİPLERİN FENOLOJİK VE MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU**

**ÖZLEM KELEŞ**

**Bu tez,**

**Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında**

**YÜKSEK LİSANS**

**derecesi için hazırlanmıştır.**

**KAHRAMANMARAŞ 2020**

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Özlem KELEŞ tarafından hazırlanan “Kaman-1 Ceviz Çeşidinde Serbest Tozlanmış Tohumlardan Elde Edilen Genotiplerin Fenolojik ve Moleküler Karakterizasyonu” adlı bu tez, jürimiz tarafından 17/02/2020 tarihinde oy birliği ile Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ (DANIŞMAN)

Bahçe Bitkileri, KSÜ

Prof. Dr. Hakan YILDIRIM (ÜYE)

Bahçe Bitkileri, Malatya Turgut Özal Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Sabahattin CÖMERTPAY (ÜYE)

Tarımsal Biyoteknoloji, KSÜ

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YAZICI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

ÖZLEM KELEŞ

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2018/5-7 YLS

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

**KAMAN-1 CEVİZ ÇEŞİDİNDE SERBEST TOZLANMIŞ TOHUMLARDAN ELDE  
EDİLEN GENOTİPLERİN FENOLOJİK VE MOLEKÜLER  
KARAKTERİZASYONU  
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**ÖZLEM KELEŞ**

**ÖZET**

Bu çalışmada, ana çeşit (Kaman-1) ve bu çeşitten serbest tozlanmış tohumlardan elde edilen 79 genotip materyel olarak kullanılmıştır. Araştırma genotiplerinin birbirine ve ana çeşide göre fenolojik ve genetik farklılıklarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Fenolojik olarak genotiplerin, tomurcuk patlama, yapraklanma, yaprak sararma ve yaprak döküm dönemleri incelenmiştir. Genotiplerde genetik varyasyonu belirlemek için 12 farklı Basit Tekrarlı Diziler Arası Polimorfizm (ISSR) primeri kullanılmıştır.

Ceviz genotiplerinde fenolojik aktiviteye başlangıç periyotlarının, tomurcuk patlamada 48 gün, yapraklanmada 47 gün, yaprak sararmada 25 gün, yaprak dökümünde ise 33 gün boyunca devam ettiği belirlenmiştir. Ana çeşit ile genotipler karşılaştırıldığında, tomurcuk patlamada %94.74, yapraklanmada %88.41, yaprak sararma ile yaprak dökümünde ise %100 seviyesinde fenolojik varyasyon görülmüştür. Genotiplerde ortalama fenolojik varyasyonun ise %95.78 olduğu hesaplanmıştır.

Genetik farklılıkların belirlenmesi için yürütülen analizler sonucunda polimorfizm oranının %86.36 olduğu tespit edilirken, genotiplerde farklılık oranlarının %1 ile %99 arasında değiştiği belirlenmiştir. UPGMA benzerlik indeksi kullanılarak oluşturulan dendogram ve kümeleme analiz sonuçlarına göre ceviz genotipleri 2 ana kümede yer almıştır.

Bu çalışmada kullanılan ceviz popülasyonunun hem fenolojik hem de genetik olarak önemli bir çeşitliliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Gen kaynaklarının yönetiminde fenolojik ve moleküler verilerin birlikte kullanılmasının önemi teyit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ceviz, *Juglans regia* L., moleküler, fenoloji, ISSR

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Şubat / 2020

Danışman: Prof. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ

Eş Danışman: Dr. Şakir Burak BÜKÜCÜ

Sayfa sayısı:58

**DETERMINATION OF PHENOLOGICAL AND GENETIC DIFFERENCES IN  
GENOTYPES OBTAINED FROM FREE POLLINATED SEEDS IN KAMAN-1  
WALNUT CULTIVAR  
(M.Sc. THESIS)**

**ÖZLEM KELEŞ**

**ABSTRACT**

In this study, the main cultivar (Kaman-1) and 79 genotypes obtained from free-pollinated seeds of this cultivar were used. This study was carried out to determine the phenological and genetic differences of genotypes according to each other and the main cultivar. Phenologically, the periods of budburst, foliation, yellowing and defoliation of genotypes were investigated. 12 different Simple Repetitive Inter-series Polymorphism (ISSR) primers were used to determine genetic variation in the walnut genotypes.

It was determined that the starting periods of phenological activity in walnut genotypes continued for 48 days in budburst, 47 days in foliation, 25 days in leaf yellowing and 33 days in defoliation. When comparing genotypes with the main cultivar, it was calculated that there is 94.74% in budburst, 88.41% in foliation, 100% in foliar and defoliation. When comparing the genotypes with the main cultivar, phenological variation was observed at the level of 94.74% in budburst, 88.41% in leaf yellowing and 100% in defoliation. The average phenological variation in genotypes was determined to be 95.78%.

As a result of the analyzes carried out to determine genetic differences, it was determined that the polymorphism rate was 86.36%, while the genetic difference rates in genotypes varied between 1% and 99%. According to the dendrogram and cluster analysis results created using the UPGMA similarity index, walnut genotypes were included in 2 main clusters.

The walnut population used in this study was determined to have a significant variation both phenologically and genetically. The importance of using phenological and molecular data together in the management of gene resources has been confirmed. The importance of using phenological and molecular data together in the management of gene resources has been confirmed.

**KeyWords:** Walnut, *Juglans regia* L., genotype, molecular, phenology, ISSR

Kahramanmaraş Sütçü İmam University  
Institute for Graduate Studies in Science and Technology  
Department of Horticultural Science, February/2020

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ  
Co-supervisor: Dr. Şakir Burak BÜKÜCÜ  
Pagenumber: 58

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, değerli bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ ve Dr. Şakir Burak BÜKÜCÜ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Çalışmalarında ve tez yazım aşamasında bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Öğretim Görevlisi Dr. Akide ÖZCAN'a teşekkür ederim. Her konuda destekçim olan ve yardımlarını esirgemeyen Ziraat Yüksek Mühendisi Esra YILDIRIM'a ve diğer çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Sayın Dr. Öğr. Üyesi Adem BARDAK hocama ve Dr. Halil TEKEREK'e teşekkür ederim.

Ayrıca Yüksek Lisans çalışmalarımın tüm aşamalarında maddi ve manevi desteğini esirgemeyen çok değerli aileme en kalbi duygularıyla teşekkürlerimi arz ederim.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne bu çalışmaya verdiği destekten dolayı teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
EKLER DİZİNİ .....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	7
2.1 Fenolojik Gözlemler .....	7
2.2 Moleküler Çalışmalar .....	10
3. MATERYAL VE METOT .....	15
3.1. Materyal .....	15
3.1.1. Kaman-1 Çeşidinin Özellikleri .....	15
3.2. Metot.....	16
3.2.1. Ceviz tohumlarının ıslatılması ve ekimi .....	16
3.2.2. Fenolojik gözlemler .....	16
3.2.2.1. Tomurcuk patlama ve yapraklanma dönemi.....	16
3.2.2.2. Yaprak sararma- döküm dönemi.....	17
3.2.2.3. Fenolojik sınıflandırma .....	17
3.2.3. Moleküler analizler .....	19
3.2.3.1. Yaprak örneklerinin toplanması.....	19
3.2.3.2. DNA izolasyonu.....	19
3.2.3.3. Genotiplerin DNA markörleri ile taranması .....	21
3.2.3.4. ISSR analizleri .....	21
3.2.3.5. Genotiplere ait jel görüntülerinin elde edilmesi.....	22
3.2.3.6. DNA bantlarının skorlanması .....	22
3.2.3.7. Veri analizi.....	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	24

4.1. Fenolojik Gözlemler .....	24
4.1.1. Tomurcuk patlama- yapraklanma dönemi .....	24
4.1.2. Yaprak sararma-döküm dönemi .....	26
4.2. Genotipler Arasındaki Genetik Farklılığın Belirlenmesi.....	34
4.3. Genotiplere ait Dendogram.....	35
4.4. Popülasyonun Genetik Yapı Analizi.....	38
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	40
KAYNAKLAR.....	42
EKLER.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	58



## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1.1. Yıllara göre dünya kabuklu ceviz üretim miktarları .....	3
Şekil 3.1.Kaman-1 ceviz çeşidinin meyvelerine ait görsel.....	15
Şekil 3.2. Fenolojik gözlemler (yapraklanma safhaları) .....	16
Şekil 3.4. Genç taze sürgünlerden yaprak örneklerinin alınması .....	19
Şekil 3.5. Ceviz genotiplerinin DNA izolasyonuna ait görseller .....	20
Şekil 4.1. Ceviz genotiplerinin tomurcuk patlama- yapraklanma başlangıç dönemlerinin sınıflandırılması .....	26
Şekil 4.2. Ceviz genotiplerinin yaprak sararma-döküm başlangıcı dönemlerinin sınıflandırılması .....	27
Şekil 4.3. ISSR 4 primer kombinasyonlarına ait jel-1 bantlarının görünümü .....	34
Şekil 4.4. Ceviz genotiplerine ait dendogram .....	37
Şekil 4.5. Structure programından elde edilen ideal K değeri hesaplama grafiği (K=2) ....	38
Şekil 4.6. Structure 2.3.4 programı ile elde edilenceviz genotiplerine ait kümeleme analizi .....	39

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Çizelge 1.1. Dünyada önemli ceviz üreticisi ülkelerin üretim miktarları (ton).....	3
Çizelge 1.2. Türkiye’de yıllara göre ceviz yetiştiriciliği .....	4
Çizelge 3.1. Genotiplerin ana çeşide göre fenolojik ve genetik özelliklerinin sınıflandırılması .....	17
Çizelge 3.2. Ana çeşide göre genotiplerinin fenolojik özelliklerinin sınıflandırılması.....	18
Çizelge 3.3. PCR’de kullanılan ISSR primerleri ve nükleotid dizilimleri .....	21
Çizelge 4.1. Ceviz genotiplerinin bazı fenolojik özellikleri ve sınıflandırılması.....	29
Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin allel sayıları ve polimorfizm bilgi içerik değerleri .....	35

## EKLER DİZİNİ

### Sayfa No

Ek-1. Tomurcuk patlama- yapraklanma periyodu .....	47
Ek-2. Yaprak sararma başlangıç-yaprak döküm periyodu .....	52
Ek-3. Genotiplere ait Nei genetik benzerlik matrisi .....	57



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
RAPD	: Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Random Amplification of Polymorphic DNA)
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism
AFLP	: Amplifiye Fragment Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
SSR	: Basit Dizi Tekrarı (Simple Sequence Repeat)
ISSR	: Kısa Dizi Tekrarları (Inter Simple Sequence Repeat)
SRAP	: Dizi İlişkili Çoğaltılmış Polimorfizm (Sequence-Related Amplified Polymorphism)
rpm	: Dakikadaki Devir Sayısı (Revolutions Per Minute)
ng	: Nanogram
mM	: Milimolar
PCA	: Principal Component Analysis
PIC	: Polimorfik Bilgi İçeriği (Polimorphic Information Content)
UPGMA	: Aritmetik Ortalama ile Ağırlıksız Çift Grubu Metodu (Unweighted Pair Group Methodwith Arithmetic Mean)
pmol	: Pikomol
µL	: Mikrolitre
mL	: Mililitre
dNTP	: Deoxynucleotide Trifosfat
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit

## 1. GİRİŞ

Türkiye, coğrafik konumundan ötürü çok farklı iklim yapılarına sahiptir. Anadolu'nun bitkisel çeşitlilik olarak önemli bir zenginliğe sahip olması yanında botanik olarak çok sayıda kültür bitkisinin gen kaynağı olması da bu iklim farklılığından kaynaklanmaktadır.

Türkiye'nin göç yolları üzerinde bulunması ve ekolojik şartlar bakımından uygunluğu bahçe bitkileri yetiştiriciliği açısından birçok tür için önemli bir avantaj sağlamaktadır. Anadolu'nun bu yapısından dolayı meyvecilik kültürünün bu topraklarda yaşayan medeniyetler kadar eski olduğu bilinmektedir (Ağaoğlu ve ark., 1997).

Sert kabuklu ve sert çekirdekli meyvelerden olan fındık, kayısı ve kiraz gibi meyve türlerinin hem üretim miktarları hem de ihracatı açısından Türkiye, dünyada ilk sırada yer almaktadır. Cevizde de dünyada söz sahibi olan Türkiye, 2017 yılı ithalat ve ihracat verilerine bakıldığında 17.382 ton ithalat, 7.185 ton ise ihracat gerçekleştirmiştir (Anonim,2020).

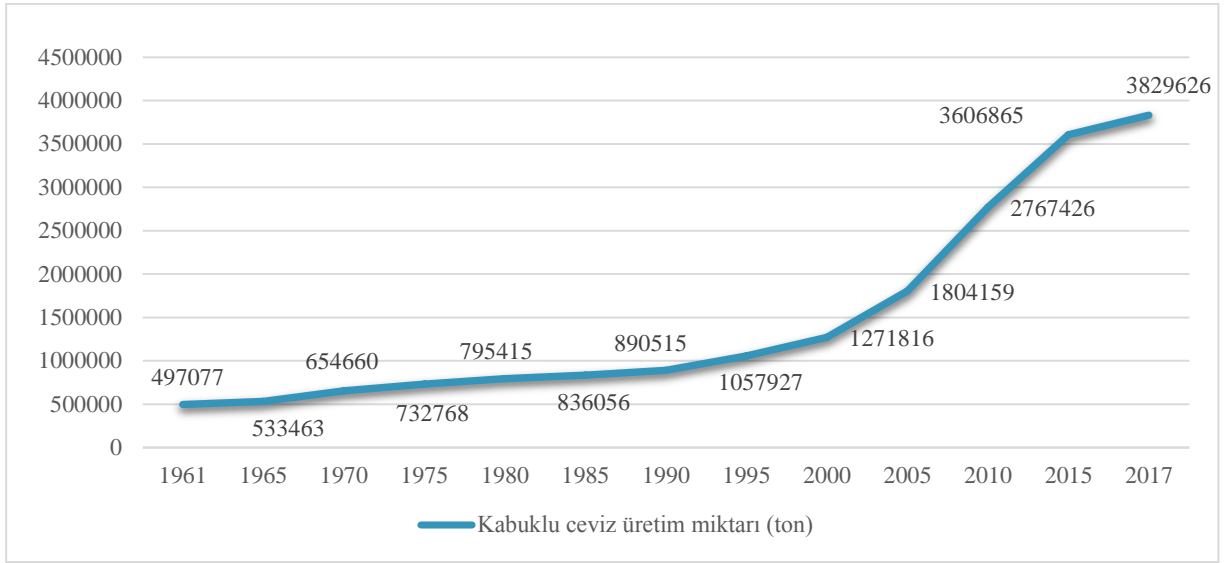
Sert kabuklu meyveler arasında yer alan ceviz (*Juglans regia* L.); botanik olarak *Dicotyledonea* sınıfı, *Juglandales* takımı, *Juglandaceae* familyası, *Juglans* cinsi içerisinde (Şen, 1986). Bu cinse bağlı, özellikleri tespit edilen 22 tür yer almasına rağmen meyve kalitesinin üstünlüğü nedeniyle ticari olarak *Juglans regia*'nın yetiştiriciliği tercih edilmektedir. Ceviz meyve türü doğal olarak dünyanın birçok yerinde yetişmekle birlikte; Orta Amerika'da, Kuzey Amerika'nın güney ve doğu kısımlarında, Arjantin'den Kolombiya'ya kadar uzanan mesafedeki Ant Dağlarında, Japonya'da, Çin'de, Küçük ve Büyük Antillerde, Hindistan'dan Türkiye'ye kadar uzanan, Güney Asya'da ve Güney Avrupa'dan Polonya'nın Karpat Dağlarına kadar çok geniş bir alanda yayılım göstermektedir (Şen, 2011).

Ceviz, monoik yapıya sahip olup dikogami çiçeklenme özelliği göstermektedir. Bazı ceviz genotipleri içerisinde çok az da olsa homogami çiçeklenme durumu görülmektedir. Ancak dikogami (erkek ve dişi çiçeklerin farklı zamanlarda açması ve olgunlaşması) özelliğinden dolayı ceviz yaygın olarak yabancı tozlanmaktadır. Bu nedenle bahçe tesislerinde genellikle tozlayıcı bitkiye ihtiyaç duyulmaktadır. Erkek çiçeklerden saçılan polenlerin rüzgâr yardımıyla dişicik tepesine ulaşmasıyla tozlanma gerçekleşir. Rüzgârla tozlanmada çiçek tozu kaybı çok fazla olduğundan çok sayıda erkek organ ve buna bağlı olarak çok sayıda polene

ihtiyaç duyulur. Erkek çiçekler bir önceki sonbahar döneminde meydana gelmektedir. Bir püskül üzerinde 100-160 arasında değişen miktarda erkek çiçek bulundurmakta olup, bunlar yaklaşık iki milyon polen tanesi üretebilmektedir. Dişi çiçekler ise mevcut vegetasyon döneminde tepe veya yan tomurcuklarda meydana gelmektedir. Dişi çiçekler bir çiçek sapında genellikle 2 veya 3'lü olarak görülmektedir (Bernard ve ark., 2018; Şen,2011).

Ceviz meyvesinin muhtevastaki besin öğeleri ve yüksek enerji değeri ile sağlıklı beslenmenin bir parçası olduğu bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Bu niteliği ise içerdđi doymamış yağ asitleri, mineral maddeler, vitaminler ve antioksidanlardan kaynaklanmaktadır. İçerdđi antioksidanlar etkili polifenoller ve omega-3 yağ asitleri sağlıklı yaşam için cevizin önemini iyice artırmış olup kalp ve damar hastalıklarına karşı koruyucu etkisi bakımından adeta ilaç olarak önerilmesine yol açmıştır. Özellikle, kandaki iyi kolesterolü (HDL) yükseltmesi, kötü kolesterolü (LDL) ve trigliserit düzeyini düşürücü etkisi ile her gün tüketilmesi tavsiye edilmektedir (Şahin, 2005). İnsan sağlığına olan önemli katkısından dolayı Dünya ve Türkiye'de cevizin tüketimi de her geçen gün artış göstermeye devam etmektedir.

Dünya'da yıllara göre kabuklu ceviz üretimi dağılımı incelendiğinde 1960 yılında 497.077 ton kabuklu ceviz üretimi yapılmakta iken, 2017 yılında yaklaşık 8 kat artarak 3.829.626 ton üretim yapılmıştır. Üretim miktarındaki en önemli artış ise 2000'li yıllardan sonra meydana gelmiştir (Şekil 1.1). Dünya'da 2018 yılında en fazla ceviz üretimi 1.586.367 ton ile Çin'de yapılmaktadır. Bu ülkeyi ABD ve İran takip ederken, Türkiye 215.000 ton üretimi ile dünya kabuklu ceviz üretim miktarında dördüncü sırada yer almaktadır. (Çizelge 1.1)



Şekil 1.1. Yıllara göre dünya kabuklu ceviz üretim miktarları. Kaynak: Anonymous, (2020)

Çizelge 1.1. Dünyada önemli ceviz üreticisi ülkelerin üretim miktarları (ton)

Ülkeler	2014	2015	2016	2017
Çin	1.607.394	1.713.397	1.819.400	1.925.403
ABD	518.002	549.754	625.050	571.530
İran	403.158	403.158	368.149	349.192
Türkiye	180.807	190.000	195.000	210.000
Meksika	125.758	122.714	141.818	147.198
Ukrayna	102.740	115.080	107.990	108.660
Şili	55.832	65.232	73.724	79.554
Romanya	31.514	33.394	34.095	45.797
Özbekistan	44.000	52.000	53.175	34.678
Hindistan	43.000	35.000	33.000	32.000

Kaynak: Anonymous, 2020

Dünya’da mevcut konumu itibariyle ceviz yetiştiriciliğinde Türkiye önemli bir üretici konumundadır. Ancak diğer ülkeler ile kıyas edildiğinde Türkiye’nin üretim miktarı henüz istenilen seviyelerde değildir. Türkiye’de bu önemli meyve türüne yönelik kapama

bahçe sayısının artışı ile gelecekte dünya sıralamasında daha iyi yerlere gelineceği düşünülmektedir. Türkiye’de, son 15 yıllık süre zarfında ceviz ağacı sayısında, üretim alanında ve üretim miktarında önemli artışların olduğu görülmektedir. Nitekim 2006 yılı verileri incelendiğinde 208.967 dekar alandaki 6.948.893 ağaçtan 129.614 ton ürün elde edilirken, 2019 yılına gelindiğinde ise 21.254.843 dekar alanda yer alan 21.254.843 adet ceviz ağacından 225.000 ton ürün elde edildiği belirtilmektedir. 2006 yılı ile 2019 yılı verileri karşılaştırıldığında üretim miktarında %173 gibi bir artış görülürken, ağaç sayısında ise yaklaşık %305 artış gözlemlenmiştir (Çizelge 1.2). Bu durumun sebebi yeni kurulan kapama bahçelerinin sayısında önemli bir artışın meydana gelmesi ve cevizin gençlik kısırlık süresinin uzun olması sebebiyle bu ağaçların tam verim çağına henüz ulaşamamış olmalarıdır.

Çizelge 1.2. Türkiye’de yıllara göre ceviz yetiştiriciliği

Yıl	Meyve veren yaşta ağaç sayısı (adet)	Meyve vermeyen yaşta ağaç sayısı (adet)	Toplu meyveliklerin alanı (dekar)	Verim (kg/meyve veren ağaç)	Üretim (ton)
2006	4.595.453	2.353.440	208.967	28	129.614
2007	4.926.985	2.788.405	286.797	35	172.572
2008	5.094.781	2.951.522	328.873	34	170.897
2009	5.191.724	3.200.279	366.736	34	177.298
2010	5.441.051	3.643.380	413.932	33	178.142
2011	5.594.576	4.045.119	468.378	33	183.240
2012	5.977.397	4.541.958	552.019	34	203.212
2013	6.526.028	4.877.669	639.015	33	212.140
2014	7.000.897	5.374.456	693.947	26	180.807
2015	7.596.020	5.560.227	718.196	25	190.000
2016	8.171.185	6.873.271	868.528	24	195.000
2017	8.766.811	7.894.728	920.128	24	210.000
2018	9.875.068	8.896.575	1.117.749	22	215.000
2019	11.250.526	10.004.317	21.254.843	20	225.000

Kaynak: Anonim, 2020

Ceviz meyvesine olan talebin her geçen gün giderek artması ile birlikte, bu meyve türünün yetiştiriciliğinde ve üzerinde yürütülen bilimsel çalışmaların sayısında artış

göstermektedir. Meyvecilikte diğer bitkilere kıyasla ceviz yetiştiriciliği ve çoğaltılması daha uzun zaman ve emek gerektirmektedir. Aynı zamanda cevizin heterozigot yapıya sahip olmasında bu meyve türünün çoğaltılmasını güçleştirmektedir. Üretim açısından sorun teşkil eden bu durum, ıslahçılar açısından önemli bir genetik varyasyon sağlamaktadır. Cevizde bir problem olan gençlik kısırlığı süresinin uzun olması, ıslah çalışmalarını kısıtlayan önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır (Özcan ve Sütyemez, 2014). Biyoteknolojik yöntemlerde görülen son zamanlardaki hızlı ilerleme bu sürenin kısalmasına da önemli katkılar sunmaktadır. Farklılığın DNA düzeyinde ölçülmesi ve üzerinde çalışılan genotiplerde istenilen bir genin ya da özelliğin izlenmesine imkan sağlaması bakımından moleküler markör teknolojileri çok önemli biyoteknolojik araçlar olarak karşımıza çıkmaktadır. Markör teknolojileri fiziksel haritalamadan gen keşfi ve etiketlemeye, filogenetik çalışmalara tekamül eden genetiğe ve genetik çeşitlilik çalışmalarına kadar pek çok alanda etkin şekilde kullanılmaktadırlar (Filiz ve Koç, 2011).

Fenolojik farklılıkları bünyesinde barındıran morfolojik markörler bir bitkiyi ya da bitki grubunu morfolojik anlamda diğerlerinden ayıran özellikler aracılığıyla değerlendirilmektedir. DNA markör teknolojisinde görülen ilerleme son yıllarda çok üst seviyelere ulaşmış ve filogenetik analizlerde etkin şekilde kullanımı giderek artmaktadır. Moleküler markörlerin morfolojik markörlerle beraber kullanılması bitki ıslahçılarında daha yüksek etkinlikle çalışma imkânı sağlamaktadır (Ekincialp ve Kazankaya, 2012).

Genetik farklılıkların bitki düzeyinde ortaya çıkarılmasında kullanılan ilk DNA markörü RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi olmuştur (Tanksley ve ark., 1989). RFLP tekniği PCR (Polymerase Chain Reaction) esaslı olmayıp, kodominant bir markör tekniğidir. Uzun süre yaygın bir şekilde kullanılan RFLP, pahalı ve fazla zaman alıcı olması, çok fazla iş gücü gerektirmesi, yüksek kalitede DNA'ya gereksinim duyması gibi dezavantajları ile PCR temelli tekniklerin sağladığı avantajlar nedeniyle kullanımı oldukça sınırlı kalan bir moleküler markör tekniği olmuştur. PCR, 1985 yılında geliştirilmiş bir yöntem olup, *in vitro* koşullarda DNA dizilerinin çoğaltılması esasına dayanır. PCR'in ortaya çıkması ile birlikte SSR (Simple Sequence Repeat), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ve ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) gibi markör sistemleri de geliştirilmiştir (Yorgancılar ve ark., 2015). Bu markör sistemleri bazı avantaj ve dezavantajlara sahip olup, kullanımları laboratuvar şartları ve

yürütülen çalışmalara göre değişiklik gösterebilmektedir. Bu doğrultuda polimorfizm açısından SSR ve AFLP markörleri, fiyat açısından RAPD ve ISSR yöntemleri avantajlı iken tekrarlanabilirlik açısından RFLP, SSR, ISSR ve AFLP yöntemleri avantajlı konumdadır. Şartların sınırlı olduğu ve radyoaktif madde kullanımının olmadığı laboratuvarlarda çalışma şartları göz önüne alınarak RAPD ve ISSR yöntemleri rahatlıkla kullanıldığı bildirilmiştir (Powell ve ark., 1996). Ayrıca SSR ve AFLP analizlerinde radyoaktif madde kullanmadan yüksek çözünürlükte agaroz jel kullanarak veya DNA'lar etidyum bromür ile boyanarak laboratuvar şartlarında bu yöntemler uygulanabilmektedir (Hormaza, 2002).

ISSR yöntemi, ökaryotik genomlarda tekrar eden 2, 3, 4, 5 gibi nükleotid birimlerinin lokustan bağımsız bir şekilde genomda rastgele dağılımlarını esas alan ancak RAPD yöntemine göre çok daha hassas ve tekrarlanabilirliği yüksek olan bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. ISSR markörlerinin güvenilirliğinin fazla olmasında, kullanımının hızlı, uygulanmasının kolay ve primerlerin daha uzun olması faktörleri etkilidir. Yeterli bilgi sunan ISSR primerlerini kullanmak düşük bir maliyet, zamandan tasarruf ve genetik analizlerde kolaylık sağlamaktadır. Ayrıca bu markör tekniği son yıllarda birçok bitki türünde genetik çeşitliliğin belirlenmesi, filogenetik çalışmalar ve genom haritalarının oluşturulması gibi konularda etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Yorgancılar ve ark., 2015). Cevizde ise bu markör tekniği genotiplerin orijinlerinin belirlenmesi (Malvolti ve ark., 2010) ve genetik çeşitliliğin belirlenmesi (Potter ve ark., 2002; Christopoulos ve ark., 2010; Pollegioni ve ark., 2003) gibi konularda etkili bir şekilde kullanılmıştır.

Tohumla çoğaltmanın kullanıldığı meyve türlerinde çoğaltma sonucu elde edilen genotipler önemli oranda genetik varyasyon göstermektedir. Meyve türlerinde bu genetik varyasyonun fenolojik ve genetik olarak hangi seviyelerde yer aldığı ile alakalı yapılmış çalışma sayısı sınırlıdır. Cevizde tohumla çoğaltılan çöğür bitkilerin fenolojik ve genetik olarak ne kadar bir varyasyon olduğu yönünde bir çalışma mevcut değildir. Bu yüzden, bu tez kapsamında Kaman-1 ceviz çeşidinde:

1-Serbest tozlanma ile elde edilen ceviz genotiplerinin fenolojik özelliklerinin tanımlanması ve ana çeşit ile kıyaslanması,

2- ISSR tekniği kullanılarak moleküler karakterizasyonun belirlenmesi ve ana çeşit ile aralarındaki genetik ilişkilerin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1 Fenolojik Gözlemler

Slovenya'nın kuzeyinde yer alan bazı ceviz çeşitlerinin morfolojik, pomolojik ve fenolojik özelliklerini belirlemek amacıyla Solar (1990) tarafından bir araştırma yürütülmüştür. Bu çalışmada çeşitlerde vegetasyon başlangıcı 22 Nisan-12 Mayıs olarak belirlenirken, vegetasyon bitiminin ise 22 Ekim-2 Kasım arasında olduğu tespit edilmiştir. Vegetasyon başlangıcı 1 Mayıs'tan sonra olan Elit, Parisienne, Mayette, G-26 ve MB-24 gibi çeşitlerin yetiştirilmesinin bu bölgeler için daha etkili olacağını bildirmiştir.

Barone ve ark.'nın (1991) İtalya'da gerçekleştirdiği bir çalışmada, Avrupa ve Amerikan kökenli bazı ceviz çeşitleri üzerinde fenolojik gözlemler incelenmiştir. Yapılan fenolojik çalışmalar sonucunda Serr, Sundland, Ashley ve Chico çeşitlerinde tomurcuk patlama döneminin diğer çeşitlere göre daha erken gözlemlendiği tespit etmiş olup, Meylannaisse, Franquette, Vina ve Pedro çeşitlerinde ise tomurcuk patlama ve ilk yapraklanmanın daha geç gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Tohumdan elde edilen çöğür anaçlarında, tohumdan kaynaklanan kalıtım farklılıklarının çok fazla miktarda varyasyon görülmesine neden olmaktadır (Çelik ve Sakin, 1991).

Kahramanmaraş ekolojik şartlarında Sütyemez ve Kaşka'nın (2002) 32 yerli ve yabancı ceviz genotipi üzerinde yürüttükleri bir çalışmada, ilk yapraklanmanın 8 Mart tarihinde Serr, Şen-1, KR-2 ve Maraş-10 genotiplerinde, en geç yapraklanmanın ise 24 Nisan tarihinde Franquette çeşidinde görüldüğünü belirtmişlerdir. Kaman-1 çeşidinde ise ilk yapraklanmanın 14 Mart tarihinde başladığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada ceviz genotiplerinin yaprak döküm dönemleride incelenmiş olup, en erken yaprak dökümü Van-6 ve Kaman-4 çeşitlerinde, en geç ise Payne, Chandler, Pedro çeşitlerinde görüldüğü bildirilmiştir.

Türkiye'nin farklı yörelerinden seleksiyon yoluyla seçilmiş olan üstün özellikli genotipler (Yalova-1, Yalova-3, Yalova- 4, Şebin, Bilecik, 77-H-1, Tokat-1, Şen-1, Kaplan-86) ve yurt dışında yetiştirilen bazı yabancı ceviz çeşitlerinin (Payne, Pedro, Hartley, Champion, Midland ve Serr) Yalova ekolojisine ait performanslarının belirlenmesi amacıyla

yürütülen bir araştırmada, bazı önemli fenolojik ve pomolojik parametreler incelenmiştir. Çeşitlerin tamamında tepe tomurcuklarının Mart ayı içerisinde patladığı, Kasım ayı içerisinde ise hepsinin yaprak döktüğü belirlenmiştir (Tosun ve Akçay, 2005).

Akça ve Aydın (2005) tarafından Tokat'ın Niksar ilçesinde yapılan çalışmada Yalova 1, Şebın ve Bilecik ceviz çeşitlerinin 2001 yılında 15 Mart'ta, Yalova-3'ün ise 17 Mart'ta yapraklandığı belirtilmiştir. 2002 yılında ise Bilecik çeşidinin 16 Mart, Yalova 1 çeşidinin 17 Mart, Şebın çeşidinin 18 Mart'ta ve Yalova-3 çeşidinin ise 20 Mart tarihinde yapraklandığı belirtilmiştir.

Yılmaz (2007) tarafından Tokat ilinde yürütülen bir çalışmada; geç yapraklanan ve yan dallarda meyve verme oranı yüksek genotiplerin belirlenmesi amacıyla yapılan seleksiyon çalışmasında, 'Tartılı Derecelendirme' yöntemi ile geç yapraklanan, meyve kalitesi iyi, yan dallarda meyve verme oranı yüksek olan 12 genotip seçilmiştir. Seçilen bu genotipler; Franquette çeşidi ile mukayese edildiğinde en erkenci genotipin bu çeşitten 15 gün, en geççi genotipin ise 6 gün önce yapraklandığı belirlenmiştir.

Baymış'ın (2008) Kahramanmaraş ekolojik şartlarında yürüttüğü çalışmada tomurcuk kabarması, tomurcuk patlaması ve yapraklanma başlangıcı gibi fenolojik özellikler incelenmiştir. Bu fenolojik özellikler dikkate alındığında en erkenci (1-8 Nisan) çeşidin Serr olduğu görülürken, Chandler çeşidinde ise yapraklanma başlangıcının 19 Nisan tarihinde gerçekteştiği belirtilmiştir. Yapılan araştırmada diğer çeşitlere ait tomurcuk kabarması, tomurcuk patlaması ve yapraklanma başlangıçları ile ilgili fenolojik gözlemler ise 1-19 Nisan tarihleri arasında gerçekteştiği tespit edilmiştir.

Erkek ve dişi eşey hücrelerinin birleşmesi sonucu oluşan tohum generatif çoğaltımda kullanılmaktadır. Bu birleşme sonucu ortaya çıkan tohum ana ya da babanın özelliklerini taşıyabileceği gibi daha farklı özellikte taşıyabilir. Tohumdan elde edilen birey değişik genetik ve fenotipik varyasyon gösterebilir. Özellikle meyve türlerinin kalıtsal yapıları oldukça kompleks olduğundan dolayı tohumla elde edilen meyve ağaçları genellikle anne bitkinin özelliklerini taşımaz, çoğu durumda ise yabaniye gitme eğilimi gösterirler. Tohumla elde edilen bitkiler arasında üstün özellikte bireylerin ortaya çıkabilmesinin yanı sıra bunların sayısı oldukça az olup, pratik olarak önem taşımazlar. Bu bireyler ancak ıslah çalışmalarında kullanılırlar (Gerçekçioğlu ve ark., 2009).

Vişne tohumlarında dormansinin kırılması ve çimlenme üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla 2009-2010 yıllarında yürütülen bir çalışmada, “Kütahya”, “Rubin” ve “Stockton Morello” vişne çeşitlerine ait tohumların bir kısmı %12 neme kadar kurutulmuş 5°C’de, bir kısmı da kurutulmadan 15°C’de katlama zamana kadar saklanmıştır. Her iki tohum grubuna değişik katlama protokolleri uygulanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, çeşitler dormansiyi kırmak için yapılan uygulamalara karşı farklı tepki göstermişlerdir. Meyveden çıkarıldıktan sonra kurutulmadan nemli kumda saklanan tohumların çimlenme oranları, kurutulmuşlara kıyasla daha yüksek olmuştur. Kurutulmadan 15°C’ de saklandıktan sonra farklı katlama rejimleri uygulanan tohumlarda en yüksek çimlenme; “Kütahya” çeşidinde (% 30) rejim 2 uygulamasından, “Rubin” ve “Stockton Morello” çeşitlerinde ise (sırası ile % 80, % 64) +3°C’de 150 gün katlama uygulamasından (rejim 1) elde edilmiştir. Tüm çeşitlerde kurutulmadan nemli kumda saklanan tohumların çöğürlerinin boy/çap gelişimi, kurutulmuş tohumlardan elde edilen çöğürlerin boy/çap gelişimlerine göre daha yüksek olmuştur. Ayrıca katlama süresi arttıkça çöğürlerde boy/çap gelişimleri de artmıştır (Celepaksoy, 2011).

Bayazit (2011) tarafından Hatay Yayladağı koşullarında yetiştirilen 12 ceviz genotipi üzerinde yapılan çalışmada 2009 yılına göre 2008 yılında daha geç yapraklanmanın gerçekleştiği belirtilmiştir. En erken ilk yapraklanma Yalova 4, Şen 1 ve Tokat 1 ceviz çeşitlerinde 1 Nisan tarihinde gerçekleşirken, en geç ilk yapraklanma 7 Nisan’da Yalova 1 çeşidinde gerçekleştiği belirtilmiştir. Bu genotiplere ait yapraklanma periyodu ise 18 Mart-17 Nisan tarihleri arasında gerçekleştiği bildirilmiştir. 2008 yılının 2009 yılına göre yapraklanma periyodunun yayılım gösterdiği belirtilmiştir.

Orman ve ark. (2016) tarafından 2007 ile 2011 yılları arasında Yalova ekolojik koşullarında yapılan çalışmada 10 ceviz çeşidi (Sunland, Ashley, Vina, Rendede-38, Regio, Howard, Chandler, Fernor, Fernette ve Maraş-18) üzerinde fenolojik gözlemler alınmıştır. Yapılan fenolojik gözlemler sonucunda en erken ilk yapraklanma 28 Mart’ta Rendede-38 çeşidinde görülürken, en geç ilk yapraklanmanın ise 26 Nisan’da Fernor ve Fernette çeşitlerinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Tahtacı ve ark. (2017) tarafından Gaziantep bölgesinde yürütülen bir adaptasyon çalışmasında Bilecik, Chandler, Howard, Maraş-12, Maraş-18, Midland, Pedro, Serr ve Şen-1 ceviz çeşitleri materyal olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucunda Chandler çeşidinin geç, Pedro çeşidinin orta geç, Maraş-12 ve Maraş-18 çeşitlerinin ise orta erken yapraklanma

dönemine sahip olduğunu bildirilmiştir. Ayrıca araştırmada ceviz çeşitlerinin yaprak döküm tarihleri de incelenmiş olup, Chandler ve Pedro çeşitlerinin geç, Maraş-12 ve Maraş-18 çeşitlerinin orta erken yaprak döküm sınıflandırılmasında yer aldığını belirlenmiştir.

Yıldız (2019), tarafından yapılan çalışmada 3 kestane çeşidine (Erfelek, Marigoule, Salıpaazarı) ait tohumlarda katlama ve suda bekletme uygulamaları yapılarak çöğür gelişimine bakılmıştır. Yapılan çalışmada en iyi sonuç katlama uygulamasından elde edilirken, suda bekletme uygulamasının kestane tohumlarının çimlendirme ve çöğür gelişiminde uygun bir yöntem olmadığı belirlenmiştir.

Nar (2019), yaptığı çalışmada Pedro ceviz çeşidinde serbest tozlanmış tohumlardan elde edilen genotiplerde genetik ve fenolojik farklılığı belirlemeyi amaçlamıştır. Fenolojik özellik olarak tomurcuk patlama, yapraklanma, yaprak sararma ve yaprak döküm dönemleri takip edilmiştir. Çalışma sonucunda tomurcuk patlamada %22, yapraklanmada %22, yaprak sararmada %72 ve yaprak dökümünde ise %31'inin ana çeşide çok yakın olduğu belirlenmiştir.

Yıldırım (2019), Sütyemez-1 ceviz çeşidi ve genotiplerinde yapmış olduğu çalışmada, ceviz genotiplerinde tomurcuk patlamanın 62 gün, yapraklanmanın 60 gün, yaprak sararmasının 32 gün ve yaprak dökümünün ise 44 gün gibi bir periyotta gerçekleştiği belirlenmiştir. Ana çeşit (Sütyemez-1) ile genotipler mukayese edildiğinde, tomurcuk patlama ile yapraklanmada %96.84, yaprak sararmada %78.9 ve yaprak dökümünde %88.4 seviyesinde fenolojik varyasyon olduğu tespit edilmiştir.

## **2.2 Moleküler Çalışmalar**

Kaliforniya'da 48 adet ceviz genotipinde yürütülen bir çalışmada RFLP yöntemi ile bu genotiplerin genetik ilişkileri belirlenmiştir. Çalışmada 21 adet RFLP primeri kullanılmış ve 16 polimorfik bant elde edilmiştir. Araştırma sonucunda elde edilen dendogramda iki farklı grup oluşmuş ve Ashley ile Payne ceviz çeşitleri ayırt edilememiştir. Çalışma sonucunda Kaliforniya gen kaynaklarının Fransa, İç Avrupa ve İran genetik kaynakları ile daha yakından ilişkili olduğu belirlenirken, Japonya, Kore, Çin ve Nepal ceviz genetik kaynakları ile daha az benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir (Fjellstrom ve ark., 1994).

Nicese ve ark. (1998) Kaliforniya Üniversitesi'nde ebeveyn olarak tercih ettikleri 19 adet ceviz (*J. regia* L.) çeşidinin genetik farklılıklarını belirlemek amacıyla moleküler analizlerini yapmışlardır. Yapılan çalışmada 72 adet RAPD primeri kullanılmış olup hepsinden bant elde etmişlerdir. Bu primerlerden 23 tane polimorfik bant elde edilmiş ve bant uzunluklarınının 250 bp ile 1700 bp arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Potter ve ark. (2002) tarafından Amerika'nın Kaliforniya eyaletinde yapılan bir çalışmada 48 adet ceviz çeşidinin genetik ilişkisini tespit etmek için ISSR markör tekniği kullanılmıştır. Kullanılan 48 adet ceviz çeşidi 8 adet ISSR primeri ile taramış ve sonuçta 54 adet bant elde edilmiştir. Bu bantların 31'inden polimorfik bant elde ederken, 23'ünden ise monomorfik bant elde edilmiştir. Her bir primerdeki polimorfik bant sayısının 1 ile 7 arasında değişim gösterdiği tespit etmişlerdir. Ayrıca ISSR moleküler tekniğinin ceviz çeşitleri ile genotipler arasındaki genetik ilişkinin belirlenmesinde ve tanımlanmasında kullanılabileceği belirlenmiştir.

Kafkas ve ark. (2005), 21 ceviz genotipinin moleküler karakterizasyonunda SAMPL ve AFLP tekniklerini kullanmışlardır. Araştırmada 6 tane AFLP ve 2 tane SAMPL primeri olmak üzere toplamda 8 tane primer kombinasyonu ile çalışma yürütülmüştür. Bu primer kombinasyonunda 230 adet bant elde edilmiş ve bunların %54'ü polimorfik bant vermiştir. Bu çalışma sonucunda cevizde yakın akraba genotiplerin ayırımında AFLP tekniğine göre SAMPL tekniğinin daha etkili olduğunu bildirmişler. Aynı zamanda Maraş-18 ile Maraş-46; KSÜ-5 ile Sütyemez-1; Maraş 12 ile Sütyemez-2; Kaman-3 ile Kaman-4 ve KSÜ-11 ile Maraş-10 genotiplerinin yakın akrabalık gösterdikleri bildirilmiştir.

Doğan'ın (2006) Türk ve yabancı orijinli 62 ceviz çeşit ve genotipi arasındaki genetik benzerliği belirlemek için yürüttüğü bir çalışmada, ISSR ve RAPD markör teknikleri kullanılmıştır. Kullanılan 25 adet ISSR primerinden toplamda 181 adet bant elde edilerek bunun 129 adedinin polimorfik olduğu belirlenmiştir. RAPD analizlerinde kullanılan 25 adet primerden 211 bant elde edilmiş olup bunun 144 adedinin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. ISSR primerlerinden elde edilen sonuçlara göre genetik benzerlik katsayısının 0.62-0.94 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. Bu ceviz çeşitlerinden Şen-1 ile KR-2 genetik olarak birbirine en yakın çeşitler iken, KR-2 ile Sunland genetik olarak birbirine en uzak genotipler olduğu belirlenmiştir. RAPD yönteminde ise genetik benzerlik katsayısı 0.63 ile 0.95 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. RAPD markörlerinden elde edilen sonuçlara göre Akça-2 ile

Karabodur'un birbirine en yakın, Yalova-1 ile KR-2'nin birbirine en uzak genotipler olduğu tespit edilmiştir. Genotipler ve çeşitler arasındaki genetik ilişkiyi belirlemede ISSR ve RAPD tekniklerinin polimorfizm oranlarının yüksek olduğu ve ISSR tekniğinin RAPD tekniğine göre tekrarlanabilirlik açısından avantajlı olduğu saptanmıştır.

Akcan ve ark. (2008), Kaman cevizlerinde apomiksis olasılığını ortaya çıkarmak amacıyla ISSR ve SRAP tekniğini kullanmışlardır. Çalışmada apomiktik olarak Kaman-1 ve Kaman-5 genotiplerinin ait 40 adet bitki ile apomiktik olduğu belirtilen 20 adet ağaç ve orijinal Kaman-1 ve Kaman-5 genotipleri kullanılmıştır. ISSR yönteminde 15 adet polimorfik primer SRAP yönteminde ise 10 adet primer kullanılmıştır. Ayrıca bu çalışma ile SRAP yöntemi ilk defa cevizde kullanılmıştır. 10 adet SRAP primerinden 185 adet bant elde edilmiş ve bu bantların 100 adedinde polimorfizm gözlenmiştir. ISSR yönteminde ise 15 primerden 200 adet bant elde edilmiş ve bu bantlardan 122 adedinde polimorfizm olduğu belirlenmiştir. Genotipler arasındaki genetik benzerlik sonuçları 0.60 ile 0.93 arasında değişiklik göstermiş ve çalışma sonucunda ISSR yönteminin SRAP yöntemine göre birbirine yakın olan ceviz genotiplerini daha iyi ayırdığı tespit edilmiştir.

İtalya'nın Kuzey (Bleggiana ve Feltrina) ve Güney bölgesinden (Malizia ve Sorrento) alınan İtalyan ceviz çeşitleri üzerinde ISSR markör tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada, 9 farklı ISSR primeri kullanılarak toplam 115 polimorfik bant elde edilmiş bu bantların polimorfizm oranının ise %65.2 olduğunu tespit edilmiştir. Ayrıca benzerlik matrisinde Sorrento ve Malizia çeşitleri arasında yüksek oranda genetik benzerlik olduğu, fakat Kuzey ve Güney çeşitleri Bleggiana ve Feltrina arasında açık bir farklılaşma olduğu belirtilmiştir (Pollegioni ve ark., 2008).

Antepfıstığı üzerinde 4 farklı yöntem ile zenginleştirilerek oluşturulan SSR primerlerinden yeni elde edilen ISSR primerlerinin antepfıstığı, ceviz, elma, kayısı ve kiraz gibi meyve türlerinde test edilmesi ve geliştirilmesi amacıyla bir çalışma yürütülmüştür. Yürütülen bu çalışmada materyal olarak her bir meyve türüne ait 8 çeşit veya tip ile yeni geliştirilen 137 adet ISSR primeri kullanılmıştır. Yeni geliştirilen ISSR primerlerinden ceviz meyve türünde toplamda 613 bant elde edilmiş olup 395'i polimorfik bant göstermiştir. Antepfıstığında 618'i polimorfik olmak üzere toplam 791 bant, elmada 496'sı polimorfik olmak üzere toplam 696 bant, kayısıda 429 polimorfik olmak üzere toplam 666 bant, kirazda ise 281'i polimorfik olmak üzere 514 bant elde edildiği gözlemlenmiştir. Yeni geliştirilen

ISSR primerleri ile UBC primerleri kıyaslandığında toplam bant sayısı ve polimorfizm içeriği açısından benzer özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Yeni geliştirilen ISSR primerlerinin genetik haritalamada kullanılabileceği belirtilmiştir (Karadut ve Kafkas,2013).

Doğan ve ark.'nın (2014) yürüttüğü dünyada yetiştiriciliği yapılan önemli çeşitler ile Türkiye'nin farklı illerinden toplanan 59 ceviz genotipi üzerinde yapılan çalışmada, farklı moleküler markör yöntemlerinden oluşan 66 adet primerle (25 ISSR, 25 RAPD, 16 SSR) analiz yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda ceviz genotiplerinin dendogramda 3 ana grupta kümelendiğini belirlemişlerdir. 1. grupta; Kahramanmaraş ve Yalova illerinden elde edilen genotipler, 2. grupta; Kırşehir, Tokat ve Çorum'dan selekte edilen tohumlar, 3. grupta ise; ABD ve Fransa'ya ait çeşitler yer almıştır. Genotipler arasındaki en düşük benzerlik oranı (%58) KR-2 ile Karabodur arasında olurken, en yüksek benzerlik oranı ise (%91) Akça-2 ile Backgenotipleri arasında olduğu belirtilmiştir.

26 ceviz genotipi üzerinde genetik varyasyonların belirlenmesi amacıyla yürütülen bir çalışmada 50 adet RAPD primeri kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda genotiplerin dendogramda 3 ayrı grupta toplanmış olduğu ve benzerlik katsayısının 0.42 ile 0.94 arasında değiştiği belirtilmiştir. Araştırma sonucunda genetik olarak en yakın benzerlik Kaplan-86 ile Yalova-1 arasında olurken en uzak benzerliğin ise 65/7 ile Hartley arasında olduğu tespit edilmiştir (Erdoğan ve Aygün, 2016).

İran'da Ebrahimi ve ark. (2016) yaptıkları bir çalışmada 14 ülkenin ve bu ülkelerin 25 farklı noktalarından toplanan 189 adet ceviz genotipini 10 SSR markörü kullanarak analiz etmişlerdir. 14 ülkeden toplanan ceviz genotipleri coğrafik dağılımlarına göre 2 ana gruba (1.grup; "Türkiye, İran ve Yunanistan", 2. Grup; "Avrupa ve Kuzey Afrika) ayrılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda Türkiye (Antalya) ve Slovakya (Bratislava)'dan alınan ceviz genotipleri arasındaki benzerlik oranının en düşük (0.36) olduğu belirtilirken, en yüksek benzerlik oranı (0.97) ise Cezayir ve Tunus ile Macaristan (Debrecen) ve Slovakya (Tnava)'dan sağlanan ceviz genotiplerinde tespit edilmiştir.

İpek ve ark.'nın (2018) Konya'nın Akşehir, Beyşehir ve Hüyük ilçelerinde 2010-2013 yıllarında yürüttükleri bir seleksiyon çalışmasında 2500 genotip arasından sekizinin üstün özelliklere sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada bu sekiz ceviz genotipinin bazı önemli pomolojik ve fenolojik özelliklerinin yanı sıra ISSR tekniği kullanılarak bazı önemli ceviz çeşitleri ile genetik benzerlikleri bu araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Ceviz

genotiplerinin yapraklanma dönemlerinin 10-27 Nisan, yaprak döküm dönemlerinin ise 1-17 Kasım tarihleri arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Genetik benzerlikleri belirlemek amacıyla oluşturulan UPGMA dendogramında ise en yüksek genetik benzerlik (0.891) AK-2 ile AK-3 arasında, en düşük genetik benzerlik ise (0.491) Chandler ve Franquette arasında olduğu bildirilmiştir.

Yıldırım (2019), tarafından yapılan çalışmada ana çeşit (Sütyemez-1) ve 95 genotip arasındaki genetik farklılığı belirlemek amacı ile 12 adet ISSR ve 5 adet SRAP primer çifti kullanılmış olup çalışmada 45 bant elde edilmiş ve bu bantlardan 42 tanesinin polimorfik olduğu gözlenmiştir. Çalışma sonucunda ortalama allel sayısı ise 4.6 olarak hesaplanmıştır.

Nar (2019), tarafından yapılan çalışmada Pedro ceviz çeşidi ve genotipleri arasındaki genetik benzerliği belirlemek amacıyla 12 adet ISSR primeri kullanılmış olup, çalışma sonucunda polimorfizm oranının %95.3 olduğu tespit edilirken, genotiplerde benzerlik oranının %5 ile %99 arasında değiştiği belirlenmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Bu çalışma, 2017-2018 yılları arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi ceviz araştırma ve ıslah bahçelerinde yürütülmüştür. Araştırmada, Kaman-1 ceviz çeşidinin serbest tozlanmış 200 tohumundan elde edilen genotipler arasından rastgele seçilmiş 79 genotip ve şahit olarak Kaman-1 çeşidi (ana çeşit) materyal olarak kullanılmıştır.

##### 3.1.1. Kaman-1 Çeşidinin Özellikleri

Çeşidin orijini Kırşehir ilinin Kaman ilçesine bağlı İsaahocalı kasabasıdır. Kaman-1 Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi tarafından yapılan çalışmalar sonucunda tescil edilen bir çeşit olup, ağacının gelişimi dik-yayvandır. Geç yapraklandığı için ilkbaharın geç soğuklarından fazla zarar görmez. Verimli bir çeşittir. Salkımda 4-12 meyveyi bir arada görmek mümkündür. Çeşidin meyve ağırlığı 12 g, iç ağırlığı 6.3 g, iç oranı %53'dür. Yan dal verimi ise %70-75 oranındadır. İç kurduna ve antraknoza dayanıklıdır. Çeşitte protogini çiçeklenme görülür (Dişi çiçeklerin erkek çiçeklerden önce açması). Tozlayıcı olarak önerilen çeşitler ise Bilecik, Yalova 3, Şebin, Şen 1, Şen 2 ve Tokat 1'dir (Şen, 2011).



Şekil 3.1. Kaman-1 ceviz çeşidi meyvelerine ait görsel

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Ceviz tohumlarının ıslatılması ve ekimi

Araştırmada kullanılan serbest tozlanma ile elde edilen tohumlar vernalizasyon ihtiyacını gidermek, tohum kabuğunda mevcut olan çimlenmeyi engelleyici maddelerin yıkanması ve çimlenmeyi hızlandırmak amacıyla her gün suyunu değiştirmek suretiyle 5 gün boyunca suda bekletilmiştir. Çöğür bitki yetiştirmek amacıyla tohumlar içerisinde Harç (1:1:1:1 oranında torf, kum, perlit, toprak ve leonardit karışımı) bulunan fidan yetiştirme saksılarına ekilmiştir. Çimlendirme saksılarına ekilen ceviz tohumlarının düzenli bir şekilde nem miktarları kontrol edilerek gerektiğinde sulamaları yapılmıştır.

### 3.2.2. Fenolojik gözlemler

Çalışmada fenolojik gözlemler ceviz tanımlayıcısına (Walnut Descriptors) göre yapılmıştır (Anonymous, 1994). Çalışma kapsamında fenolojik olarak genotiplerin tomurcuk patlama, yapraklanma, yaprak sararma ve yaprak döküm tarihleri belirlenmiş olup, Çizelge 4.1' de sunulmuştur. Ayrıca bu tarihlere ait periyotlar Ek-1 ve Ek-2' de sunulmuştur.

#### 3.2.2.1. Tomurcuk patlama ve yapraklanma dönemi

Tomurcuğun kabarma safhasından sonra tomurcuk pullarının altından yeşil kısmın tam anlamıyla görüldüğü dönemdir (Şekil 3.2-a). Tomurcukların %50'sinde bu olay görüldüğünde tomurcuk patlama dönemi olarak kayıt altına alınmıştır (Anonymous, 1994). Tomurcukların %70'inde dal ile 45 derecelik açı yaparak yaprakçıkların görüldüğü safha (Şekil 3.2-b) yapraklanma olarak kayıt altına alınmıştır (Anonymous, 1994).



Şekil 3.2. Fenolojik gözlemler (yapraklanma safhaları) a-Tomurcuk patlama b- Yapraklanma aşamaları

Çalışma kapsamında kullanılan genotiplerin tomurcuk patlama, yapraklanma, yaprak sararma ve yaprak döküm dönemleri, ana çeşide ait yapraklanma dönemi dikkate alınarak sınıflandırılmıştır (Çizelge 3.1).

### 3.2.2.2. Yaprak sararma-döküm dönemi

Yapraklarda yeşil rengin zaman geçtikçe açılarak sarıya döndüğü ve bitkideki yaprakların %70'inin sarardığı tarih sararma dönemi olarak kabul edilmiştir (Anonymous, 1994).

Bitki üzerindeki yaprakların %70'inin döküldüğü tarih döküm tarihi olarak kayıt altına alınmış ve bu dönem bitkilerin dinlenmeye girdiği dönem olarak da kabul edilmiştir (Anonymous, 1994)

Araştırma kapsamında kullanılan genotiplerin yaprak sararma ve döküm safhaları, ana çeşidin (Kaman-1) yaprak sararma ve döküm tarihi dikkate alınarak sınıflandırılmıştır (Çizelge 3.1; Çizelge 3.2).

### 3.2.2.3. Fenolojik sınıflandırma

Genotiplerin ana çeşide göre fenolojik ve genetik özelliklerinin sınıflandırılması Çizelge 3.1'de belirlenen skalaya göre yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Genotiplerin ana çeşide göre fenolojik ve genetik özelliklerinin sınıflandırılması

Sınıflandırma	Fenolojik	Genetik
	Ana çeşitten (Gün olarak)	Ana çeşite göre farklılık oranı (Dendogram)
Çok yakın	±1-2	<0.25
Yakın	±3-8	0.25-0.49
Uzak	±9-15	0.50-0.75
Çok uzak	±15 ve üzeri	>0.75

Kaynak: Sütyemez, (2019)

Çizelge 3.2. Ana çeşite göre genotiplerin fenolojik özelliklerinin sınıflandırılması (gün)

	ÖNCE (gün)																Ana çeşitten	SONRA (gün)															
	16	15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Aynı																																	
Çok yakın																																	
Uzak																																	
Çok uzak																																	

Kaynak: Sütyemez, 2019

### 3.2.3. Moleküler analizler

#### 3.2.3.1. Yaprak örneklerinin toplanması

Çalışmada elde edilen çöğürler arasından 79 adet ceviz genotipi rastgele seçilmiştir. Seçilen bu genotiplerin her biri için genç ve hastaliksız 3-5 adet yaprak örneği alınmıştır. Alınan örnekler %70'lik alkol ve saf sudan geçirilmiştir. Daha sonra toplanan yaprak örnekleri kuru buz içerisinde korunarak laboratuvara getirilmiş ve DNA izolasyonuna kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.4).



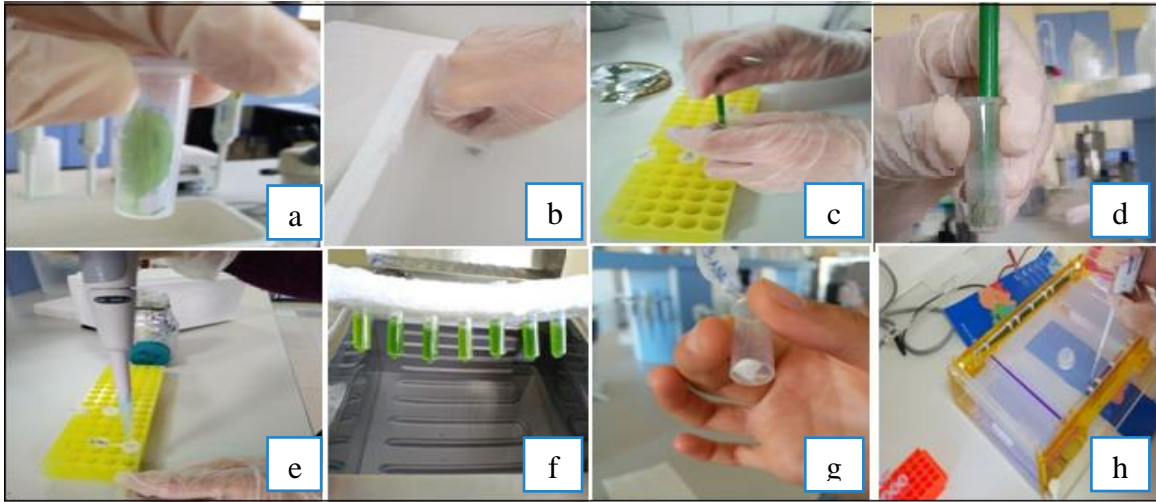
Şekil 3.4. Genç taze sürgünlerden yaprak örneklerinin alınması

#### 3.2.3.2. DNA izolasyonu

Çalışmada kullanılan ceviz (*Juglans regia* L.) genotiplerinin DNA izolasyonu Doyle ve Doyle (1987)'nin geliştirmiş olduğu Bardak (2017)'nin modifiye ettiği CTAB yöntemine göre yapılmıştır. DNA izolasyonunda aşağıda belirtildiği üzere yapılmıştır.

- 1- Ceviz genotiplerine ait -80°C'de muhafaza edilen yaprak örnekleri 2000 µL'lik tüplere yerleştirilerek sıvı azot yardımıyla iyice öğütülmüştür (Şekil 3.5).
- 2- Öğütülen yaprak parçacıklarının üzerine 1000 µL izolasyon çözeltisi (0.1 M Tris-HCl (pH:8), 1 M NaCl, 0.02 M EDTA (pH:8), %2 w/v CTAB, %2 Polyvinyl-pyrrolidone-40, %0.2 P-mercaptoethanol) eklenerek (Şekil 3.5) tüpler alt-üst edilmiştir.
- 3- İzolasyon solüsyonu eklenen örnekler 65°C'de su banyosunda her 10 dakikada bir alt-üst edilmek şartıyla 1 saat boyunca bekletilmiştir (Şekil 3.5).
- 4- Sıcak su banyosundan çıkarılan örneklerin üzerine 1000 µL kloroform/ izoamil alkol (24:1) eklenip 12000 rpm devirde +4°C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.

- 5- Tüplerin üzerinde oluşan süpernatant farklı tüplere aktarılıp tekrar 1000  $\mu\text{L}$  kloroform/izoamil alkol (24:1) eklenerek alt-üst edilip 12000 rpm devirde,  $+4^{\circ}\text{C}$ ' de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
- 6- Tekrar oluşan süpernatant farklı tüplere aktarılmış ve  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen 1000  $\mu\text{L}$  propanol eklenerek  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de 45 dakika boyunca bekletilmiştir.
- 7-  $-20^{\circ}\text{C}$ 'den çıkarılan örnekler alt-üst etme işleminden sonra 12000 rpm devirde  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 10 dk santrifüj edilmiş olup pellet oluşumu sağlanmıştır (Şekil 3.5).
- 8- Oluşan pelletlerin üzerindeki sıvı uzaklaştırılarak 500  $\mu\text{L}$  %70'lik etanol eklenip 13000 rpm devirde 2 dk santrifüj edilmiştir. Kirlilik görülen pelletlerde bu işlem iki defa tekrarlanmıştır.
- 9- Etenol uzaklaştırılarak pelletler 200  $\mu\text{L}$  ultra saf suda çözündürülmüştür. Böylece izolasyon aşaması tamamlanmış olup PCR çalışmalarına kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.
- 10- İzolasyon sonucu elde edilen DNA'lar %1'lik agaroz jelde koşturularak DNA'ların 'var' yada 'yok' oldukları belirlenmiştir. DNA görüntüsü çıkmayan genotipler izolasyon işlemine tekrar tabi tutulmuştur (Şekil 3.5).
- 11- Elde edilen DNA'ların izolasyon saflıkları Nanodropspektrofotometre (Thermo Nanadrop 2000 Spektrofotometre) ile belirlenmiştir. PCR çalışmaları için DNA konsantrasyonları 10 ng/ $\mu\text{L}$  olacak miktarda seyreltilmiştir.



Şekil 3.5. Ceviz genotiplerinin DNA izolasyonuna ait görseller (a-Yaprak örneklerinin tüplere yerleştirilmesi b-Tüplerin sıvı azota daldırılması c- Yaprakların ezilmesi d- Yaprakların ezilmiş görünümü e- Buffer eklenmesi f- Sıcak su banyosundan görünüm g- Pellet oluşumu h- %1 agaroz jel yükleme aşaması)

### 3.2.3.3. Genotiplerin DNA markörleri ile taranması

Araştırmada ceviz genotipleri arasındaki genetik farklılıkları belirlemek amacıyla 12 adet ISSR primeri kullanılmıştır. Kullanılan ISSR primerleri Çizelge 3' te sunulmuştur.

Çizelge 3.3. PCR'de kullanılan ISSR primerleri ve nükleotid dizilimleri

No	Primerler	Baz dizilimi	DNA'ya yapışma sıcaklıkları
1	ISSR1	CACACACACACAA	50°C
2	ISSR3	CACACACACACAGG	50°C
3	ISSR4	CACACACACACAGC	50°C
4	ISSR5	CACACACACACAG	50°C
5	ISSR6	CACACACACACACAGT	50°C
6	ISSR7	ACACACACACACACACCG	50°C
7	ISSR8	ACACACACACACACACACC	50°C
8	ISSR9	ACACACACACACACACTG	50°C
9	ISSR11	GAGAGAGAGAGAGAGATC	50°C
10	ISSR12	GAGAGAGAGAGAGAGAGAC	50°C
11	ISSR13	AGAGAGAGAGAGAGAGC	50°C
12	ISSR15	ATATATATATATATAT	50°C

### 3.2.3.4. ISSR analizleri

Araştırmaya konu olan ana çeşit (Kaman-1) ile ceviz genotipleri arasındaki genetik farklılıkları belirlemek amacıyla ISSR analizleri, Zietkiewicz ve ark. (1994)'nın geliştirmiş olduğu, Bardak ve Bölek (2012)'in modifiye ettiği yonteme göre yapılmıştır. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve PCR döngüsünün bağlanma sıcaklıkları ile süreleri aşağıda belirtildiği şekilde uygulanmıştır.

#### Kullanılan kimyasallar

2 µL 10x PCR solüsyonu

1.5 µL MgCl<sub>2</sub>

1 µLdNTP (5mM) (Vivantis)

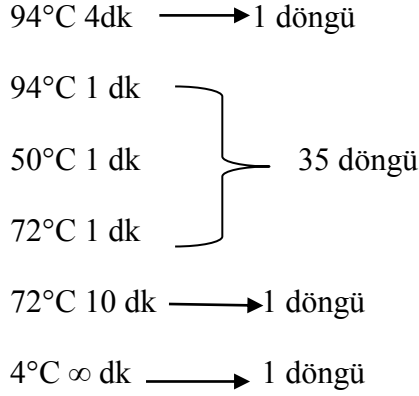
1 µL ISSR primeri (10 pmol)

1.5 µL DNA Taqpolimeraz

1 µLgenomik DNA

12 µL dH<sub>2</sub>O

### ISSR PCR sıcaklık döngüleri



#### 3.2.3.5. Genotiplere ait jel görüntülerinin elde edilmesi

Ceviz genotiplerine ait jel görüntülerini elde etmek için hazırlanan %3'lük agaroz jelde DNA'lar 1 X TBE tampon çözeltisi içerisinde 160 voltaj elektrik akımında 2 saat boyunca koşturulmuştur. Etidyum bromür içeren boyama çözeltisinde (1 litre saf su + 300µl etidyum bromür) 15 dk bekletilerek DNA'ların boyanması sağlanmıştır. Boyanan DNA bantları UV(ultraviyole) ışık altında görüntülenmiştir.

#### 3.2.3.6. DNA bantlarının skorlanması

PCR analiz sonuçlarına göre okuma aralığı 200 ile 1000 baz çifti arasında belirlenmiştir. Skorlamada DNA bantları ana çeşit ve genotipler arasında karşılaştırılarak aynı uzunluğa sahip olan bantlar '1', farklı uzunluklardaki bantlar ise '0' olarak skorlanmıştır (Bardak ve Bölek, 2012; Zhang ve ark., 2005).

#### 3.2.3.7. Veri analizi

Elde ettiğimiz skorlama sonucu verilerine göre çalışmada kullanılan primerlerin polimorfizm bilgi içerikleri Laborda ve ark. (2005) dikkate alınarak Excel'de hesaplanmıştır. Polimorfik bantlarda '1' ve '0' allel toplamları yapıp her bandın ayrı ayrı allel frekansları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Buradaki  $f_i$ ,  $i$  bandının frekansını belirtmektedir.

$$PIC=1-\sum(f_i)^2$$

Genotipler arasındaki benzerlik katsayısını belirlemek için Nei (1972) indeksi POPGENE 3.2 paket programında hesaplanmıştır. Genotiplere ait dendrogram "Unweighted Pair Group of

Aritmetic Means” (UPGMA) yöntemine göre NTSYSpc v. 2.02 programı (Rohlf, 1998) kullanılarak Dice indeksine (Dice, 1945) göre oluşturulmuştur.

Structure 2.3.4 paket programı kullanılarak kümeleme analizi yapılmıştır. İdeal grup sayısını belirlemek için her bir K değeri 10 bağımsız simülasyon ile 1’den 10’a kadar çalıştırılmıştır. Permütasyon modülü ise 10.000 ile 100.000 aralığında seçilmiş ve grup sayısını belirleyen  $\Delta K$  değeri her bir K değeri için 5 tekrar yapılarak hesaplanmıştır. Analiz sonuçları zip dosyasında arşivlenmiş ve bu dosya structure harvester web sayfasına yüklenerek ideal  $\Delta K$  değeri bulunmuştur (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>).



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırmada kullanılan ana çeşit ve genotipler üzerinde yürütülen fenolojik gözlemler (tomurcuk patlama, yapraklanma, yaprak sararma ve yaprak dökümü) ve moleküler düzeydeki laboratuvar çalışmalarına ait bulgular tezde sunulmuştur (Çizelge 4.1; Şekil 4.4; Şekil 4.5; Şekil 4.6).

### 4.1. Fenolojik Gözlemler

#### 4.1.1. Tomurcuk patlama- yapraklanma dönemi

Fenolojik gözlemlerde, tomurcuklardaki patlamaların, ana çeşitte 29 Mart tarihinde, diğer genotiplerde ise 10 Mart (Genotip 80) ile 27 Nisan (Genotip 92) tarihleri arasında başladığı gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Araştırma kapsamında elde edilen fenolojik bulgulara göre üzerinde çalışılan 79 genotipten 4 genotipin (%5.06) ana çeşit ile “aynı” dönemde, 28 genotipin (%35.44) ana çeşitten daha “önce” ve 47 genotipin (%59.49) ise ana çeşitten daha “geç” tomurcuk patlatma periyoduna sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Genotiplere ait tomurcuk patlama periyodunun 48 gün boyunca devam ettiği tespit edilerek kayıt altına alınmıştır. Ceviz genotiplerine ait tomurcuk patlama dönemlerinin çok büyük oranda (%94.93) ana çeşide göre daha farklı dönemlerde meydana gelmesi fenolojik çeşitlilik bakımından oldukça dikkat çekici bir durum olarak değerlendirilmiştir.

Ayrıca metotda belirtildiği gibi genotiplerin tomurcuk patlama dönemleri ebeveyn çeşit (Kaman-1) ile mukayese edilerek sınıflandırılması yapılmıştır (Çizelge 4.1; Şekil 4.1). Ana çeşide genotiplerin; %25’inin “Çok yakın”, %49’unun “Yakın”, %18’inin “Uzak” ve %8’inin ise “Çok uzak” kategoride yer aldıkları tespit edilmiştir

Cevizde en önemli fenolojik özelliklerden biri yapraklanma dönemidir. Bu parametrede ana çeşitte yapraklanma dönemi 6 Nisan’da başlarken, genotipler içerisinde yapraklanmanın en erken 22 Mart tarihinde Genotip 37 ile Genotip 80’de görüldüğü, en geç yapraklanmanın ise 5 Mayıs’ta Genotip 92’de olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Fenolojik gözlemler sonucunda

genotiplere ait yapraklanma başlangıç dönemlerinin 45 gün gibi uzun bir zaman periyodu içerisinde yayılım gösterdiği kayıt altına alınmıştır (Çizelge 4.1).

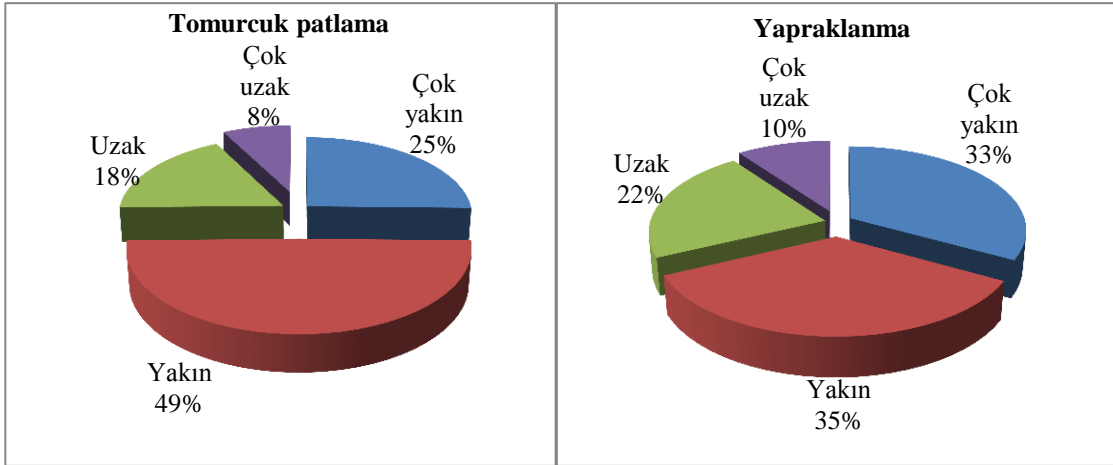
Bu tez muhtevasında üzerinde çalışılan 79 ceviz genotipine ait yapraklanma dönemleri bakımından 10 genotipin (%12.65) ana çeşit ile “aynı”, 29 genotipin (%36.70) ana çeşitten “önce” ve 40 genotipin (%50.63) ise ana çeşide kıyasla daha “geç” yapraklanmaya başladığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Elde edilen fenolojik gözlemler sonucunda 69 genotipin ana çeşite göre farklı zaman periyodunda yapraklanmaya başlaması bu özellik yönüyle anaçeşit ile genotipler arasında önemli oranda (%87.33) varyasyonun olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.1).

Ceviz genotiplerinin yapraklanma dönemleri “Kaman-1” ceviz çeşidi ile mukayese edilerek benzerlik seviyeleri sınıflandırılmıştır. Yapılan sınıflandırmaya göre genotiplerin; %33’ünün “Çok yakın”, %35’inin “Yakın”, %22’sinin “Uzak” ve %10’unun ise “Çok uzak” kategorisinde yer aldığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1; Şekil 4.1).

Ceviz genotiplerinin tomurcuk patlama ve yapraklanma dönem bulgularından çok önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir.

Sütyemez ve Kaşka (2002) tarafından Kahramanmaraş ekolojik şartlarında yerli ve yabancı ceviz genotipleri üzerinde yaptıkları çalışmada, yapraklanmanın en erken 8 Mart tarihinde Serr, Şen-1, KR-2 ve Maraş-10 genotiplerinde gerçekleştiği, en geç yapraklanmanın ise 24 Nisan tarihinde Franquette çeşidinde gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Kaman-1 ceviz çeşidine ait yapraklanmanın ise 14 Mart tarihinde başladığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ana çeşidimiz olan Kaman-1 ceviz çeşidinin yapraklanma tarihi 6 Nisan, genotiplerde ise yapraklanma tarihi 22 Mart olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Yapılan iki çalışmadaki fenolojik verilere bakıldığında ana çeşit olan Kaman-1 ile önceki çalışmadaki Kaman-1 arasında 24 gün gibi bir zaman farkı gözlenmiş olup, bu farklılığın yıllara göre meydana gelen iklimsel farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bükücü (2014), tarafından Kahramanmaraş koşullarında yürütülen bir çalışmada Bilecik, Kaman-1, Maraş-18, Sütyemez-1, Sütyemez-2, Şen-1, Maraş-12, Şebin genotiplerine ait fenolojik özellikler belirlenmiş olup, çalışmada Kaman-1 çeşidinde tomurcuk patlamanın 26 Mart tarihinde, yapraklanmanın ise 2 Nisan tarihinde gerçekleştiği belirlenmiştir.



Şekil 4.1. Ceviz genotiplerinin tomurcuk patlama- yapraklanma başlangıç dönemlerinin Kaman-1'e göre (%) sınıflandırılması

#### 4.1.2. Yaprak sararma-döküm dönemi

Fenolojik gözlemlerde yaprak sararma başlangıç periyotlarının tüm materyellerde 25 gün boyunca devam ettiği kayıt altına alınmıştır. Yaprak sararmanın en erken (31 Ekim) ana çeşite ait bitkide başladığı bunu Genotip 31'in (1 Kasım) takip ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.1). Diğer genotiplerde ise yaprak sararma başlangıç dönemlerin en geç 24 Kasım (Genotip 28 ve Genotip 93) tarihine kadar devam ettiği gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Ana çeşide (Kaman-1) göre diğer yaprak sararma dönemleri üzerinden yapılan sınıflandırmada genotiplerin; %9'unun "Çok yakın", %57'sinin "Yakın", %20'sinin "Uzak" ve %14'ünün ise "Çok uzak" olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1; Şekil 4.2).

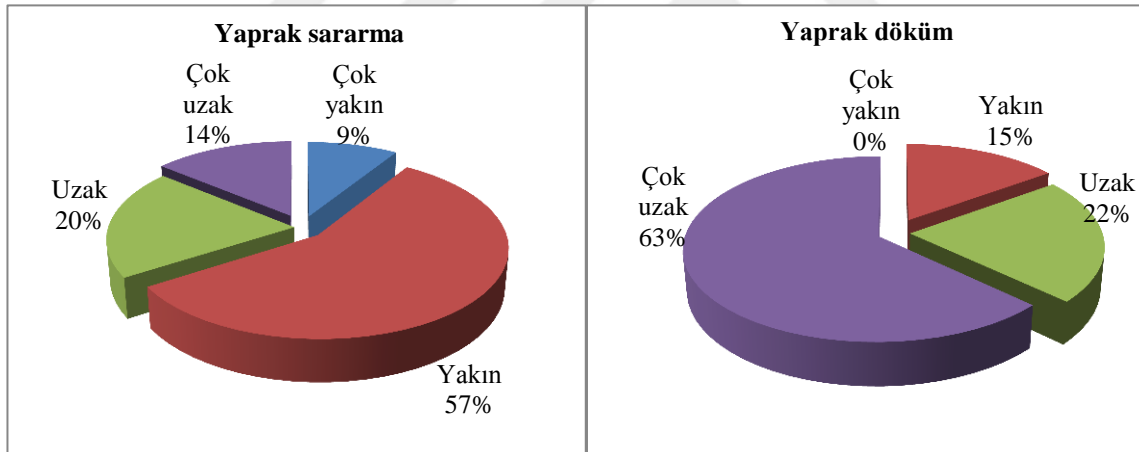
Yaprak döküm başlangıcı en erken 17 Kasım tarihinde ana çeşitte görülürken, en geç 19 Aralık tarihinde Genotip 3' te gözlenmiştir (Çizelge 4.1). Bu çizlemede görüleceği gibi tüm genotiplerde yaprak döküm başlangıçları 33 gün süreyle devam etmiştir (Çizelge 4.1).

Çalışmada genotiplerin yaprak döküm dönemleri Kaman-1 çeşidi ile mukayese edilerek sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre genotiplerin %15'inin "Yakın", %22'sinin "Uzak", %63'ünün "Çok uzak" kategoride yer aldığı belirlenmiştir. (Çizelge 4.1; Şekil 4.2).

Yaprak sararma ve yaprak döküm özellikleri yönüyle ceviz genotiplerinin tamamının (%100) ana çeşide göre farklı periyotta olması fenolojik çeşitlilik açısından önemli bir sonuçtur.

Kahramanmaraş şartlarında farklı ceviz çeşitleri ile yapılan bir çalışmada, Kaman-1 çeşidinde tomurcuk patlama döneminin 6-10 Nisan tarihleri arasında, yaprak dökümünün 5-9 Kasım tarihleri arasında gerçekleştiği bildirilmiştir (Sütyemez, 2016). Yürüttüğümüz bu çalışmada tüm genotiplere ait yaprak döküm dönemlerinin ise 17 Kasım ile 19 Aralık tarihleri arasında gerçekleştiği belirlenmiştir.

Nar (2019), tarafından yapılan çalışmada Pedro ceviz çeşidi ve genotiplere ait bazı fenolojik özellikler incelenmiştir. Genotiplere ait yaprak sararma ve döküm başlangıcı dönemleri ana çeşide göre sınıflandırıldığında sırasıyla %28.42 ve %69.47 oranlarında farklılık olduğu belirtilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada her iki özellik bakımından Kaman-1' e göre yapılan sınıflandırmada tüm genotiplerde %100 oranında farklılık olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Ceviz genotiplerinin yaprak sararma-döküm başlangıcı dönemlerinin Kaman-1'e göre (%) sınıflandırılması

Çalışmada incelenen fenolojik karakterlerden ana çeşitle 3 ve üzeri özellik bakımından aynı grupta yer alan genotipler ana çeşide fenolojik olarak "çok benzer" olarak nitelendirilmiştir (Çizelge 4.1). Bu açıdan 4 özellik bakımından Genotip 38 ve Genotip 66 'yakın' grubunda benzer özellik gösterirken, Genotip 36 ise 'çok uzak' grubunda benzer özellik göstermiştir. 3 özellik bakımından genotipler incelendiğinde Genotip 31 'çok yakın' grubunda, Genotip 1, 2, 14, 29, 39, 48, 50, 56, 62, 63, 65 ve 68 'yakın' grubunda, Genotip 36,

54 ve 82 ‘uzak’ grubunda, Genotip 37, 80 ve 81’ in ise ‘çok uzak’ grubunda benzer özellik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.1).



Çizelge 4.1. Ceviz genotiplerinin bazı fenolojik özellikleri ve sınıflandırılması (Kaman-1'e göre)

Genotipler	Tomurcuk patlama	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yapraklanma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Sararma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Döküm	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma
Genotip 1	2/04	+4	Yakın	10/04	+4	Yakın	2/11	+2	Çok yakın	23/11	+6	Yakın
Genotip 2	4/04	+6	Yakın	13/04	+7	Yakın	7/11	+7	Yakın	29/11	+12	Uzak
Genotip 3	9/04	+11	Uzak	16/04	+10	Uzak	5/11	+5	Yakın	19/12	+32	Çok uzak
Genotip 4	3/04	+5	Yakın	15/04	+9	Uzak	7/11	+7	Yakın	1/12	+14	Uzak
Genotip 5	30/03	+1	Çok yakın	7/04	+1	Çok yakın	3/11	+3	Yakın	24/11	+7	Yakın
Genotip 6	28/03	-1	Çok yakın	7/04	+1	Çok yakın	7/11	+7	Yakın	1/12	+14	Uzak
Genotip 7	8/04	+10	Uzak	16/04	+10	Uzak	2/11	+2	Çok yakın	5/12	+18	Çok uzak
Genotip 8	5/04	+7	Yakın	16/04	+10	Uzak	2/11	+2	Çok yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 9	30/03	+1	Çok yakın	6/04	0	Çok yakın	6/11	+6	Yakın	28/11	+11	Uzak
Genotip 10	31/03	+2	Çok yakın	6/04	0	Çok yakın	22/11	+22	Çok uzak	6/12	+19	Çok uzak
Genotip 11	11/04	+13	Uzak	16/04	+10	Uzak	3/11	+3	Yakın	23/11	+6	Yakın
Genotip 12	19/03	-10	Uzak	26/03	-12	Çok uzak	3/11	+3	Yakın	23/11	+6	Yakın
Genotip 13	31/03	+2	Çok yakın	6/04	0	Çok yakın	7/11	+7	Yakın	2/12	+15	Çok uzak
Genotip 14	4/04	+6	Yakın	13/04	+7	Yakın	5/11	+5	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 15	6/04	+8	Yakın	16/04	+10	Uzak	3/11	+3	Yakın	4/12	+17	Çok uzak
Genotip 16	31/03	+2	Çok yakın	6/04	0	Çok yakın	3/11	+3	Yakın	25/11	+8	Yakın

Çizelge 4.1.'in devamı

Genotipler	Tomurcuk patlama	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yapraklanma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Sararma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Döküm	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma
Genotip 17	30/03	+1	Çok yakın	8/04	+2	Çok yakın	8/11	+8	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 18	1/04	+3	Yakın	7/04	+1	Çok yakın	3/11	+3	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 19	23/03	-6	Yakın	1/04	-5	Yakın	14/11	+14	Uzak	15/12	+28	Çok uzak
Genotip 20	31/03	+2	Çok yakın	7/04	+1	Çok yakın	5/11	+5	Yakın	23/11	+6	Yakın
Genotip 22	4/04	+6	Yakın	10/04	+4	Yakın	10/11	+10	Uzak	13/12	+26	Çok uzak
Genotip 23	29/03	0	Çok yakın	5/04	-1	Çok yakın	5/11	+5	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 25	19/03	-10	Uzak	29/03	-8	Yakın	7/11	+7	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 26	1/04	+3	Yakın	7/04	+1	Çok yakın	5/11	+5	Yakın	14/12	+27	Çok uzak
Genotip 27	25/04	+27	Çok uzak	30/04	+24	Çok uzak	5/11	+5	Yakın	23/11	+6	Yakın
Genotip 28	2/04	+4	Yakın	10/04	+4	Yakın	24/11	+24	Çok uzak	7/12	+20	Çok uzak
Genotip 29	4/04	+6	Yakın	13/04	+7	Yakın	7/11	+7	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 30	29/03	0	Çok yakın	2/04	-4	Yakın	5/11	+5	Yakın	6/12	+19	Çok uzak
Genotip 31	30/03	+1	Çok yakın	4/04	-2	Çok yakın	1/11	+1	Çok yakın	28/11	+11	Uzak
Genotip 32	23/03	-6	Yakın	4/04	-2	Çok yakın	4/11	+4	Yakın	28/11	+11	Uzak
Genotip 36	13/03	-16	Çok uzak	27/03	-10	Uzak	9/11	+9	Uzak	29/11	+12	Uzak
Genotip 37	12/03	-17	Çok uzak	22/03	-15	Çok uzak	4/11	+4	Yakın	3/12	+16	Çok uzak

Çizelge 4.1.'in devamı

Genotipler	Tomurcuk patlama	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yapraklanma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Sararma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Döküm	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma
Genotip 38	24/03	-5	Yakın	1/04	-5	Yakın	3/11	+3	Yakın	23/11	+6	Yakın
Genotip 39	6/04	+8	Yakın	16/04	+10	Uzak	3/11	+3	Yakın	22/11	+5	Yakın
Genotip 41	31/03	+2	Çok yakın	6/04	0	Çok yakın	12/11	+12	Uzak	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 42	3/04	+5	Yakın	8/04	+2	Çok yakın	11/11	+11	Uzak	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 43	19/03	-10	Uzak	27/03	-10	Uzak	5/11	+5	Yakın	4/12	+17	Çok uzak
Genotip 44	25/04	-4	Yakın	2/05	+26	Çok uzak	10/11	+10	Uzak	25/11	+8	Yakın
Genotip 45	19/03	-10	Uzak	28/03	-9	Uzak	4/11	+4	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 46	29/03	0	Çok yakın	4/04	-2	Çok yakın	3/11	+3	Yakın	27/11	+10	Uzak
Genotip 47	23/03	-6	Yakın	30/03	-7	Yakın	16/11	+16	Çok uzak	8/12	+21	Çok uzak
Genotip 48	5/04	+7	Yakın	12/04	+6	Yakın	4/11	+4	Yakın	28/11	+11	Uzak
Genotip 49	23/03	-6	Yakın	3/04	-3	Yakın	16/11	+16	Çok uzak	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 50	2/04	+4	Yakın	9/04	+3	Yakın	5/11	+5	Yakın	27/11	+10	Uzak
Genotip 51	21/03	-8	Yakın	27/03	-10	Uzak	9/11	+9	Uzak	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 52	23/03	-6	Yakın	4/04	-2	Çok yakın	3/11	+3	Yakın	2/12	+15	Çok uzak
Genotip 53	28/03	-1	Çok yakın	6/04	0	Çok yakın	4/11	+4	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 54	10/04	+12	Uzak	16/04	+10	Uzak	2/11	+2	Çok yakın	28/11	+11	Uzak

Çizelge 4.1.'in devamı

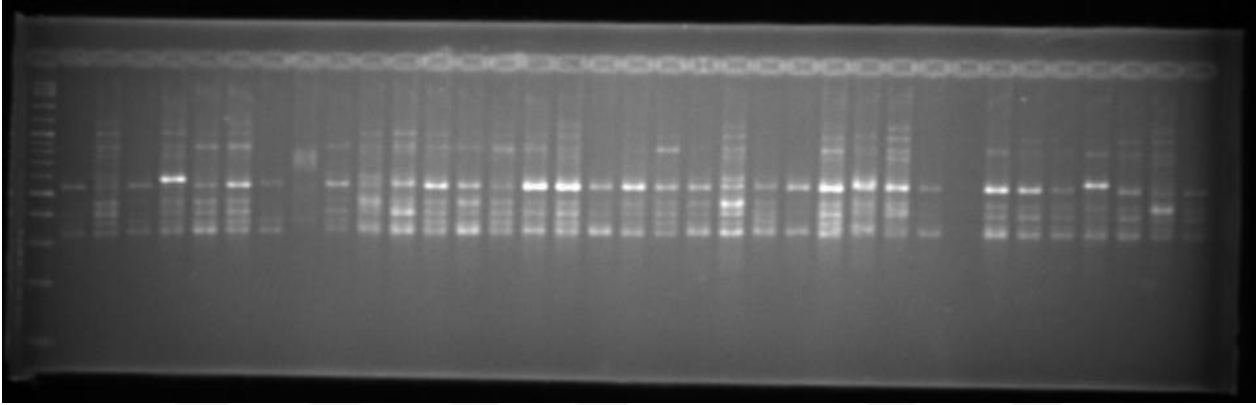
Genotipler	Tomurcuk patlama	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yapraklanma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Sararma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Döküm	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma
Genotip 55	23/03	-6	Yakın	4/04	-2	Çok yakın	2/11	+2	Çok yakın	27/11	+10	Uzak
Genotip 56	3/04	+5	Yakın	9/04	+3	Yakın	3/11	+3	Yakın	29/11	+12	Uzak
Genotip 58	23/03	-6	Yakın	1/04	-5	Yakın	2/11	+2	Çok yakın	28/11	+11	Uzak
Genotip 59	28/03	-1	Çok yakın	4/04	-2	Çok yakın	3/11	+3	Yakın	23/11	+6	Yakın
Genotip 61	9/04	+11	Uzak	16/04	+10	Uzak	5/11	+5	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 62	4/04	+6	Yakın	13/04	+7	Yakın	7/11	+7	Yakın	14/12	+27	Çok uzak
Genotip 63	5/04	+7	Yakın	14/04	+8	Yakın	3/11	+3	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 65	4/04	+6	Yakın	12/04	+6	Yakın	8/11	+8	Yakın	15/12	+28	Çok uzak
Genotip 66	23/03	-6	Yakın	2/04	-4	Yakın	5/11	+5	Yakın	23/11	+6	Yakın
Genotip 67	12/04	+14	Uzak	22/04	+16	Çok uzak	11/11	+11	Uzak	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 68	23/03	-6	Yakın	29/03	-8	Yakın	4/11	+4	Yakın	29/11	+12	Uzak
Genotip 70	30/03	+1	Çok yakın	5/04	-1	Çok yakın	8/11	+8	Yakın	3/12	+16	Çok uzak
Genotip 71	1/04	+3	Yakın	5/04	-1	Çok yakın	3/11	+3	Yakın	10/12	+23	Çok uzak
Genotip 72	21/03	-8	Yakın	28/03	-9	Uzak	8/11	+8	Yakın	12/12	+25	Çok uzak
Genotip 73	21/03	-8	Yakın	3/04	-3	Yakın	9/11	+9	Uzak	6/12	+19	Çok uzak
Genotip 74	9/04	+11	Uzak	16/04	+10	Uzak	7/11	+7	Yakın	7/12	+20	Çok uzak

Çizelge 4.1'in devamı

Genotipler	Tomurcuk patlama	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yapraklanma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Sararma	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma	Yaprak Döküm	Kaman -1' e göre (gün olarak)	Sınıflandırma
Genotip 79	29/03	0	Çok yakın	6/04	0	Çok yakın	20/11	+20	Çok uzak	8/12	+21	Çok uzak
Genotip 80	10/03	-19	Çok uzak	22/03	-15	Çok uzak	9/11	+9	Uzak	2/12	+15	Çok uzak
Genotip 81	19/04	+21	Çok uzak	30/04	+24	Çok uzak	6/11	+6	Yakın	4/12	+17	Çok uzak
Genotip 82	10/04	+11	Uzak	20/04	+14	Uzak	12/11	+12	Uzak	4/12	+17	Çok uzak
Genotip 83	10/04	+11	Uzak	12/04	+6	Yakın	14/11	+14	Uzak	5/12	+18	Çok uzak
Genotip 84	30/03	+1	Çok yakın	9/04	+3	Yakın	18/11	+18	Çok uzak	15/12	+28	Çok uzak
Genotip 85	2/04	+4	Yakın	12/04	+6	Yakın	12/11	+12	Uzak	1/12	+14	Uzak
Genotip 86	22/03	-7	Yakın	2/04	-4	Yakın	17/11	+17	Çok uzak	6/12	+19	Çok uzak
Genotip 87	21/03	-8	Yakın	2/04	-4	Yakın	21/11	+21	Çok uzak	5/12	+18	Çok uzak
Genotip 88	26/03	-3	Yakın	6/04	0	Çok yakın	21/11	+21	Çok uzak	4/12	+17	Çok uzak
Genotip 89	27/03	-2	Çok yakın	6/04	0	Çok yakın	9/11	+9	Uzak	1/12	+14	Uzak
Genotip 90	2/04	+4	Yakın	12/04	+6	Yakın	12/11	+12	Uzak	2/12	+15	Çok uzak
Genotip 92	27/04	+29	Çok uzak	5/05	+29	Çok uzak	16/11	+16	Çok uzak	11/12	+24	Çok uzak
Genotip 93	9/04	+11	Uzak	17/04	+11	Uzak	24/11	+24	Çok uzak	7/12	+20	Çok uzak
Genotip 94	30/03	+1	Çok yakın	6/04	0	Çok yakın	9/11	+9	Uzak	3/12	+16	Çok uzak
Kaman-1	29/03	0	-	6/04	0	-	31/10	0	-	17/11	0	-

## .2. Genotipler Arasındaki Genetik Farklılığın Belirlenmesi

Ceviz genotipleri arasındaki genetik varyasyonun belirlenmesi için yapılan laboratuvar çalışmalarında, kullanılan 12 adet ISSR primerinin 6 tanesinden (ISSR 1, ISSR 3, ISSR5, ISSR6, ISSR7 ve ISSR15) bant elde edilememiştir. Ancak diğer 6 primerden 44 adet bant elde edilmiş olup bu bantların 38 tanesinde polimorfizm gözlenmiştir (Çizelge 4.2). Kullanılan primerlere ait polimorfizm bilgi içeriği (PIC) %81 ile %99 arasında farklılık göstermiştir (Çizelge 4.2). ISSR primerlerine ait polimorfizm oranının %86.36 olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Çalışma sonucunda en fazla allel (9) üreten primerin ISSR 4 olduğu tespit edilmiş ve ortalama allel sayısı ise 4.2 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2; Şekil 4.3).



Şekil 4.3. ISSR 4 primer kombinasyonlarına ait jel-1 bantlarının görünümü

Potter ve ark. (2002) ABD'nin Kaliforniya eyaleti Wolfskill araştırma bahçesinde bulunan 48 adet ceviz çeşidi üzerinde ISSR markör tekniği kullanarak çeşitler arasındaki genetik ilişkileri incelemişlerdir. Yaptıkları analizlerde 8 adet ISSR primerden 54 bant elde etmiş ve bu bantların 31 tanesinde (%57) polimorfizm olduğunu belirlemişlerdir. Akcan ve ark. (2008) tarafından ISSR ve SRAP moleküler markör tekniklerinin kullanılarak yürütülen bir çalışmada 62 ceviz genotipinin karakterizasyonu belirlenmiştir. Araştırmada Kaman-1 çeşidine ait çöğürlerde 10 SRAP primer çiftinden 94 adet bant elde edilmiş ve bunların 52 tanesinin polimorfik olduğu belirtilmiştir. 15 adet ISSR primeri kullanılarak 112 adet bant elde edilmiş ve bunların 67 tanesinin polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Pollegioni ve ark. (2008)'nin yürüttükleri bir çalışmada, İtalya'nın Kuzey (Bleggiana ve Feltrina) ve Güney bölgesinden (Malizia ve Sorrento) alınan İtalyan ceviz çeşitleri üzerinde ISSR markör tekniğini kullanmışlardır. Araştırma sonucunda 9 farklı ISSR primerin toplam 115 polimorfik bant elde ettiklerini ve elde edilen bantların polimorfizm oranının %65.2 olduğunu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Çalışmada kullanılan ISSR primerlerinin allel sayıları ve PIC (polimorfizm bilgi içeriği) değerleri

Sayı	Primer adı	Baz dizilimi	Allel sayısı	PIC
1	ISSR4	CACACACACACAGC	9	0.81
2	ISSR8	ACACACACACACACACC	7	0.99
3	ISSR9	ACACACACACACACTG	5	0.99
4	ISSR11	GAGAGAGAGAGAGATC	3	0.81
5	ISSR12	GAGAGAGAGAGAGAGAC	6	0.89
6	ISSR13	AGAGAGAGAGAGAGAGC	8	0.97

Araştırmada genetik çeşitlilik, Nei (1972)' ye göre belirlenmiştir. Çalışma kapsamında Kaman-1 ceviz çeşidine ait genotipler arasındaki genetik benzerlik katsayısı yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. Genotiplere ait genetik benzerlik en düşük (%1) Genotip 18 ile Genotip 27 ve Genotip 22 ile Genotip 36 arasında olurken, en yüksek (%99) benzerliğin ise Genotip 3 ile Genotip 42, Genotip 10 ile Genotip 48 ve Genotip 30 ile Genotip 93 arasında olduğu belirlenmiştir. Ana çeşit ile genotipler arasındaki genetik benzerlik incelendiğinde, en az benzerliğin (%30) Genotip 5' ile, en yüksek (%99) benzerliğin ise Genotip 45 ile olduğu tespit edilmiştir (Ek-3).

Doğan'ın (2006) yerli ve yabancı kökenli 62 ceviz çeşidi arasındaki genetik benzerliği belirlemek amacı ile yürüttüğü çalışmada ISSR ve RAPD markör teknikleri kullanılmıştır. Kullanılan ISSR primerlerinden 129'unun polimorfik olduğu 181 adet bant elde edilirken, benzerlik katsayısının ise ISSR tekniğinde 0.62 ile 0.94 olduğu belirlenmiştir.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada ISSR primerlerinden 38' inin polimorfik olduğu 44 bant elde edilmiş olup, benzerlik katsayısının 0.01 ile 0.99 olduğu belirlenmiştir.

### 4.3. Genotiplere ait Dendogram

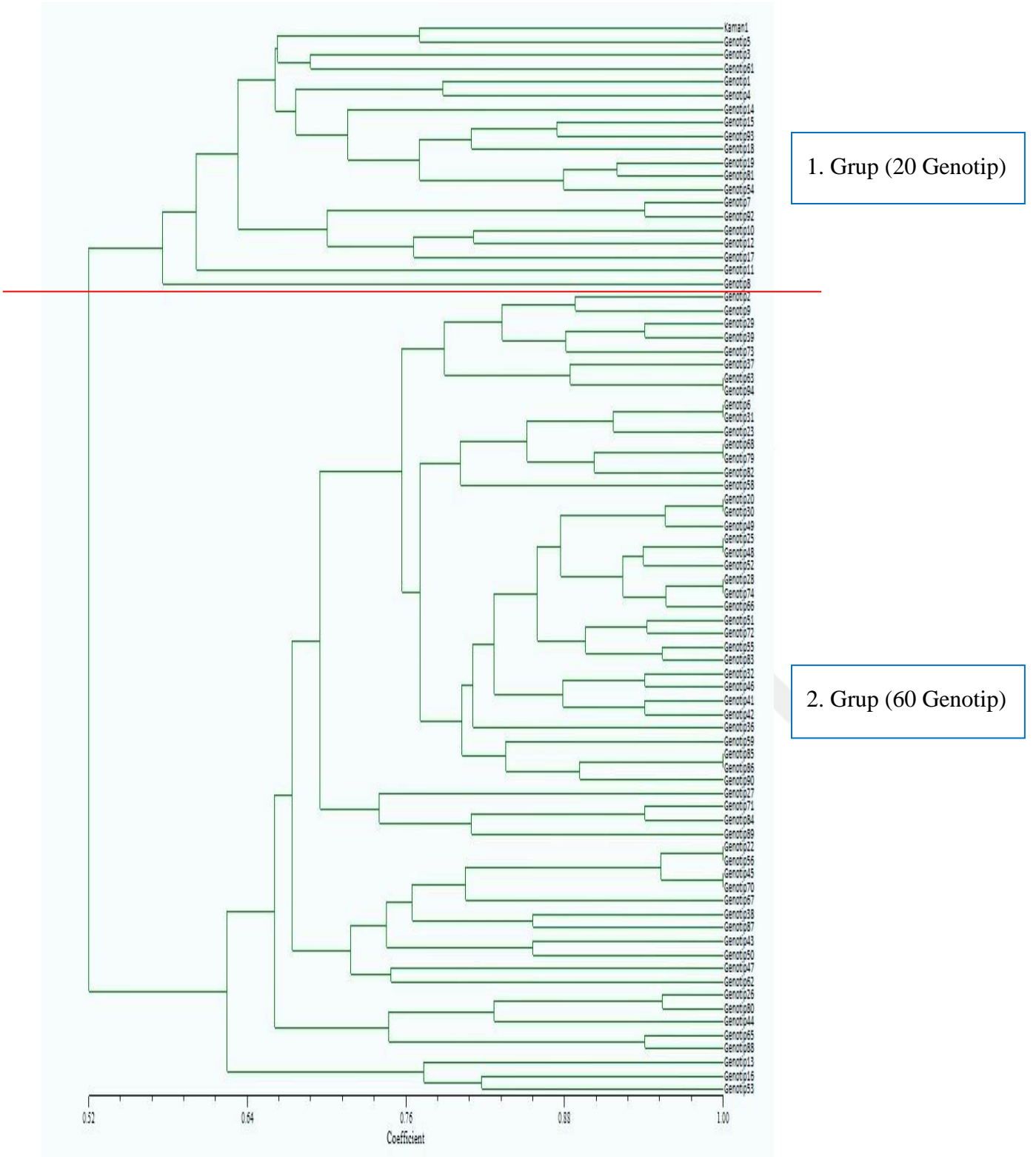
Araştırmada kullanılan ceviz genotiplerine ait dendogram, 6 adet ISSR markörü ile tarandıktan sonra elde edilen veriler UPGMA (Unweighed Pair Group Method of Arithmetic Averages) yöntemine göre NTSYSpc ver. 2.2 programında hesaplanmıştır (Şekil 4.4).

Çalışma kapsamında elde edilen bulgular üzerinden yapılan istatistiksel değerlendirmede (dendogramda) 2 ana grubun oluştuğu görülmektedir (Şekil 4.4). Bu dendogramda görüleceği gibi ana çeşitle beraber 19 genotip (Genotip 1, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 14, 15, 17, 18, 19, 51, 54, 81, 92 ve 93) aynı grupta (1. Grupta) yer almıştır. Ayrıca bu 19 ceviz genotipinden 4'ünde (4,

14, 15 ve 19 nolu genotipler) ana çeşitle hem genetik hem de fenolojik olarak yakın benzerlik içerisinde olduğu belirlenmiştir. Diğer 60 genotip ise diğer grupta (2. Grupta) yer almıştır (Şekil 4.4).

İpek ve ark. (2018) tarafından 2010-2013 yılları arasında Konya bölgesinde yürütülen bir seleksiyon çalışmasında, 2500 genotip arasından 8 genotip seçilmiştir. Çalışmada ISSR tekniği kullanılarak bu 8 ceviz genotipinin bazı ceviz çeşitleri ile genetik benzerlikleri incelenmiştir. Genetik benzerlikleri belirlemek amacıyla oluşturulan UPGMA dendogramında ise en yüksek genetik benzerlik (0.891) AK-2 ile AK-3 arasında, en düşük genetik benzerlik ise (0.491) Chandler ve Franquette çeşitleri arasında olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca Kaman-1 ve BE-3 çeşitlerinin yakın akraba oldukları bildirilmiştir.

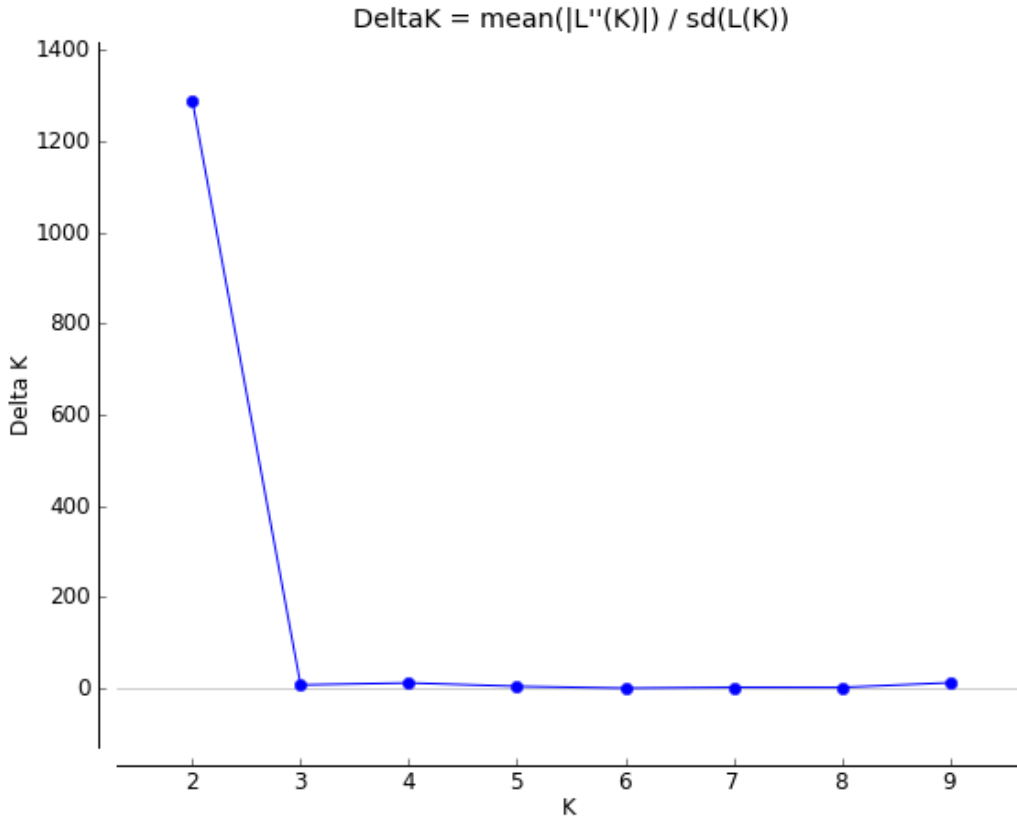




Şekil 4.4. Ceviz genotiplerine ait dendrogram

#### 4.4. Popülasyonun Genetik Yapı Analizi

Üzerinde çalışılan 79 ceviz genotipi ve ana çeşide ait optimum genetik grup sayısını elde etmek için Bayesian yöntemine göre Structure 2.3.4 yazılımı yardımıyla dominant genotip verilerine dayanarak kümeleme analizi yapılmıştır (Pritchard ve ark., 2000). Yapılan çalışmada ideal grup sayısını tespit etmek amacıyla her bir  $\Delta K$  değeri için 10 bağımsız simülasyon ile  $\Delta K$  değeri 1'den 10'a kadar çalıştırılmıştır. Araştırmada permütasyon modülü, 10,000-100,000 aralığında tarama yapılmış ve her bir  $\Delta K$  değeri için 5 kez tekrar edilerek uygun  $\Delta K$  değeri hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar zip dosyası şeklinde depolanarak 'Structure Harvester' programına yüklenerek ideal K değeri 2 olarak belirlenmiştir (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>)(Şekil 4.5).



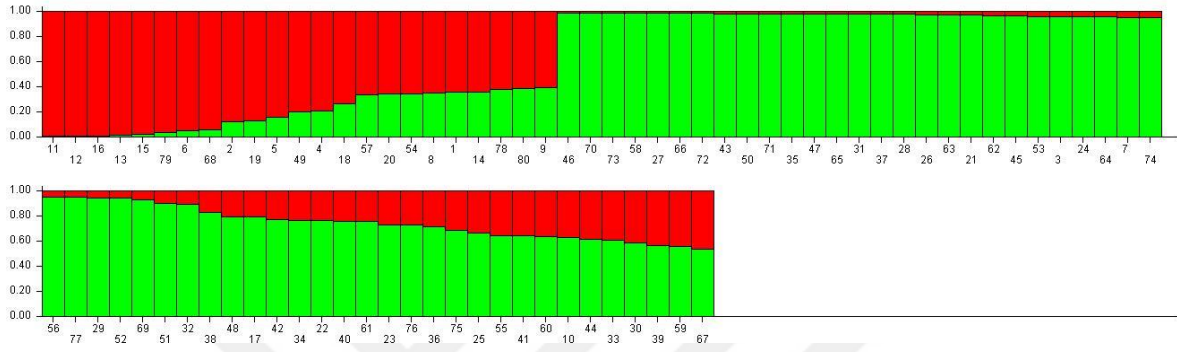
Şekil 4.5. Structure programından elde edilen ideal K değeri hesaplama grafiği(K=2)

Structure 2.3.4 programında tekrar analiz yapılmış ve Şekil 4.6'da görülen kümeleme analizi sonuçları elde edilmiştir. Kümeleme analizi incelendiğinde genotiplerin 2 ana gruba ayrıldığı tespit edilmiştir. Buradaki farklı renkte grupların olması genotipler arasında farklılık

olduğunu göstermektedir. Yeşil renkli kısımlar Kaman-1'e yakın olan genotiplerden, kırmızı renkli alanları ise Kaman-1'den uzak olan genotiplerinden meydana gelmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen laboratuvar bulguların,

İstatistiksel değerlendirilmesi amacıyla yapılan dendogram ve kümeleme analiz sonuçlarının birbiriyle tutarlık içerisinde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.6. Structure 2.3.4 programı ile elde edilen ceviz genotiplerine ait kümeleme analizi

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Kaman-1 ceviz çeşidi ve serbest tozlanmış tohumdan elde edilen 79 ceviz genotipinin, hem ana çeşitle hem de birbirleriyle olan fenolojik ve moleküler düzeyde farklılıkları incelenmiştir.

Araştırmada ana çeşit ve ceviz genotiplerinde, fenolojik özelliklerden, tomurcuk patlama başlangıç dönemlerinin 48 gün süreyle devam ettiği, yapraklanma başlangıç dönemlerinin ise 47 gün sürede gerçekleştiği belirlenmiştir. Yaprak sararma başlangıç dönemlerinin 25 gün sürede, yaprak döküm başlangıç periyodunun 33 gün sürede gerçekleştiği gözlenmiştir.

Genotiplerin ana çeşide göre fenolojik olarak daha geç uyanıp daha geç dinlenme dönemine girdiği tespit edilmiştir. Ceviz genotipleri ile ana çeşit arasında tomurcuk patlamada %94.93, yapraklanmada %87.33, yaprak sararma başlangıcı ve yaprak döküm başlangıç dönemlerinde %100 oranında farklılık olduğu belirlenmiştir.

Moleküler çalışmalarda kullanılan 12 ISSR primerinden toplamda 44 bant elde edilmiş olup bu bantların 38 tanesinin (%86.36) polimorfik olduğu kayıt altına alınmıştır. Ortalama allel sayısının 4.2 olduğu belirlenmiştir. ISSR primerlerine ait PIC değerlerinin 0.81 ile 0.99 arasında değişim gösterirken ortalama PIC değeri 0.91 olarak hesaplanmıştır.

Nei(1972) matriksine göre ana çeşit ve genotiplerarasındaki yakınlık (benzerlik) oranının %1 ile %99 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Genetik yakınlığın/ farklılığın belirlenmesinde kullanılan dendogramda genotiplerin 2 ana gruba dağıldığı, bu gruplardan birinci grupta ana çeşit ve 19 genotip, ikinci grupta ise 60 genotipin yer aldığı belirlenmiştir.

Çalışma sonucunda genotiplerin ana çeşide hem fenolojik hem de genetik açıdan 1 genotipin“çok yakın”, 4 genotipin“yakın”, 2 genotipin ise “uzak” derecede benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Diğer genotipler ile ana çeşit arasında hem fenolojik hem de genetik açıdan bir paralellik olmadığı için bu yöndeki değerlendirmeye alınmamışlardır.

Bu tez çalışmasında, Kaman-1 ceviz çeşidinden serbest tozlanma ile elde edilen genotiplerde, hem fenolojik varyasyonun hem de genetik varyasyon oranlarının yüksek düzeylerde olduğu net bir şekilde ortaya konulmuştur.

Bu araştırma ile gen kaynaklarının yönetiminde morfolojik ve moleküler verilerin birlikte kullanılmasının daha kesin karakterizasyon sağlayacağı teyit edilmiştir. Cevizde (*Juglans regia* L.) yakın akraba olan genotipler için genetik farklılıkları belirlemek amacıyla ISSR primerlerinin güvenli bir şekilde kullanılabilceği görülmüştür.

Kaman-1 ceviz çeşidinin melez ıslah programlarında kullanılabilceği ancak planlamanın bu varyasyona göre yapılması gerektiğinin önemi ortaya konulmuştur.



## KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y.S., Çelik, H., M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay, A., Halloran, N., Köksal, A.İ. ve Yanmaz, Y., (1997). Genel Bahçe Bitkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No: 4, Ankara s. 10- 11.
- Anonim, (2020). Tük(06.02.2020) [www.Tuik.gov.tr/start.do](http://www.Tuik.gov.tr/start.do)
- Anonymous. (1994). Walnut Descriptors for Walnut (*Juglans* spp.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Anonymous. (2020). FAO (06.02.2020) <http://www.Fao.Org/Faostat/en/#data/QC>
- Akcan, S., Kafkas, S., Sütyemez, M., Akça, Y., Eti, S., Türemiş, N.(2008). Kaman Cevizlerinde Apomiksis Olasılığının Dişi Çiçeklerin İzolasyonu ve Moleküler Yöntemlerle Araştırılması. *Alatarım*, 7(1): 1-10.
- Akça, Y., Aydın, M. (2005). Tokat/Niksar Ekolojik Koşullarında Bazı Ceviz Çeşitlerinin Performanslarının Değerlendirilmesi. *Bahçe, Ceviz*. 34 (1): 49-55.
- Bardak, A. (2017). Pamukta İlişkilendirme Haritalaması Yöntemiyle Markör Geliştirme. Bursa Tarım Kongresi, 13-15 Ekim 2016, sayfa 1-10, Bursa.
- Bardak, A., Bölek, Y. (2012). Genetic Diversity of Diploid and Tetraploid Cottons Determined by SSR and ISSR Markers, *Turkish Journal of Field Crops*, 17(2): P. 139-144.
- Barone, E., Bounous, G., Inglese, P., Zappia, R. (1991). English Walnut Cultivar Testing in Southern Italy. *Acta Hort.*, 284: P.105–110.
- Bayazit, S., (2011). Bazı Ceviz (*Juglans regia* L.) Genotiplerinin Yayladağı (Hatay) Koşullarındaki Fenolojik Özellikleri ve Yan Dal Verimliliği. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42(2), S 95-102.
- Baymış, M. (2008). Yerli ve Yabancı Bazı Ceviz (*Juglans regia* L.) Tıp ve Çeşitlerinin Kahramanmaraş Ekolojik Şartlarında Performanslarının Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş, S.103.
- Bernard, A., Lheureux, F., Dirlewanger, E. (2018). Walnut: Past and Future of Genetic Improvement. *Tree Genetics and Genomes*, 14(1), P. 1.
- Bükücü, Ş.B. (2014). Bazı Ceviz (*Juglans regia* L.) Çeşit ve Tiplerinin Soğuklama İhtiyacının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, s. 95.

- Celepaksöy, F. (2011) Bazı vişne (*Prunus cerasus* L.) tohumlarının çimlenmesi üzerine araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, s. 67
- Christopoulos, M. V., Rouskas, D., Tsantili, E., Bebeli, P. J. (2010). Germplasm Diversity and Genetic Relationships Among Walnut (*Juglans regia* L.) Cultivars and Greek Local Selections Revealed by Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers. *Scientia Horticulturae*, 125(4), P. 584-592.
- Çelik, M. Sakin, M., (1991). Ülkemizde Meyve Fidanı Üretiminin Bugünkü Durumu. Türkiye I. Fidancılık Sempozyumu, 26-28 Ekim 1987, Ankara, 169-180.
- Dice, L.R., (1945). Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species. *Ecology*, 26:P. 297-302.
- Doğın, Y. (2006). Bazı Ceviz (*Juglans regia* L) Çeşit ve Genotiplerinin Moleküler Markör Teknikleri ile Karakterizasyonu, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, S. 83.
- Doğın, Y.,Kafkas, S., Sütyemez, M., Akça, Y., Türemiş, N. (2014). Assessment and Characterization of Genetic Relationships of Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes by Three Types of Molecular Markers. *Scientia Horticulturae*, 168, P. 81-87.
- Doyle, J.J. Doyle, J.L. (1987). A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, V.19, P.11-15.
- Ebrahimi, A., Zarei A.,Lawson, S., WoesteK. E., SmuldersM. J. M. (2016).Genetic Diversity and Genetic Structure of Persian Walnut (*Juglans regia*) Accessions From 14 European, African, and Asian Countries Using SSR Markers. *Tree Genetics, Genomes*P.12:114
- Ekincialp, A., Kazankaya, A. (2012). Hakkâri Yöresi Kuşburnu Genotiplerinin (*Rosa* spp.) Bazı Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 22(1), S. 7-11.
- Erdoğan, V., Aygün, A., (2016). Ceviz (*Juglans regia* L.) Çeşitlerinin RAPD Tekniği ile Genetik Tanımlanması. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri. Bahçe Özel Sayı Cilt 1. S. 919-924.
- Filiz, E., Koç, İ. (2011). Bitki Biyoteknolojisinde Moleküler Markörler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2011(2).
- Fjellstrom, R.G.,Parfitt, D.E. (1994). Walnut (*Juglans spp.*) Genetic Diversity Determined by Restriction Fragment Length Polymorphisms, *Genome*, 37: P. 690-700.
- Gerçekçiöğlu, R., Bilginer, ř., ve Soylu, A., (2009). Genel Meyvecilik. ISBN 978-605-395-076-9. Ankara.

- Hormaza, J. I. (2002). Molecular Characterization and Similarity Relationships Among Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Genotypes Using Simple Sequence Repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(2-3), P. 321-328.
- Ipek, M., Arıkan, Ş., Pırlak, L., Eşitken, A. (2018). Phenological, Morphological and Molecular Characterization of Some Promising Walnut (*Juglans regia* L) Genotypes in Konya. *Erwerbs-Obstbau*, 61(2), P. 149-156.
- Kafkas, S., Ozkan, H. and Sutyemez, M., (2005). DNA Polymorphism and Assessment of Genetic Relationships in Walnut (*Juglans regia* L) Genotypes Based on AFLP and SAMPL Markers. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 130: 585-590.
- Karadut, Ö., Kafkas, S. (2013). Antepfıstığı SSR Lokuslarından Yeni ISSR Primerlerinin Geliştirilmesi, *Cilt:29-2 S. 139-148.*
- Laborda, P.R., Oliveira K.M., Garcia A.A., Paterniani M.E., De Souza A.P. (2005). Tropical Maize Germplasm: What can We Say About Its Genetic Diversity in the Light of Molecular Markers, *Theor Appl Genetik*, 111 (7) : P. 1288- 1299.
- Malvolti, M. E., Pollegioni, P., Bertani, A., Mapelli, S., Cannata, F. (2010). *Juglans regia* Provenance Research by Molecular, Morphological and Biochemical Markers: A Case Study in Italy. *Bioremed. Biodiv. Bioavail*, 4, P. 84-92.
- Nar, A. (2019). Pedro Ceviz Çeşidinde Serbest Tozlanan Tohumlardan Elde Edilen Genotiplerde Fenolojik Ve Genetik Farklılıkların Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, s. 61.
- Nei, M. (1972). Genetic Distance Between Populations, *The American Naturalist*, 106: P. 283- 292.
- Nicese F. P., Hormaza J.I., Mcgranahan, G.H.(1998).Molecular Characterization, Genetic Relatedness Among Walnut (*Juglans regia* L.) Genotypes Based on RAPD Markers. *Euphytica*, 101: P. 199–206.
- Orman, E., Hepaksoy, S., (2016). Bazı Yerli Ceviz Genotiplerinin Meyve ve Ağaç Özellikleri. *Bahçe Dergisi Özel Sayı Cilt 45(1), S. 668-671.*
- Özcan, A., Sütyemez, M. (2017). Bazı Ceviz *Juglans regia* L. Çeşitlerinin Çimlenme ve Çöğür Anaçlık Gelişme Performanslarının Belirlenmesi, *KSU Journal. Natural. Science*, vol. 20, no. 1, pp. 75–79.
- Pollegioni P., Bartoli S., Cannata F., Malvolti M. E. (2003). Genetic Differentiation of Four Italian Walnut (*Juglans regia* L.) Varieties by Inter Simple Sequence Repeat (ISSR). *J Genet Breed* 57: P. 231–240
- Pollegioni, P., Woeste, K., Binbağı, A., Mugnozza, G., Scarascia, Malvolti, M.E., (2008). Characteristics of *Juglans nigra* (L), *Juglans regia* (L) and *Juglans X*

- Intermediate* (Carr.) Ssr Markers: A Case Study in Italy. *Silvae Genetica*, 2008;Vol 58(1-2) : P. 68 – 78
- Potter, D.,Gao, F., Aiello, G., Leslie, C., Mc. Granahan, G.H. (2002). Inter Simple Sequence Repeat Markers for Fingerprinting and Determining Genetic Relations of Walnut (*Juglans regia*) Cultivars, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 127(1): P. 75-81.
- Powell, W.,Machray, G.C.,Provan, J. (1996). Polymorphism Revealedby Simple Sequence Repeats, *Trends in Plant Science*, 1(7): P. 215-221.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., Donnelly, P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155(2), P. 945-959.
- Rohlf, F. J. (1998). NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate Analysis system version 2.0 user guide.
- Solar, A.,(1990). Phenological and Pomological Characteristics of Walnut Cultivars in Northeastern Slovenia, First Int. Sym. On Walnut Prod. Acta Hort. P.284.
- Sütyemez, M.,Kaşka, N. (2002). Bazı Yerli ve Yabancı Ceviz (*Juglans regia* L.) Çeşitlerinin Kahramanmaraş Ekolojisine Adaptasyonu, *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5(1): S 148- 158.
- Sütyemez, M. (2016). New Walnut Cultivars; Maraş-18, Sütyemez-1 and Kaman-1. *Hortscience*, 51(10), 1301-1303.
- Sütyemez, M. (2019). Bitki Islahı Ders Notları (Yayınlanmamış).
- Şahin. İ.(2005). Sağlıklı Beslenmede Ceviz. *Bahçe Ceviz*. 34(1): S 157-162.
- Şen, S.M. (1986). Ceviz Yetiştiriciliği, Eser Matbaası, Samsun, S.229.
- Şen, S.M. (2011). Ceviz Yetiştiriciliği Besin Değeri Folklorü, Başak Matbaacılık, 4. Baskı, Ankara.
- Tahtacı, S.A., Gözel, H., Yılmaz, A., Eldoğan, Ü., Şahan, A. (2017). Phenological Development State of Some Domestic and Foreign Walnut Varieties in Gaziantep Region. *Bahçe*, 46(2), P. 153-156.
- Tanskley, S.D., Young, N.D., Paterson, A.H., Bonierbale, M.W. (1989). RFLP Mapping in Plant Breeding, *New Tools For An Old Science. Biotechnology*, 7: 257-264
- Tosun, İ., Akçay, M. E. (2005). Yerli ve Yabancı Bazı Ceviz Çeşitlerinin Yalova Ekolojisindeki Fenolojik ve Pomolojik Özellikleri. *Bahçe*, 34(1), S. 35-40.
- Yıldırım, E. (2019). Sütyemez-1 Ceviz Çeşidinde Serbest Tozlanmış Tohumlardan Elde Edilen GenotiplerinFenolojikVe Moleküler Karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş, s. 65.

- Yıldız, F. G. (2019). Suda Bekletme Uygulamasının Kestanede Tohum Çimlenmesi ve Çöğür Gelişimi Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun, s. 29
- Yılmaz, S. (2007). Geç Yapraklanan ve Yan Dallarda Yüksek Oranda Meyve Veren Yeni Ceviz Tiplerinin (*J. regia* L.) Seleksiyon Islahı. Doktora Tezi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s. 166.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E., Erkoyuncu, M. T. (2015). Moleküler Markörlerin Bitki Islahında Kullanımı. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 4(2), S. 1-12.
- Zhang, J.F., Lu, Y., Adragna, H., Hughs, E. (2005). Genetic Improvement of New Mexico Acala Cotton Gerplasm and Their Genetic Diversity. Doi: 10.2135/ cropsoci 2005.0140
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., Damian, L. (1994). Genome Fingerprinting by Simple Sequence Repeat (SSR)- Anchored Polymerase Chain Reaction Amplification. *Genomics*, 20(2): P. 176–183.























## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Özlem Keleş  
Uyruğu : T.C.  
Doğum yeri : ADIYAMAN  
Medeni hali : Bekâr  
Telefon :  
Faks :  
e-posta : ozlemkeles098@gmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	KSÜ/Bahçe Bitkileri	2016
Lise	Adıyaman Atatürk Lisessi	2010

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
-----	-----	-------

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

1.Sütyemez, M., Bükücü, Ş.B., Özcan, A., Sözeri, A., Yılmaz, A., Keleş, Ö.,Yılmaz, A.İ., Demir, D., Çınar, Y. 2018. Bazı Derici Sumak (*Rhus coriaria* L.) Genotiplerinde Çiçek Tozu Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. 6. ASM Uluslararası Tarım ve Çevre Kongresi, 11- 13 Ekim 2018. Antalya /Türkiye.

### Hobiler

Kitap okumak, bulmaca çözmek, doğa yürüyüşü, müzik dinlemek